

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE QUÍMICA DE ARARAQUARA-UNESP

**Caracterização de solos e substâncias húmicas extraídas
de amostras coletadas na Região do Rio Aracá-AM:
Estudos de interações metal-matéria orgânica.**

Tese de doutorado
apresentada ao Instituto de
Química de Araraquara-
UNESP como parte dos
requisitos para obtenção do
título de Doutor em Química.

Doutorando MSc. Heliandro Cordovil da Silva
Orientador Prof. Dr. Julio Cesar Rocha
Co-Orientador Prof. Dr. André Henrique Rosa

Araraquara, julho / 2006

FICHA CATALOGRÁFICA

S586c Silva, Heliandro Cordovil da
Caracterização de solos e substâncias húmicas extraídas de amostras coletadas na Região do Rio Aracá-AM: estudos de interações metal-matéria orgânica. / Heliandro Cordovil da Silva. -- Araraquara : [s.n], 2006
99 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Julio Cesar Rocha
Co-orientador: André Henrique Rosa

1. Substâncias húmicas. 2. Solos. 3. Cobre. 4. Química analítica. I. Título.

Elaboração: Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação do
Instituto de Química de Araraquara

Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

HELIANDRO CORDOVIL DA SILVA

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química

Araraquara, 24 de Julho de 2006

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Julio Cesar Rocha
Instituto de Química – UNESP, Araraquara

Prof. Dr. José Pedro Serra Valente
Instituto de Biociências – UNESP, Botucatu

Prof. Dr. José Carlos Marconato
Instituto de Biociências – UNESP, Rio Claro

Prof. Dr. Wilson Tadeu Lopes da Silva
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária / EMBRAPA / São Carlos

Prof. Dr. Gilmar Silvério da Silva
Universidade Tecnológica Federal do Paraná / UTFPR / Medianeira

Dados curriculares

Dados Pessoais

Nome Heliandro Cordovil da Silva
Nascimento 18/10/1975 - Manaus/AM – Brasil

Formação acadêmica / titulação

2002-2006 Doutorado em Química [Araraquara].
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.
Título: Caracterização de solos e substâncias húmicas extraídas de amostras coletadas na Região do Rio Aracá-AM: Estudos de interações metal-matéria orgânica.

2001 – 2002 Mestrado em Química de Produtos Naturais.
Universidade Federal do Amazonas, UFAM, Manaus, Brasil
Título: Influência de íons metálicos em frações de diferentes tamanhos moleculares das substâncias húmicas aquáticas do Rio Negro-AM. Ano de obtenção: 2002
Orientador: Ézio Sargentini Junior

1996 - 2001 Bacharel em Química
Universidade Federal do Amazonas, UFAM, Manaus, Brasil

Experiência profissional

-
1. **Secretaria de Estado da Educação - SEDUC**
1998 - 2002 Professor substituto
 2. **Universidade Luterana do Brasil – ULBRA**
2002 - 2002 Professor
-

Trabalhos resumidos publicados em anais de evento

1. SILVA, H. C., Serudo, R L. Tratamento Químico de um Efluente Proveniente de Cabines de Pintura Industrial In: XL Congresso Brasileiro de Química, 2000, Recife. **Congresso Brasileiro de Química.** , 2000.

2. SILVA, H. C., SERUDO, R. L., SARGENTINI JUNIOR, É. Capacidade de complexação de metais nas substâncias húmicas aquáticas do Rio Negro-AM In: XVI Semana de Química do Departamento de Química da Universidade Federal do Amazonas, 2002, Manaus. **Anais da XVI Semana de Química do Departamento de Química da Universidade Federal do Amazonas.** , 2002.
 3. SERUDO, R. L., SILVA, H. C., SARGENTINI JR, É., DIAS, C. M., PADILHA, P. M. Disponibilidade de metais pesados em água do Rio Negro - AM In: XLII Congresso Brasileiro de Química, 2002, Rio de Janeiro. **Anais do XLII Congresso Brasileiro de Química.** , 2002.
 4. ROCHA, L. M. S., SARGENTINI JR, É., SERUDO, R. L., SILVA, H. C. Distribuição de íons metálicos complexados em frações de substâncias húmicas aquáticas do Rio Negro -AM In: X Jornada de Iniciação Científica do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, 2002, Manaus. **Anais do X Jornada de Iniciação Científica do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia.** , 2002.
 5. SILVA, H. C., SERUDO, R. L., SARGENTINI JUNIOR, É., PEREIRA JUNIOR, O. L. Estudo da Capacidade de Complexação de Íons Metálicos em frações de Substância Húmica Aquática In: XLII Congresso Brasileiro de Química, 2002, Rio de Janeiro. **Anais do XLII Congresso Brasileiro de Química.** 2002.
 6. SERUDO, R. L., SILVA, H. C., SARGENTINI JUNIOR, É., DIAS, C. M., PADILHA, P. M. Estudo da disponibilidade de metais pesados no Rio Negro - AM In: XVI Semana de Química do Departamento de Química da Universidade Federal do Amazonas, 2002, Manaus. **Anais da XVI Semana de Química do Departamento de Química da Universidade Federal do Amazonas.**2002.
-

Artigos completos publicados em periódicos

1. SILVA, H. C., SERUDO, R. L., SARGENTINI Jr, É., PEREIRA JUNIOR, O. L. Complexação de íons metálicos em frações húmicas aquáticas de diferentes tamanhos moleculares extraídas de amostras do Rio Negro - AM. Anais da Associação Brasileira de Química. São Paulo, BR: v.51, p.136 - 138, 2002.
 2. SILVA, H. C., Romão, L. Tangential Flow Ultrafiltration: an Alternative Methodology for Determination of the Complexation Parameters in Organic Matter from Water and Soil Samples from Brazilian Regions. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2002.
 3. SILVA, H. C.; OLIVEIRA, L. C.; BOTERO, W. G.; ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; PATERLINE, W. C; SERUDO, R. L. Reduction of mercury (II) by humic soil substances extracted from the Rio Negro Basin (State of Brazil); Geoderma, aceito.
-

Dedico este trabalho a minha mãe Vica,
a minha esposa Mirela e meu filho Samuel.

Agradecimentos

A Deus por seu eterno amor, por ser misericordioso comigo e me dado inúmeras graças embora eu não merecesse.

Ao meu orientador Prof. Dr. Julio Cesar Rocha pela confiança e amizade e por “todos” os ensinamentos passados nesses anos.

A Família Sargentini pela amizade e ajuda ao longo deste trabalho.

Ao Dr. André Rosa pela amizade e pelas valiosas dicas.

Ao grupo de ambiental: Luciana Camargo, Wander Botero, André Gustavo, Iramaia Bellin, Ademir Santos. Amizades valorosas, sempre prontos a ajudar.

A prof.^a Dra. Raquel Nogueira e amigos Milady e Rossano.

As funcionárias da biblioteca do IQ, pela competência dos serviços oferecidos aos alunos.

A seção de Pós Graduação pelo atendimento e pela paciência com os alunos.

Confia no Senhor e faze o bem;
Habita na terra e alimenta-te da verdade.
Agrada-te do Senhor,
E Ele satisfará os desejos do teu coração.
Entrega o teu caminho ao Senhor,
Confia nEle, e o mais Ele fará.

Salmo37: 3-5

Sumário Capítulo 1	
<i>Resumo</i>	I
<i>Abstract</i>	II
<i>Lista de figuras</i>	III
<i>Lista de tabelas</i>	VII
<i>Lista de abreviaturas</i>	VIII
<i>1.1 – INTRODUÇÃO</i>	02
<i>1.1.1 – Solos</i>	02
<i>1.1.1.1 – Noções gerais</i>	02
<i>1.1.1.2 – Composição dos solos</i>	03
<i>1.1.1.2.1 – Fase sólida dos solos</i>	04
<i>1.1.1.2.2 – Fase líquida dos solos</i>	06
<i>1.1.1.2.3 – Fase gasosa dos solos</i>	07
<i>1.1.1.3 – Propriedades físico-químicas dos solos</i>	07
<i>1.1.1.4 – Perfil dos solos</i>	09
<i>1.1.1.5 – Rios da região Amazônica</i>	10

<i>1.1.1.6 – Classificação dos solos</i>	13
<i>1.1.1.7 – Solos da Bacia Amazônica</i>	14
<i>1.1.1.8 – Solos da Bacia do Rio Negro-AM</i>	16
<i>1.1.1.9 – Mercúrio na região Amazônica</i>	16
<i>1.2 – OBJETIVOS</i>	18
<i>1.3 - EXPERIMENTAL</i>	19
<i>1.3.1 – Materiais</i>	19
<i>1.3.1.1 – Equipamentos</i>	19
<i>1.3.2 – Métodos</i>	19
<i>1.3.2.1 – Amostragem</i>	19
<i>1.3.2.2 - Preparo da amostra</i>	21
<i>1.3.2.3 – Determinações</i>	21
<i>1.3.2.3.1 – Determinação do teor de matéria orgânica e inorgânica</i>	21
<i>1.3.2.3.2 – Análise granulométrica das amostras de solo</i>	21
<i>1.3.2.3.3 – Determinações de ferro e alumínio</i>	23
<i>1.3.2.3.4 – Digestão das amostras de solo para determinação de mercúrio</i>	24

<i>1.3.2.3.5 – Determinação de mercúrio</i>	24
<i>1.4 – RESULTADOS e DISCUSSÃO</i>	25
<i>1.4.1 - Caracterizações das amostras de solo</i>	25
<i>1.4.2 – Determinações de ferro, alumínio e mercúrio</i>	27
<i>1.4.3 – Relações entre mercúrio e características dos solos</i>	32
<i>1.4.4 – Análises estatísticas multivariadas</i>	36
<i>1.5 – CONCLUSÃO</i>	39

Sumário Capítulo 2

<i>2.1 – INTRODUÇÃO</i>	41
<i>2.1.1 - Substâncias húmicas</i>	41
<i>2.1.2 - Classificação das substâncias húmicas</i>	41
<i>2.1.3 – Características das substâncias húmicas</i>	43
<i>2.1.3.1 – Estruturas das substâncias húmicas</i>	43
<i>2.1.3.2 – Origem da superfície de cargas</i>	47

<i>2.1.3.3 – Efeito das cargas intramoleculares</i>	48
<i>2.1.3.4 – Efeito das cargas intermoleculares</i>	49
<i>2.1.3.5 – Grau de hidratação</i>	49
<i>2.1.3.6 – Grau de condensação</i>	50
<i>2.1.3.7 – Propriedades complexantes das substâncias húmicas</i>	50
<i>2.1.3.8 – Massa molar média das substâncias húmicas</i>	53
<i>2.1.4 - Importância das substâncias húmicas no solo</i>	54
<i>2.1.5 - Fracionamento das substâncias húmicas</i>	56
<i>2.1.5.1 – Técnicas utilizadas</i>	56
<i>2.1.5.2 – Fracionamentos das substâncias húmicas em função do tamanho molecular: ultrafiltração</i>	59
<i>2.1.6 – Capacidade de complexação</i>	61
<i>2.1.6.1 - Técnicas utilizadas para determinar a capacidade de complexação</i>	61
<i>2.1.6.2 – Determinação da capacidade de complexação por ultrafiltração</i>	62
<i>2.1.8 – Cobre</i>	64
2.2 – OBJETIVOS	65
2.3 – EXPERIMENTAL	66

2.3.1 – <i>Materiais</i>	66
2.3.1.1 – <i>Equipamentos</i>	66
2.3.2 – <i>Métodos</i>	67
2.3.2.1 - <i>Extração das substâncias húmicas</i>	67
2.3.2.2 – <i>Purificação das substâncias húmicas</i>	68
2.3.2.3 – <i>Preparação das membranas de diálise</i>	68
2.3.2.4 - <i>Diálise das substâncias húmicas</i>	68
2.3.2.5 – <i>Fracionamento seqüencial das substâncias húmicas de solo</i>	69
2.3.2.6 – <i>Determinação de capacidade de complexação das substâncias húmicas</i>	71
2.3.2.7 - <i>Determinação do carbono orgânico total (COT)</i>	72
2.3.2.8 - <i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear ¹³C</i>	72
2.4 – <i>RESULTADOS e DISCUSSÃO</i>	73
2.4.1 – <i>Distribuição de carbono em função da massa molar das substâncias húmicas de solo</i>	73
2.4.2 - <i>Capacidade de complexação</i>	75
2.4.2.1 – <i>Influência do tipo de solo na capacidade de complexação de íons Cu(II) pelas substâncias húmicas extraídas</i>	76

<i>2.4.2.3 – Capacidade de complexação das substâncias húmicas por íons cobre nas frações de diferentes massas molar</i>	80
<i>2.4.2.2 – Influência dos diferentes grupos funcionais na capacidade de complexação de substâncias húmicas de solos por Cu(II).</i>	83
<i>2.5 – CONCLUSÕES</i>	85
Capítulo 3	
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86

Resumo

Este trabalho teve como objetivo caracterizar diferentes solos da Bacia do Rio Negro-AM e mais especificamente a região do Rio Aracá-AM e estimar a contribuição deste para o ciclo biogeoquímico do Hg na referida região. Caracterizaram-se amostras de solo e de substâncias húmicas. Nos solos foram avaliados os seguintes parâmetros: teor de matéria orgânica, granulometria, teor de mercúrio, alumínio e ferro. As substâncias húmicas extraídas de solo da região do Rio Aracá-AM são relevantes por contribuírem no processo de complexação com íons metálicos, influenciando na mobilização e biodisponibilidade de metais no compartimento solo. Utilizando-se um sistema de fracionamento em função do tamanho molecular obtiveram-se seis frações ($F_1 > 100$; $F_2: 100-50$; $F_3: 50-30$; $F_4: 30-10$; $F_5: 10-5$ e $F_6 < 5$ kDa). Para melhor compreensão da capacidade de complexação (CC) das substâncias húmicas de solo por íons cobre foram feitos experimentos de ultrafiltração nas frações. No capítulo 1 Para tratar os dados de solos da região do Rio Aracá-AM utilizou-se a técnica exploratória multivariada de análise hierárquica de agrupamento. Os dendogramas obtidos mostraram que os solos dessa região apresentam comportamentos similares. No capítulo 2 dentre as capacidades de complexação determinadas a região do Rio Aracá apresenta menor CC (0,21) quando comparadas a diferentes solos da Bacia do Rio Negro-AM.

Palavras chave: Hg em solo, substâncias húmicas, capacidade de complexação, cobre.

Abstract

This work was intended to characterize different soils from Basin of Rio Negro-AM and specifically the region of Rio Aracá-AM and estimate its contribution to the biogeochemical cycle of Hg in that region. Soil samples and humic substances extracted from them were characterized. Were determined on soils: organic matter, granulometry, quantity of mercury, aluminium and iron. The extracted humic substances of soil from region of Rio Aracá-AM have an important function due to their performance on complexing and releasing metallic ions. Six fractions were obtained using a fractionation system ($F_1 > 100$; $F_2: 100-50$; $F_3: 50-30$; $F_4: 30-10$; $F_5: 10-5$ and $F_6 < 5\text{kDa}$) in function of molecular size. To better comprehend of complexation capacity of humic substances by ions copper, were made experiments of ultrafiltration on the fractions. In chapter 1 to treat characterization data was used the multivariate exploratory technique of analyze hierarchic of cluster. The results shows that soils from Rio Aracá-AM presents similar behaviour. In chapter 2 between the complexation capacities determined from Rio Aracá presents the smaller values (0,21) than others on the Rio Negro Basin.

Keywords: Hg from soil, humic substances, complexation capacity, copper.

Lista de figuras: Capítulo 1	
Figura 1.1 – Processo de formação do solo (adaptada de MALAVOLTA, 1976).	03
Figura 1.2 – Camadas de perfil genérico de solo.	10
Figuras 1.3 a e b – Diferença na coloração de amostras de água coletadas no barranco do RIO ARACÁ-AM (percolação da água pela matéria orgânica petrificada) e coletada diretamente do rio. b) lixiviação da matéria orgânica de solo que escorre do barranco e atinge o Rio Aracá.	12
Figura 1.4 – Perfil do solo da região do Rio Aracá.	13
Figura 1.5 - Esquema dos procedimentos utilizados na coleta das amostras de solos.	20
Figura 1.6 – Procedimento de lavagem com água do material restante na proveta.	23
Figura 1.7 – Porcentagem de matéria orgânica em amostras de solo coletadas na Bacia do Rio Negro-AM em função da profundidade.	27
Figura 1.8 – Porcentagem de alumínio total nas amostras de solo coletadas no Rio Aracá-AM em diferentes profundidades.	29
Figura 1.9 - Porcentagem de ferro total nas amostras de solo coletadas no Rio Aracá-AM em diferentes profundidades.	30
Figura 1.10 - Porcentagem de mercúrio total nas amostras de solo coletadas na região do Rio Aracá-AM em diferentes profundidades.	32
Figura 1.11 – Correlação entre as porcentagens de matéria orgânica e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas nas margens do Rio Aracá-AM.	33
Figura 1.12 - Correlação entre as porcentagens de matéria orgânica e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas no Rio Aracá-AM.	34
Figura 1.13 – Correlação entre as porcentagens de alumínio total e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas às margens do Rio Aracá-AM.	34
Figura 1.14 – Correlação entre as porcentagens de ferro total e concentrações de mercúrio nas amostras de às margens do Rio	35

Aracá-AM.	
Figura 1.15 – Correlação entre as porcentagens de ferro total e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas às margens do Rio Aracá-AM.	35
Figura 1.16 - Dendrograma obtido a partir das determinações de Hg; análise granulométrica (teores de argila, silte e areia); matéria orgânica, teores de ferro e alumínio determinados em amostras de solo da Bacia do Rio Negro-AM.	37
Figura 1.17 - Dendrograma das amostras coletadas em diferentes profundidades na Bacia do Rio Negro-AM.	38

V

Lista de figuras: Capítulo 2

Figura 2.1 – Estrutura proposta para o ácido húmico. Adaptada de SCHULTEN (1995).	43
Figura 2.2 - Diagrama representativo da estrutura em forma de "fita", mostrando a flexibilidade da macromolécula (SWIFT, 1989). Adaptada de ZARA, 2001.	46
Figura 2.3 – Diagrama representativo da condensação da estrutura espiral ao acaso (SWIFT, 1989). adaptada de ZARA, 2001.	46
Figura 2.4 – a) Estrutura proposta por SWIFT <i>et al.</i> , 1989. b) estrutura proposta por SIMPSON <i>et al.</i> , (2002) para a SH de extraídas de solos. as bolas vermelhas representam íons metálicos, as unidades pretas carboidratos, as unidades azuis proteínas, unidades verdes cadeias alifáticas, e marrons unidades aromáticas e fragmentos de ligninas.	47
Figura 2.5 – Sistema extrator utilizado na extração de substâncias húmicas de solos da Bacia do Médio Rio Negro e região do Rio Aracá-AM, por batelada, sob atmosfera de nitrogênio	67
Figura 2.6 – Purificação de substâncias húmicas extraídas de solos da Bacia do Médio Rio Negro e região do Rio Aracá-AM.	69
Figura 2.7 – Esquema do sistema de fracionamento seqüencial por ultrafiltração para substâncias húmicas extraídas de solos da região do Rio Aracá-AM. <u>condições:</u> filtros equipados com membranas comerciais (Sartorius), com 50 cm ² m ₁ : 100, m ₂ : 50, m ₃ : 30, m ₄ : 10 e m ₅ : 5 kDa; frações obtidas e respectivos intervalos de tamanhos moleculares médios de F ₁ (>100), F ₂ : (100 - 50), F ₃ : (50 - 30), F ₄ : (30 - 10), F ₅ : (10 - 5) e F ₆ : (< 5 kDa); b: bomba peristáltica de 5	70

canais com tubos de bombeamento de tygon®; r ₂ a r ₅ (25 mL), r ₁ (250 mL) e r ₆ (500 mL); reservatórios de frações; p ₁ a p ₅ : reguladores de pressão; ma: manômetro; 250 mL de solução de substâncias húmicas 1,0 mg mL ⁻¹ em pH 5,0; fluxo tangencial com vazão de 85 mL min ⁻¹ em todos os filtros; pressão inicial de 0,2-0,3 bar; fluxo de permeação através das membranas 0,8-1,4 ml min ⁻¹ ; limpeza do sistema com 200 mL de água	
Figura 2.8 - Reservatório com volume interno de 25 mL, para coletas das frações durante o fracionamento dos extratos húmicos utilizando-se o sistema de fracionamento seqüencial por ultrafiltração. 1: entrada do filtrado húmico; 2: aspiração do filtrado húmico para o próximo filtro de membrana com fluxo tangencial; 3: retorno para circulação do material não filtrado no próximo filtro.	71
Figura 2.9 – Esquema do procedimento analítico utilizado para determinação da capacidade de complexação das frações de substâncias húmicas extraídas de amostras de solos da região do Rio Aracá-AM por íons Cu(II). condições: sistema de ultrafiltração (Sartorius ultrasart x), equipado com membrana de porosidade de 1 kDa e 47 mm de diâmetro (polyethersulfone, gelman pall-filtron omega).	72
Figura 2.10 – Distribuição de carbono nas frações com diferentes tamanhos moleculares de substâncias húmicas extraídas de amostras de solo coletada na região do Rio Aracá-AM.	74
Figura 2.11 – Curva da capacidade de complexação de substâncias húmicas extraídas de amostra de solo do Rio Aracá-AM por íons Cu(II). condições: amostra Adm 0-10cm; concentração de SH 30 mg L ⁻¹ ; pH = 5,0 – 6,0, CC=0,21.	76
Figura 2.12 – Correlação entre a capacidade de complexação substâncias húmicas por íons Cu(II) em função da concentração de alumínio nos respectivos solos de diferentes locais da bacia do Médio Rio Negro-AM e região do Rio Aracá-AM.	79
FIGURA 2.13 – Correlação entre a capacidade de complexação substâncias húmicas por íons Cu(II) em função da concentração de Fe nos respectivos solos de diferentes locais da Bacia do Médio Rio Negro-AM e região do Rio Aracá-AM.	79
Figura 2.14 – Correlação entre as porcentagens de diferentes grupos funcionais e capacidades de complexação pelas SH de solos de diferentes locais da Bacia do Médio Rio Negro-AM região do Rio Aracá-AM.	84

Lista de tabelas: Capítulo 1	
Tabela 1.1 - Divisão da fração mineral de acordo com a granulometria.	08
Tabela 1.2 - Velocidade de queda de esferas com peso específico 2,65 (correspondente ao do quartzo) em água destilada.	22
Tabela 1.3 – Resultados dos teores de matéria orgânica e porcentagens de argila, silte e areia das amostras de solo na região do Rio Aracá-AM.	26
Tabela 1.4 – Resultados de alumínio, ferro e mercúrio nas amostras de solo coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM.	28
Tabela 1.5 – Níveis de mercúrio ($\mu\text{g g}^{-1}$) determinados em amostras de solos coletadas em diferentes regiões.	31

Lista de tabelas: Capítulo 2

Tabela 2.1 – Definições frequentemente utilizadas na química do húmus.	42
Tabela 2.2 - Composição elementar média de substâncias húmicas extraídas de solos.	45
Tabela 2.3 - Influência do pH, das concentrações de substâncias húmicas e de eletrólitos no grau de condensação da macromolécula húmica (BUFFLE, 1990).	50
Tabela 2.4 – Massa molar de ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH).	54
Tabela 2.5 - Propriedades gerais das substâncias húmicas e efeitos causados ao solo.	56
Tabela 2.6 - pontos de amostragem e suas respectivas coordenadas geográficas obtidas por G. P. S.:	73
Tabela 2.7 - Substâncias húmicas extraídas de solos de diferentes locais da Bacia do Médio Rio Negro-AM e região do Rio Aracá-AM.	77
Tabela 2.8 – Capacidade de complexação de frações de substâncias húmicas extraídas de amostras de solos da região do Rio Aracá-AM por íons Cu(II).	81

Lista de abreviaturas

AF: Ácido fúlvico
AH: ácido húmico
AHA: Análise Hierárquica de agrupamento
C/H: Razão carbono hidrogênio
C/N: Razão carbono nitrogênio
COT: Carbono orgânico total
CP: Componente principal
CC: Capacidade de complexação
kDa: Quilo Dalton = 1000 Dalton
Dalton: unidade de massa molar
IHSS: International humic substance society
RMN¹³C: Ressonância magnética nuclear de ¹³C
SH: Substâncias húmicas
SHA: Substâncias húmicas aquáticas
ACP: Análise de componentes principais
SFSUF: Sistema de fracionamento seqüencial de ultrafiltração
F₁-F₆: Frações de diferentes tamanhos moleculares
UF: Ultrafiltração
CGH: compostos com grupos homólogos
L: ligante simples
M: Metal
S: Sítio de coordenação
M_n: massa molar numérica
M_m: Massa molar ponderal média
MO: Matéria orgânica
CTC: Capacidade de troca catiônica
Hz: hertz
4mm: 4,0 metros marrom
4mp: 4,0 metros preto

Capítulo 1

CARACTERIZAÇÃO DE AMOSTRAS DE SOLOS DA REGIÃO DO RIO ARACÁ, AMAZÔNIA.

1.1 – INTRODUÇÃO

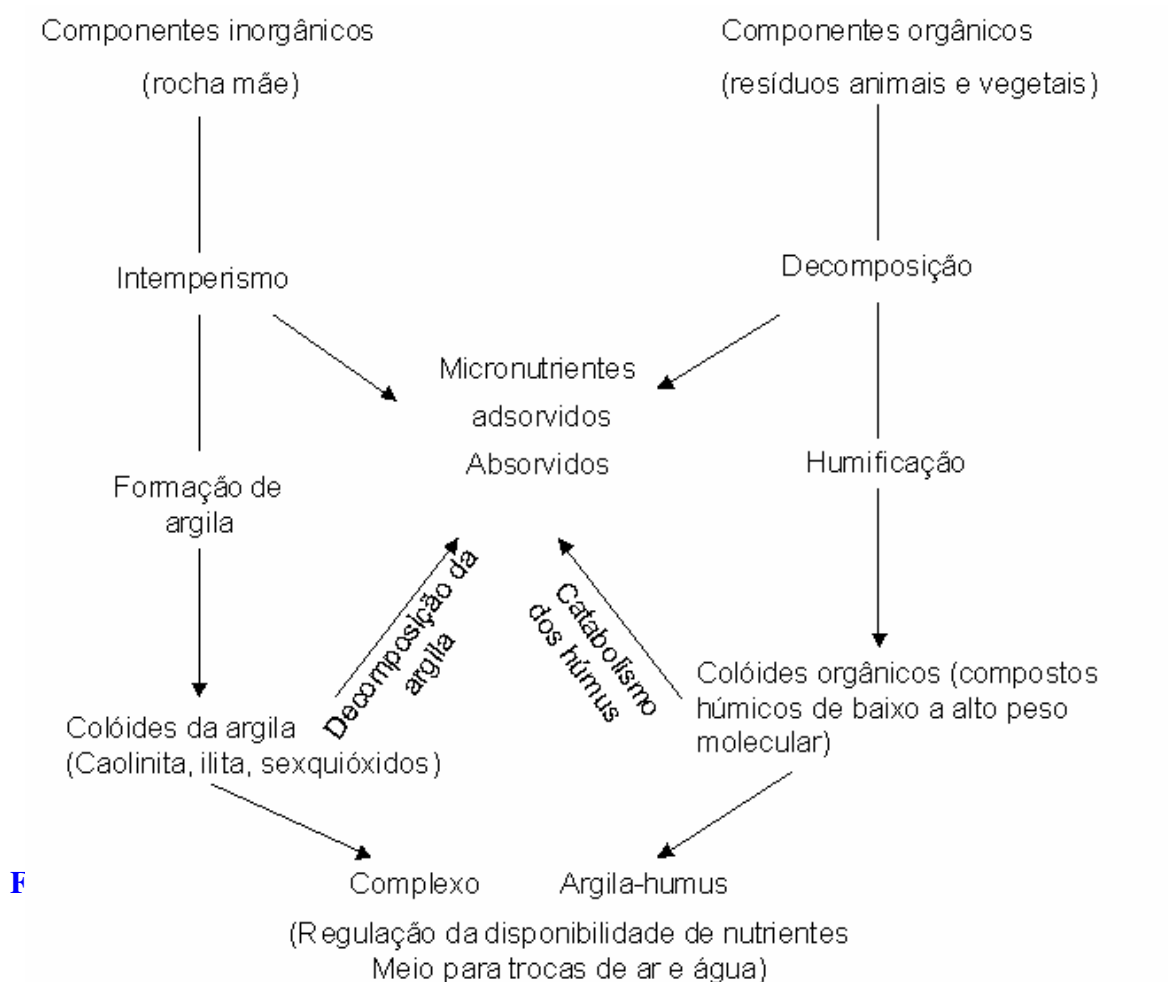
Pela primeira vez esse tipo de estudo está sendo feito em solos das margens do Rio Aracá-AM, região de difícil acesso, área praticamente inabitada e longe dos grandes centros de pesquisa, porém importante pelo alto teor de matéria orgânica que disponibiliza para Bacia do Rio Negro-AM.

1.1.1– Solos

1.1.1.1 – Noções gerais

A palavra solo é originária do latim *solum*, e pode ter vários significados: parte plana e inferior de um todo ou ainda “onde se pisa” ou seja, “chão”, geologicamente denominada rocha decomposta. Isto restringe o termo, pois exclui o chão formado por pedras (SPARKS, 2003).

O solo pode ser representado como produto de um ciclo natural no qual participam fragmentos de rochas, minerais, água, ar, seres vivos e seus detritos em decomposição. Estes resultam de fatores climáticos e da atividade combinada de microorganismos decompondo restos animais/vegetais. Desta forma, o solo é considerado como resultado das interações entre os compartimentos litosfera, hidrosfera, atmosfera e biosfera. Os principais processos que levam a pedogênese (formação de solos) são os intemperismos físicos (desagregação) e químicos (decomposição) os quais atuam nos componentes inorgânicos (rocha mãe) e componentes orgânicos (resíduos animais e vegetais) (Figura 1.1).



1.1.1.2 – Composição dos solos

A composição volumétrica percentual do solo distingue-se em três fases: 50% sólida (45% mineral e 5% orgânica), 25% líquida (água intersticial), 25% gasosa (ar intersticial). As proporções relativas das três fases variam de solo para solo e num mesmo solo, com as condições de clima e vegetação. Os componentes das quatro fases (mineral, orgânica, líquida e gasosa) estão intensamente misturados, permitindo a ocorrência

de reações e constituindo um ambiente adequado para a vida vegetal (MALAVOLTA, 1976).

1.1.1.2.1 – Fase sólida dos solos

Na fase sólida do solo os elementos ocorrem em diversas formas químicas que podem ser classificados em: 1) Minerais primários; 2) Minerais secundários; 3) Sais e Óxidos não combinados 4) Matéria orgânica (MO).

Os minerais primários não se apresentam quimicamente alterados desde sua deposição e cristalização da lava, em geral, limitados às frações mais grosseiras do solo, com diâmetro maior que $2\mu\text{m}$, os exemplos mais comuns são os quartzos e feldspatos.

Os minerais secundários (neoformados) são resultado do intemperismo sofrido pelo mineral primário, com alteração da estrutura ou reprecipitação dos produtos (dissolução). Os mais comumente encontrados são aluminossilicatos como a caulinita e a montmorilonita, óxidos como gibbsita, goetita. Os minerais secundários são encontrados na fração argila, geralmente aparecem nas frações menores que $2\mu\text{m}$, mas também podem estar presentes na fração silte. São os responsáveis por muitas das propriedades físico-químicas dos solos. Os minerais de argila, montmorilonitas, ilítas e caulinitas, devem sua reatividade não somente ao grau de subdivisão, mas também à sua substituição isomórfica na rede gerando uma carga negativa na superfície cristalina exposta, resultando a adsorção de cátions (SPARKS, 2003).

De acordo com DANA **ano** os óxidos são compostos cujo oxigênio é combinado com um ou mais metais, carbonatos e sulfatos podem conter nutrientes como Ca, Mg, S e Fe. Entretanto, quando presentes, os carbonatos são provavelmente mais importantes como tampões que como nutrientes. Os óxidos e hidróxidos de Fe são mais importantes como cimento entre partículas ou capa sobre as mesmas, particularmente aquelas

de minerais secundários, que como fornecedores de ferro para as plantas. Óxidos de alumínio também existem como capa, revestindo partículas de argila. Essas capas de óxidos de ferro e de alumínio fornecem uma superfície reativa capaz de reter alguns ânions, principalmente fosfatos. Os revestimentos de óxidos são, muitas vezes, responsáveis pela propriedade de troca iônica do solo.

A MO de solo é derivada da biomassa do solo e consiste estritamente da matéria orgânica viva e morta. É considerada a fração mais importante do solo e tem atraído significativa atenção desde os primórdios da agricultura, devido seu efeito positivo nas plantações (RUSSELL, 1960; KINDEL & GARAY, 2002).

O termo matéria orgânica de solo é muito usado para indicar somente a fração morta, embora a fração viva seja importante, por exemplo, as enzimas responsáveis pelas ações bioquímicas (STEVENSON, 1994).

Geralmente nas florestas a serrapilheira, camada que recebe elevada deposição de resíduos vegetais na superfície, apresenta menos degradação, embora desempenhe importante função nos processos físicos e de ciclagem de nutrientes, do ponto de vista da química do solo não é muito estudada (STEVENSON, 1994).

A fração morta é formada pela decomposição química e biológica de resíduos orgânicos, podendo ser distinguida em dois grupos: (1) MO em vários estágios de decomposição, cuja morfologia da planta ainda é visível, e (2) material completamente decomposto, onde não é possível identificar traços anatômicos do material de origem.

Os solos variam na quantidade de MO tais como molisol (5 - 6%) no topo dos 15 cm, solos arenosos (1%), solos mal drenados (10%), solos tropicais ou oxisolos que apresentam baixa concentração de MO.

A vida na Terra não seria possível sem o manto de solo que cobre o globo. Pois como compartimento importante nos ciclos biogeoquímicos, nele

ocorre ação dos decompositores, transformando matéria orgânica em matéria mineral utilizável para produção de biomassa, base das cadeias alimentares, bem como participar do ciclo de oxigênio para o compartimento atmosfera.

1.1.1.2.2 – Fase líquida dos solos

De acordo com SKINNER (1987) 1% de toda água do planeta Terra encontra-se nos solos. Embora comparado ao volume total esse valor seja pequeno, este valor representa um volume de água 35 vezes maior que o volume que corre nos rios e lagos da superfície terrestre.

A água que percola / infiltra no solo, preenche os vazios no subsolo abastecendo os lençóis de água subterrâneos. Parte da água de infiltração retorna à superfície através de nascentes, alimentando o escoamento superficial ou, através de rotas de fluxo mais profundas e lentas, aportando diretamente no compartimento hidrosfera (oceanos) (TEIXEIRA, *et al.*, 2003).

O nível freático tem uma relação íntima com os rios. Em regiões úmidas, os rios cuja vazão aumenta para jusante são chamados de rios efluentes, e são alimentados pela água subterrânea. O potencial de infiltração de água está diretamente relacionado com a vulnerabilidade do solo e conseqüentemente do lençol freático (GOMES *et al.*, 2002).

O movimento da água na zona de ocorrência subterrânea somado ao da água de superfície são os principais agentes geomórficos (modificações) da superfície da Terra (TEIXEIRA, *et al.*, 2003).

A água intersticial (percolada) do solo é uma solução de eletrólitos quase em equilíbrio, que ocorre no solo em condições de não-saturação de umidade. A solução do solo constitui, no fator intensidade, a maior parte no fornecimento de nutrientes para as plantas. Além disto, é o meio onde ocorrem a maioria dos processos químicos e biológicos do solo,

funcionando como transporte de materiais no solo (ROCHA, ROSA e CARDOSO, 2004).

Na maior parte da superfície terrestre, as águas percolantes têm pH entre 5 e 9. Nesses ambientes as principais reações de intemperismo são hidratação, dissolução, hidrólise e oxidação.

1.1.1.2.3 – Fase gasosa dos solos

A fase gasosa do solo apresenta, qualitativamente, os mesmos principais componentes presentes no ar atmosférico. Entretanto, em termos quantitativos há grandes diferenças. Ou seja, devido à respiração das raízes e dos microrganismos, à decomposição da matéria orgânica e as reações ocorridas no solo, há consumo de O_2 e liberação de CO_2 , com constantes alterações nos fluxos entre os compartimentos.

O ar no interior do solo é fonte de oxigênio para a respiração das células das raízes, bem como dos microrganismos e pequenos animais produtores de húmus (ROCHA, ROSA e CARDOSO, 2004).

Estudos de biodegradação utilizando-se reagentes marcados, envolvendo o C^{14} mostraram que a maior porcentagem desse elemento é liberada como CO_2 (TAUK, 1990). Uma vez a substância húmica é formada, está menos suscetível a degradação (M^AC^AR^TH^Y & RICE, 1991).

A respiração de microrganismos, respiração de raízes, no solo reflete diretamente na liberação de CO_2 . Apesar dos microrganismos ocuparem menos que 1% do volume do solo, sua ação é significativa. Sua quantidade varia segundo a composição e características físico-químicas do solo. Importantes também nos processos de ciclagem de nutrientes que têm como consequência a fertilidade e a qualidade do ambiente (SCHINNER *et al.*, 1997)

1.1.1.3 – Propriedades físico-químicas dos solos

As propriedades físico-químicas dos solos são devidas principalmente à elevada superfície específica e a alta reatividade apresentada pelos componentes da fração argila. O silte e a areia, são menos eficientes nos processos químicos, pois são constituídos de partículas mais grosseiras de minerais primários e de quartzo.

A fração mineral do solo é classificada de acordo com sua granulometria (Tabela 1.1).

Tabela 1.1- Divisão da fração mineral de acordo com a granulometria:

Fração mineral	Granulometria
Cascalhos	20mm a 2,0mm
Areia grossa	2,0mm a 0,2mm
Areia fina	0,2mm a 0,02mm
Silte	0,02mm a 0,002mm
Argila	<0,002mm

Adaptada de SUGUIO, 1973.

Considera-se que a fração argila é constituída pelas partículas sólidas do solo com tamanho igual ou menor que 0,002mm (Tabela 1.1), a qual se atribui um caráter coloidal. De um modo geral, estas características são devidas a certas propriedades estruturais da fase dispersa, como tamanho, forma e área superficial das partículas.

Nos solos a fração argila é normalmente constituída por minerais secundários, óxidos de Fe e Al cristalinos ou amorfos e matéria orgânica, que na sua totalidade possui uma carga líquida negativa por estar saturada por diversos cátions. Processos como substituição isomórfica de íons da

rede cristalina dos minerais argilosos, quebra de partículas com a exposição de ligações negativas e dissociações de grupos OH da fração mineral e orgânica são os responsáveis por essa carga superficial.

As cargas das partículas componentes da fração argila se apresentam saturadas com íons de cargas contrárias, os quais são mantidos em um estado trocável, podendo então ser substituídos por outros cátions que incidentalmente são adicionados aos solos. Esta capacidade de manter íons adsorvidos é uma função da natureza e da porcentagem de vários constituintes que formam a fração argila.

No caso dos solos brasileiros, materiais como caulinita, gibsitita, óxidos de Fe e Al, além de certa quantidade de matéria orgânica, constituem a fração argila. Como os minerais argilosos de grade 1:1 não apresentam substituições isomórficas e os óxidos de Fe e Al cristalinos não são muito reativos, a capacidade de troca catiônica (CTC) desses solos é devida na sua maior parte à matéria orgânica (MALAVOLTA, 1976).

1.1.1.4 – Perfil dos solos

As características do solo variam com a profundidade, devido a maneira como se formou ou depositou, em razão das diferenças de temperatura, teor de água, concentração de gases (particularmente CO₂ e O₂) e movimento descendente de solutos e de partículas. Ou seja, trata-se de fluxos de material formando diferentes camadas (denominadas horizontes), as quais podem ser identificadas a partir do exame de uma seção vertical do solo denominada perfil do solo (ROCHA, ROSA e CARDOSO, 2004). Os horizontes se diferenciam por espessura, cor, distribuição e arranjos das partículas sólidas e poros, distribuição de raízes e outras características resultantes da interação de fatores influenciadores na formação do solo. Os horizontes A, B e C representam os principais

horizontes do solo, e os horizontes O e R identificam horizonte orgânico em solos minerais e rocha inalterada, respectivamente.



Figura 1.2 – Camadas de perfil genérico de solo.

1.1.1.5 – Rios da região Amazônica

A Bacia do Rio Negro tem como principal tributário o Rio Negro que possui uma extensão de aproximadamente 1.700km (IBGE, 1944). Esta área é considerada preservada e apresenta três tipos de rios: rios de águas brancas, rios de águas claras e rios de águas pretas (WALLACE, 1853; SIOLI 1985).

Os rios de água branca, como o Amazonas, Purus, Madeira e Juruá nascem na região Andina e pré-Andina. Sua coloração branca ou barrenta se deve a alta carga de sedimentos transportados, oriundos dos intensos processos erosivos ocorrente nos Andes. A proporção de metais alcalinos

encontrados nestas águas é relativamente alta, causando um pH entre 6,2-7,2, contendo também quantidades altas de sais minerais em solução. São consideradas águas de elevadas produtividades naturais, com alta diversidade na fauna e na flora. Suas planícies são formadas por solos argilosos relativamente férteis.

Os rios de águas claras do Baixo Amazonas drenam os escudos pré-cambrianos, com pH variável de 4.5-7.8, são praticamente transparentes e transportam baixa quantidade de material em suspensão (p.e. Rio Xingu). As concentrações de cálcio, magnésio e outros sais minerais nesses rios, variam em função da localização de seus mananciais.

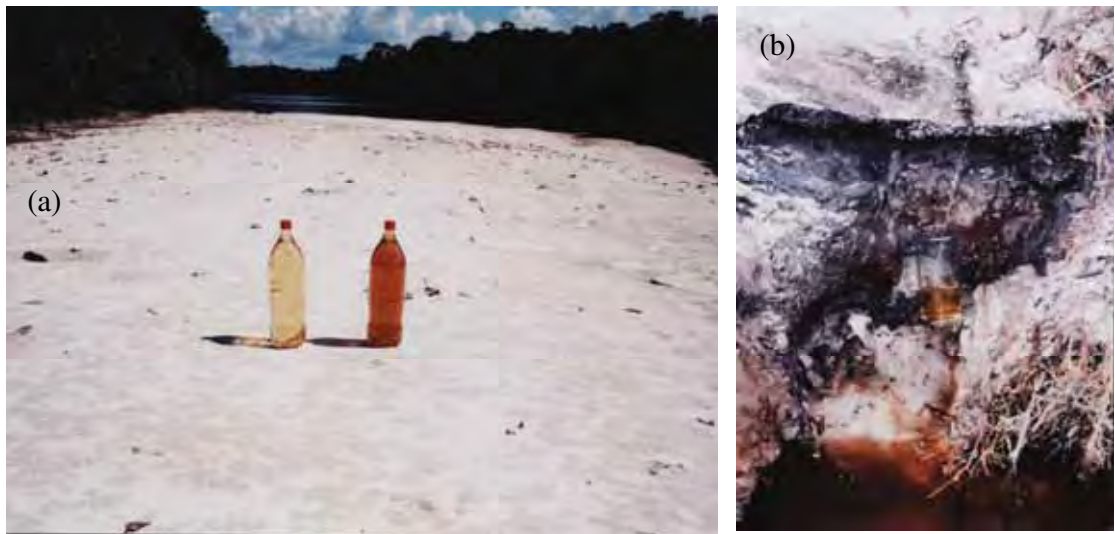
Os rios de águas pretas (p.e. Rio Negro), tem suas nascentes nos escudos arqueados das Guianas ou nos sedimentos terciários da Bacia Amazônica, o qual possui relevo suave. Como os processos erosivos são pouco intensos, a quantidade de sedimentos transportada é baixa. A presença de florestas inundáveis e imensos areais nas áreas de captação desses rios contribuem para serem muito ácidos (pH 3,8-4,9) e com coloração escura devido ao elevado teor de matéria orgânica dissolvida. Suas planícies são geralmente arenosas e oligotróficas.

Geograficamente estes rios e cursos de água menores com as mesmas características podem se encontrar misturados, com rios de água branca ou cristalina desembocando em rios de água negra ou vice-versa (SIOLI, 1985). Na Bacia do Rio Negro-AM encontram-se predominantemente rios de águas pretas. A região Amazônica apresenta períodos de cheias e de vazantes que se destacam por diferenças marcantes, aproximadamente 10m do nível do rio de um período até o outro, inundando imensas áreas.

SIOLI (1985) e colaboradores fizeram várias investigações geoquímicas para explicar as origens das águas pretas em áreas de areia ou podzólicos descorados. Inicialmente a cor das águas pretas foi

associada à presença de turfas. LEENHEER, em 1980, observou que as águas pretas resultam de um processo de escoamento lateral, lixiviando elevadas quantidades de ácidos orgânicos provenientes da decomposição de restos vegetais nos solos arenosos do médio e do alto Rio Negro. Concluiu também que quando o solo é desprovido de vegetação, a quantidade de matéria orgânica não é suficiente para produzir a coloração nas águas pretas, assim nem todos os podzóis são responsáveis pelas águas pretas.

Segundo MIRANDA *et al.* a presença humana na região é rara, discreta e limitada a sua calha. O Rio Aracá é o principal afluente do Rio Demeni, sendo este um dos principais afluentes do Rio Negro. O Rio Aracá é formado por águas pretas (Figura 1.4) e o perfil do solo possui como particularidade, deposição de matéria orgânica recente na superfície (0-0,6m) seguida por camada arenosa (de 0,6m a 4m) com baixo teor de matéria orgânica (<0,03%). Logo após, camada de matéria orgânica petrificada (na profundidade de 4m a 6m) com idade aproximada de 32 mil anos segundo CARNEIRO *et al.* (2003) (Figura 1.4) e a tabatinga, abaixo de 6m, a qual é constituída principalmente por argila. As águas lixiviadas não percolam a tabatinga sendo escoadas pela matéria orgânica petrificada (Figura 1.3b).



Figuras 1.3 a e b – a) diferença na coloração de amostras de água coletadas no barranco do Rio Aracá (percolação da água pela matéria orgânica petrificada) e coletada diretamente do rio. b) lixiviação da matéria orgânica de solo que escorre do barranco e atinge o Rio Aracá.

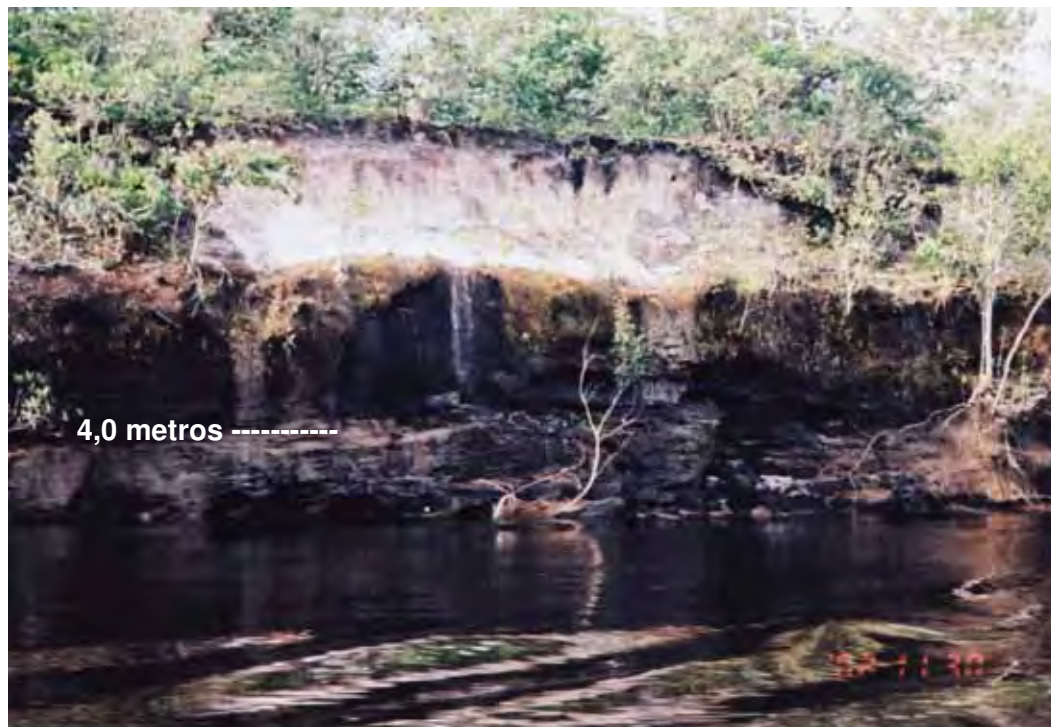


Figura 1.4 – Perfil do solo da região do Rio Aracá.

De acordo com a literatura, regiões de florestas com solos arenosos do médio e alto Rio Negro são os principais responsáveis pela coloração escura de suas águas (SIOLI, 1985; LEENHEER, 1980). A presença da matéria orgânica nas águas deste rio é de fundamental importância nos processos químicos e fotoquímicos, influenciando no transporte, destino e (bio)disponibilidade de várias espécies presentes no ambiente.

1.1.1.6 – Classificação dos solos

O sistema mais utilizado para a classificação de solos é o genético-natural, que está baseado nas características e nos fatores que levaram à formação do solo (MALAVOLTA, 1976).

Os latossolos se formaram sob a ação de lavagens alcalinas em regiões quentes e úmidas florestadas. Isso determinou a eluviação de parte da sílica do material original, permanecendo os óxidos de ferro e de alumínio.

Os solos podzólicos e podzolizados são formados sob processos de lavagens ácidas, sobre material de origem arenoso em regiões úmidas e florestadas. Como consequência de tais lavagens, as argilas são arrastadas para o horizonte B, ficando as camadas superficiais mais arenosas, consequentemente dificultando a formação de matéria orgânica devido o alto teor de areia.

Os solos hidromórficos são formados sob excesso de água, portanto sob condições de aeração deficiente. Estes, geralmente são ácidos de textura variável, pobres em cálcio e magnésio e moderados a pobres em potássio.

Os litossolos são solos jovens, pouco desenvolvidos e de pequena espessura, assentados diretamente sobre as rochas consolidadas ou, ainda aflorando à superfície.

Os solos aluviais também são solos jovens, ainda em formação, a partir de sedimentos aluviais, nos quais se distingue apenas o horizonte A, sobre o horizonte C. Geralmente são profundos e formados de camadas sobrepostas, pois nesses solos os fatores de formação ainda não agiram suficientemente para a diferenciação dos mesmos.

Os regossolos se caracterizam por serem solos profundos, porém em início de formação, arenosos, e, portanto, com drenagem excessiva. Apresentam camada superficial mais escurecida devido à presença de pequenas quantidades de matéria orgânica, que determina uma seqüência de horizonte A, C.

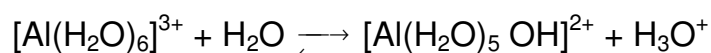
1.1.1.7 – Solos da Bacia Amazônica

Os solos da Amazônia possuem características diversificadas englobando solos com baixas e altas fertilidades, originados desde o período Cambriano até o Holoceno. Os latossolos (oxissolos) e podzólicos (ultissolos) estão presentes em aproximadamente 78% da Bacia Amazônica. Entissolos, inceptissolos e gley hidromórficos, solos mal drenados e aluviões representam 14% e são geralmente encontrados nas áreas de várzea, restingas e igapós. Em 8% da bacia Amazônica encontram-se solos de média e alta fertilidade, bem drenados, que incluem os alfissolos, venissolos e molissolos.

Os latossolos (oxissolos) são os solos de maior extensão na Amazônia, excelente drenagem, cor vermelha ou amarela. Encontram-se nas áreas mais antigas geologicamente, as quais datam do período paleozóico.

Os solos podzólicos são diferenciados dos latossolos pelo aumento do teor de argila com a profundidade. Encontram-se em áreas de maior declive e a percentagem mais alta de argila dificulta seu manejo. Tanto os

latossolos como os podzólicos caracterizam-se pelo baixo pH, baixos níveis de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, zinco e outros micro-nutrientes. Sua baixa capacidade de troca de cátions indica susceptibilidade à lixiviação. A acidez do solo explica-se na maioria dos casos pelas altas concentração de alumínio (EMBRAPA, 1976). Como mostra a seguinte reação:



Os alfissolos e vertissolos são solos de alta fertilidade e ocupam aproximadamente 18 milhões de hectares na Amazônia. Sua ocorrência geralmente é na forma de manchas dentro de um mar de solos latossólicos e podzólicos. No Brasil, geralmente os alfissolos são conhecidos como terra roxa estruturada eutrófica, podzólica vermelho-escura ou podzólica vermelho-amarela eutrófica. Esses solos têm pH próximo à neutralidade, altos teores de macro e micronutrientes, baixa saturação de alumínio e alta capacidade de troca de cátions. Os vertissolos são solos argilosos com altos teores de nutrientes que formam rachaduras na época de seca e são pouco comuns na Amazônia brasileira (EMBRAPA, 1998).

1.1.1.8 – Solos da Bacia do Rio Negro-AM

A Bacia do Rio Negro ocupa uma área de 696.800 km² representando 14% da área total da Amazônia Brasileira. Tem como principal tributário o Rio Negro que possui uma extensão de aproximadamente 1700 km (IBGE, 1944). A cobertura superficial desta Bacia é composta predominantemente por solos ferralíticos altamente intemperizados, contendo uma mistura variável de minerais primários como quartzo e minerais secundários recém formados como caulinita, gibbsita, goetita e hematita. Um importante processo pedológico a ser considerado nessa região é a podzolização, caracterizada pela dissolução e eluviação dos componentes argilosos do

solo além da migração de complexos organo-metálicos, resultando na gradual arenização das camadas superiores e na acumulação de sesquióxidos nas camadas inferiores. Este processo é acelerado em regiões tropicais pela hidromorfia superficial e pela eluviação lateral, associadas ao escoamento hídrico ao longo dos declives.

1.1.1.9 – Mercúrio na região amazônica

Um poluente global, derivado de processos naturais e antrópicos, o mercúrio tem merecido especial atenção em nível mundial, devido sua ampla aplicabilidade e toxicidade.

Elevadas concentrações de mercúrio determinados em solos / sistemas aquáticos amazônicos foram por muito tempo atribuídos principalmente a atividades mineradoras. De acordo com PFEIFFER e LACERDA (1988) a poluição devido ao mercúrio a partir de fontes mineradoras na Amazônia liberou aproximadamente $128\text{t}\cdot\text{ano}^{-1}$ desde os anos 80. Destes, 45% foi liberado nos rios e 55% para a atmosfera. Em 1997, o aporte anual de mercúrio para a atmosfera como resultado da mineração no Brasil foi estimado em 78t (LACERDA e MARINS, 1997), sendo 67% na região Amazônica.

Segundo VEIGA *et al.* (1994) a queima da biomassa na região amazônica é a maior fonte de contaminação de mercúrio nos sistemas aquáticos. LACERDA *et al.* estimou a contribuição de mercúrio para a atmosfera pela queima da biomassa de aproximadamente $17\text{t}\cdot\text{ano}^{-1}$ de 1978 a 1988 e apenas $8,7\text{t}\cdot\text{ano}^{-1}$ de 1990 a 1991. Logo, estes autores concluíram que a mineração, mais que o desmatamento, é a principal fonte para a poluição de mercúrio na Amazônia.

Entretanto, ROULET e colaboradores (1998) concluíram que a queima da biomassa e a atividade mineradora não poderiam justificar a elevada concentração de mercúrio no ambiente amazônico. Segundo esses

autores a atividade mineradora poderia contaminar os sistemas aquáticos na região dos sítios de mineração e a contribuição da queima de florestas estaria limitada a 6-9t de mercúrio por ano. Assim, concluíram que a grande quantidade de mercúrio encontrada no ecossistema amazônico é originária da degradação de solos ferralíticos. Segundo esses autores o mercúrio está acumulado em associação com oxihidróxido de ferro como resultado do processo natural pedogenético. A evolução pedológica destes solos pela podzolização, tanto em ocorrência natural como acelerado por desmatamento, tem resultado na dissolução de oxihidróxido de ferro e na liberação de mercúrio associado. Em solução, o mercúrio pode rapidamente ser liberado para o ecossistema aquático.

NRIAGU (1990) e MASON *et al.* (1994) mostraram a importância dos solos como sorvedouros de mercúrio. Segundo ROULET e colaboradores solos ferralíticos são capazes de reter elevadas concentrações de mercúrio e as degradações destes solos liberam mercúrio ao ambiente. OLIVEIRA *et al.* (2001) concluíram que ambos os processos, naturais e antropogênicos, embora ocorram em diferentes escalas de tempo, são responsáveis pela contaminação de mercúrio no ecossistema Amazônico. O mercúrio, pela atividade mineradora, principal fonte antrópica é retido no ecossistema Amazônico via atmosfera ou sistema aquático. O mercúrio atmosférico é transportado de uma região a outra, depositado e subseqüentemente retido pelos solos.

Embora a região em estudo seja geograficamente distante de fontes emissoras antrópicas, em estudos recentes, determinaram-se concentrações relativamente altas de Hg em amostras de cabelos da população ribeirinha, em peixes predadores, bem como amostras de solos, sedimentos e ar. (FADINI *et al.*, 1999; BISINOTI *et al.*, 2005; FOSTIER *et al.*; 2005 OLIVEIRA *et al.*, 2000). FADINI e JARDIM (2001) sugeriram que os solos desta região são fontes pré-antrópicas de mercúrio para os

sistemas aquáticos da Bacia do Rio Negro-AM, devido às elevadas concentrações em diferentes matrizes ambientais, estando a Bacia provavelmente sob a influência do ciclo global do mercúrio.

1.2 – OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo desenvolver as seguintes atividades:

- 1) Coleta e caracterização físico-química de solo da região do Rio Aracá–AM;
- 2) Quantificação do estoque pedológico de mercúrio (II) no solo;
- 3) Correlacionar as características físico-químicas do solo com o mercúrio para verificar a sua contribuição no ciclo do mercúrio na Bacia do Rio Negro-AM.
- 4) Analisar estatisticamente a similaridade entre amostras coletadas no mesmo solo, inclusive aquelas coletadas a 4 metros de profundidade.

1.3 - EXPERIMENTAL

1.3.1 – Materiais

1.3.1.1 – Equipamentos

- ✓ agitador magnético multi-pontos Variomag Telesystem;
- ✓ agitador mecânico Tecnal modelo TE – 033;
- ✓ amostrador para coleta de solo;
- ✓ balança analítica Mettler, mod. H10, mecânica de precisão 0,1 mg;
- ✓ balança Denver Instrument Company 400XE séries, eletrônica, prato externo, precisão 0,01g e capacidade máxima 400g;
- ✓ banho termostático ;
- ✓ chapa aquecedora Fanem;

- ✓ medidor portátil de pH Orion, modelo 250 A;
- ✓ equipamento para análise elementar Thermo fingman;
- ✓ estufa com renovação de ar SOC FAB, modelo 305/5;
- ✓ mufla EDGCON 5P;
- ✓ peneiras de diversas malhas;
- ✓ sistema purificador de água Millipore – Modelo Milli-Qplus;
- ✓ vidraria comum a um laboratório de Química Analítica;

1.3.2 – Métodos

1.3.2.1 – Amostragem

Amostras foram coletadas no período de 20/11/2002 a 02/12/2002 ao longo das margens do Rio Aracá–AM até uma região de turfas denominadas “Chavascais”. As amostras são referentes a quatro pontos de amostragem, perfis com quatro horizontes. A escolha das secções medidas foi baseada no grau de exposição do afloramento natural (vale de rio) facilidade de acesso e espessura da coluna estratigráfica. A forma externa da unidade litológica apresentava certa regularidade e persistência, estratificação com passagem brusca entre as camadas sedimentares, camadas horizontais e espessura constante. Presença de constituintes orgânicos na superfície e presença atípica abaixo das secções (4m) como pode ser observado na Figura 1.4.

Pontos de amostragem e suas respectivas coordenadas geográficas (G.P.S.):

Ralf: N (00, 15', 818'') W (63, 14', 658'')

Ralf 1: N (00, 16', 505'') W (63, 15', 185'')

Ralf 2: N (00, 19', 120'') W (63, 16', 150'')

Adm: N (00, 17', 436'') W (63, 16', 157'')

Para cada sítio, as amostras simples A_1 - D_3 foram coletadas utilizando trincheiras abertas com cavadeira. Após mistura e homogeneização das amostras simples, foram retirados cerca de 500 g de cada mistura, constituindo as respectivas amostras compostas A-D (Figura 1.5).

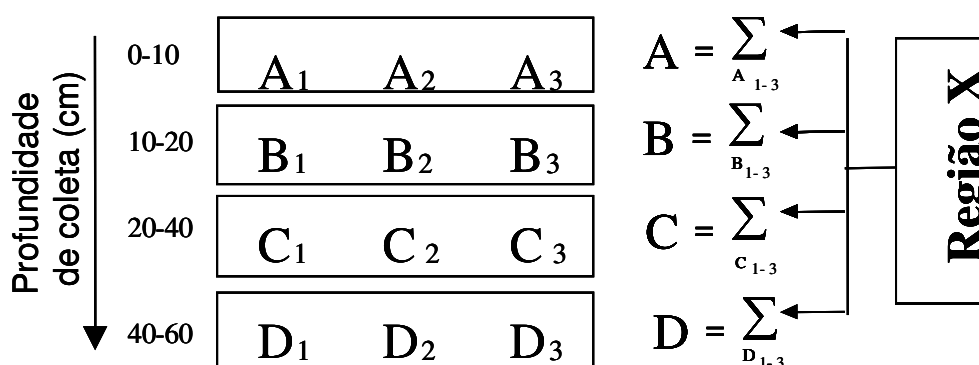


Figura 1.5 - Esquema dos procedimentos utilizados na coleta das amostras de solos.

1.3.2.2 - Preparo da amostra

As amostras foram secas ao ar por três dias, trituradas em gral de porcelana e passadas em peneira plástica de 2 mm (70 mesh).

1.3.2.3 – Determinações

1.3.2.3.1 – Determinação do teor de matéria orgânica e inorgânica

Alíquotas de 10,0 g da amostra de solo foi calcinada em mufla a 750 °C por 4 horas em cadinho previamente tarado. O teor de matéria orgânica foi feito pela diferença de massa após a calcinação considerando a média entre três determinações. Considera-se o resíduo final de calcinação como matéria inorgânica (ROSA 1998).

1.3.2.3.2 – Análise granulométrica das amostras de solo

A análise granulométrica, também chamada análise textural, tem por finalidade fornecer os elementos necessários para o conhecimento das propriedades texturais do solo, ou seja, a distribuição de suas partículas unitárias. O êxito na análise granulométrica está na dependência de se obter suspensões de solo onde as partículas unitárias estão realmente individualizadas e assim se mantenham durante toda a fase de separação. Dentre os métodos de análise, destacam-se: o *método do densímetro*, cujas determinações são feitas por densitometria das suspensões de solo selecionadas à diferentes tempos, conforme a Lei de Stokes e o *método de “pipetagem”*, cujas determinações são feitas por pipetagens da suspensão de solo a diferentes alturas e tempos, de acordo com os mesmos princípios da Lei de Stokes.

O método do densímetro é mais rápido, porém menos preciso (CAMARGO *et al.*, 1986). No método de “pipetagem” as quantidades de materiais em cada uma das classes granulométricas são obtidas a partir das mudanças na concentração de material em suspensão (a determinação é feita pela pesagem do resíduo seco). Em geral, a velocidade de decantação das partículas depende do raio, forma, densidade, textura de superfície, densidade e viscosidade do fluido (SUGUIO, 1973). Na Tabela 1.2, observam-se as velocidades de queda das partículas.

Tabela 1.2 - Velocidade de queda de esferas com peso específico 2,65 (correspondente ao do quartzo) em água destilada.

Diâmetro / mm	Velocidade / cm s ⁻¹
0,062	0,347
0,031	0,0869
0,016	0,0217
0,008	0,00543
0,004	0,00136
0,002	0,00034
0,001	0,000085
0,0005	0,000021

Adaptada de SUGUIO, 1973.

Utilizou-se o método peneiramento associado ao método de pipetagem, este baseado na lei de Stokes conforme proposto por SUGUIO. Após secagem, quarteamento e desagregação em béquer de 250 mL contendo 50,0 g de amostra, adicionaram-se 30,0 mL de água destilada e 1,0 mL de solução de amônia (16 mol L⁻¹) para defloculação. Transferiu-se o sobrenadante para proveta de 1,0 litro e o sólido decantado para almofariz. Após desagregação física utilizando pistilo de borracha, esse material foi também transferido quantitativamente para a proveta completando-se o volume a 1,0 litro com água destilada.

Na proveta, agitou-se a mistura por cerca de 30 segundos e iniciou-se a série de pipetagens conforme tabela proposta por SUGUIO, transferindo-se as respectivas alíquotas para fôrmas de alumínio, previamente taradas para posterior secagem em estufa a 60 °C. Em seguida (descarte da argila) transferiu-se todo o material restante na proveta para funil (Ø 25 cm) adaptado com fluxo de água contínuo (Figura 1.6.). Após lavagem completa da fração restante na proveta (escoamento de água), a areia foi transferida para placa de Petri, seca em estufa a 60 °C, passada por 10 minutos em

coluna de 8 peneiras com aberturas entre 2 e 0,062 mm, pesando-se o material retido em cada peneira.

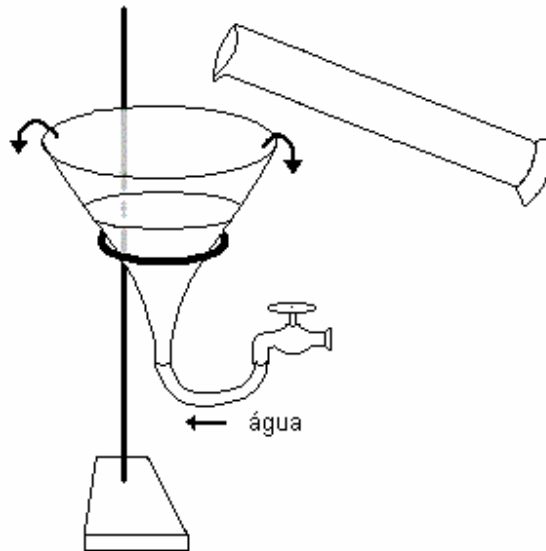


Figura 1.6 – Procedimento de lavagem com água do material restante na proveta.

1.3.2.3.3 – Determinações de ferro e alumínio

Foram feitas, por Fluorescência de Raios-X utilizando um EDX-700 SHIMADZU. Fonte de ródio (potência de 15 kV, 470 μ A para análise de alumínio e 50 kV, 65 μ A para análise de ferro), resolução de 1,3 – 1,6 keV para alumínio e 6,2 – 6,6 keV para ferro, tempo de análise de 100 segundos. As amostras foram analisadas *in natura*, eliminando-se a etapa de formação de pastilhas, onde cerca de 400 mg de amostra foram pesadas diretamente nas celas próprias para a análise. Juntamente com as amostras de solo foram analisadas duas amostras certificadas de solos NIST-SRM 2709, San Joaquin Soil e SRM 2710, Montana Soil.

1.3.2.3.4 – Digestão das amostras de solo para determinação de mercúrio

As amostras de solo para determinação de mercúrio foram digeridas segundo método adaptado da EPA o qual consiste em adicionar aproximadamente 2,0 g de amostra, 10,0 mL de água desionizada, 5,0 mL de ácido sulfúrico concentrado, 2,5 mL de ácido nítrico concentrado e 10,0 mL de solução de permanganato de potássio 7,5 % (m v⁻¹). Após 15 minutos adicionaram-se 5,0 mL de solução de persulfato de potássio 8 % (m v⁻¹). A mistura foi aquecida por 2 horas a 95 °C. Após a solução ter resfriado, o excesso de permanganato foi reduzido pela adição de solução de cloridrato de hidroxilamina 15 % (m v⁻¹) (FADINI, 1999).

1.3.2.3.5 – Determinação de mercúrio

As determinações de mercúrio foram feitas por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio ROCHA *et al* (1994). Juntamente com as amostras de interesse, foi analisada amostra de solo certificada NIST - SRM 2709.

1.4 - RESULTADOS e DISCUSSÃO

1.4.1 - Caracterizações das amostras de solo

As características físico-químicas de amostras de solos fornecem informações importantes para o entendimento de suas propriedades e reatividades com espécies metálicas, por exemplo o Hg(II).

Na Tabela 1.3 pode-se observar um elevado teor da fração areia elevada porcentagem de areia nas camadas superficiais, indicando adiantados processos de podzolização.

Tabela 1.3 – Resultados dos teores de matéria orgânica e porcentagens de argila, silte e areia das amostras de solo na região do Rio Aracá-AM.

Amostras de solo	Matéria orgânica (%)	Areia (%)	Silte (%)	Argila (%)
Ralf _(base)	7,24 ± 0,07	34,04	25,66	32,66
Ralf ₍₀₋₁₀₎	6,91 ± 0,25	68,53	18,50	2,47
Ralf ₍₁₀₋₂₀₎	2,46 ± 0,04	68,81	17,73	1,05
Ralf ₍₂₀₋₄₀₎	0,88 ± 0,01	64,56	26,00	2,08
Ralf ₍₄₀₋₆₀₎	0,11 ± 0,01	59,58	32,71	1,21
Ralf _(4mm)	5,77 ± 0,17	81,50	6,54	4,09
Ralf _(4mp)	4,96 ± 0,32	72,57	7,60	20,26
Ralf 1 ₍₀₋₁₀₎	1,66 ± 0,25	90,06	4,85	1,21
Ralf 1 ₍₁₀₋₂₀₎	1,26 ± 0,19	85,30	7,42	2,97
Ralf 1 ₍₂₀₋₄₀₎	0,44 ± 0,03	88,51	2,33	1,16
Ralf 1 ₍₄₀₋₆₀₎	2,21 ± 0,04	71,17	6,67	3,34
Ralf 2 ₍₀₋₁₀₎	6,66 ± 0,18	69,04	13,60	4,53
Ralf 2 ₍₁₀₋₂₀₎	0,76 ± 0,03	75,77	17,27	0,84
Ralf 2 ₍₂₀₋₄₀₎	0,11 ± 0,02	67,89	18,18	0,81
Ralf 2 ₍₄₀₋₆₀₎	0,03 ± 0,001	68,37	27,66	0,82
Ralf 2 _(4m)	6,57 ± 0,45	72,09	1,06	6,36
Adm ₍₀₋₁₀₎	8,51 ± 0,048	64,88	24,12	4,64
Adm ₍₁₀₋₂₀₎	4,52 ± 0,62	76,15	11,93	4,34
Adm ₍₂₀₋₄₀₎	0,40 ± 0,002	79,04	6,45	2,15
Adm ₍₄₀₋₆₀₎	0,97 ± 0,005	74,97	11,78	2,36
Adm _(4mm)	6,80 ± 0,03	73,70	10,12	1,01
Adm _(4mp)	7,29 ± 0,18	65,42	8,10	0,87
C* ₍₀₋₁₀₎		40,2	41,8	18,0
C* ₍₁₀₋₂₀₎		24,7	49,0	26,3
C* ₍₂₀₋₄₀₎		18,7	39,4	41,9
C* ₍₄₀₋₆₀₎		15,0	41,0	44,0

Os teores de matéria orgânica determinados nas amostras de solo do Rio Aracá-AM variaram de 0,03 a 8,51 %. Observou-se para os pontos de amostragens (0 – 10, 10 - 20, 20 - 40 e 40 - 60 cm) tendência em diminuir o teor de matéria orgânica com a profundidade de coleta, porém nas profundidades de 4,0 m observa-se elevado teor de matéria orgânica devido à presença de matéria orgânica petrificada (Figura 1.4).

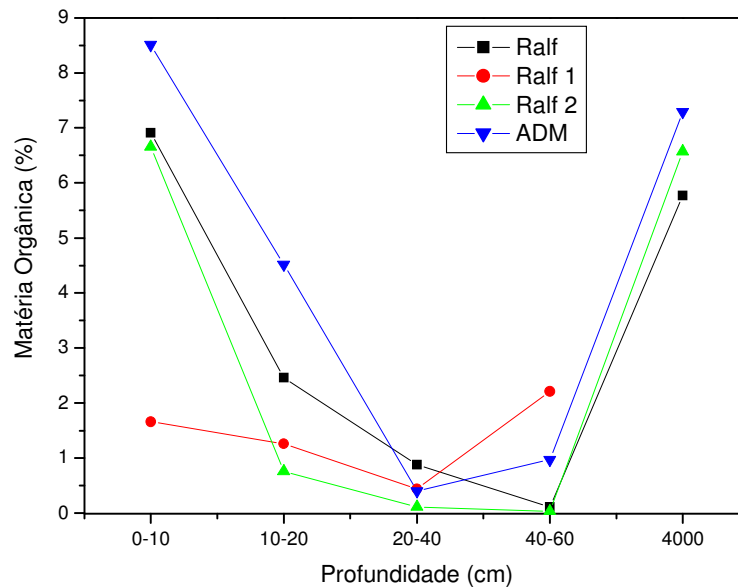


Figura 1.7 - Porcentagem de matéria orgânica em amostras de solo coletadas na Bacia do Rio Negro-AM em função da profundidade.

1.4.2 – Determinações de ferro, alumínio e mercúrio

Na Tabela 1.4 representa-se os resultados referentes à concentração de ferro, alumínio e mercúrio nas amostras de solos coletados na Bacia do Rio Negro - AM.

Tabela 1.4 – Resultados de alumínio, ferro e mercúrio nas amostras de solo coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM.

Amostras	Al (%)	Fe (%)	Hg ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
Ralf _(base)	8,57	0,85	964,4
Ralf ₍₀₋₁₀₎	13,5	1,24	242,8
Ralf ₍₁₀₋₂₀₎	13,97	1,35	257,4
Ralf ₍₂₀₋₄₀₎	14,6	1,38	321,7
Ralf ₍₄₀₋₆₀₎	15,54	1,95	407,4
Ralf _(4mm)	6,35	1,23	364,5
Ralf _(4mp)	4,17	1,47	193,1
Ralf 1 ₍₀₋₁₀₎	7,83	1,04	188,9
Ralf 1 ₍₁₀₋₂₀₎	9,13	1,58	171,7
Ralf 1 ₍₂₀₋₄₀₎	9,05	1,64	360,2
Ralf 1 ₍₄₀₋₆₀₎	9,91	1,95	614,3
Ralf 2 ₍₀₋₁₀₎	11,54	0,98	186,7
Ralf 2 ₍₁₀₋₂₀₎	12,76	1,39	97,4
Ralf 2 ₍₂₀₋₄₀₎	12,95	1,45	168,8
Ralf 2 ₍₄₀₋₆₀₎	12,45	1,57	124,1
Ralf 2 _(4m)	12,61	1,63	615,4
Adm ₍₀₋₁₀₎	5,6	0,73	168,8
Adm ₍₁₀₋₂₀₎	7,82	0,84	146,5
Adm ₍₂₀₋₄₀₎	8,64	0,93	142,0
Adm ₍₄₀₋₆₀₎	9,01	0,95	146,5
Adm _(4mm)	5,6	0,98	667,7
Adm _(4mp)	8,80	0,83	571,0
Carvoeiro 1 *	1,0	2,9	84,34
Carvoeiro 3*	1,0	4,5	106,49
Tucandera *	1,1	4,6	133,76
Araçá *	2,2	4,2	150,86
SRM 2709	7,097	3,53	1,41
SRM 2710	6,201	2,89	-----

Padrões certificados:

SRM 2709: %Al $7,50 \pm 0,06$, %Fe $3,50 \pm 0,11$, Hg $1,41 \pm 0,08 \mu\text{g kg}^{-1}$;

SRM 2710: %Al $6,53$, %Fe $2,89 \pm 0,06$.

*amostras de solos da Bacia do Rio Negro-AM (ROCHA, 2004).

Os resultados das concentrações de Fe, Al e Hg obtidos para as amostras de referência concordam com os valores certificados, o que comprova a exatidão do método proposto.

Os resultados das porcentagens de alumínio nas amostras de solos variaram de 4,17 a 15,54 %. FADINI e JARDIM (2001), estudando diferentes tipos de amostras de solos da Bacia do médio Rio Negro-AM determinaram teores de alumínio variando de 5,56 a 20,22 %. Os teores de ferro (Tabela 1.4) variaram de 0,98 a 1,64 %.

Nas Figuras 1.8 e 1.9 pode-se verificar que as concentrações de alumínio e ferro aumentaram em função da profundidade, corroborando com os dados obtidos por ROULET (1998) e colaboradores, que atribuem a esse aumento, os processos de arenização (eluviação e/ou erosão seletiva da argila) e podzolização (migração de complexos organo-metálicos).

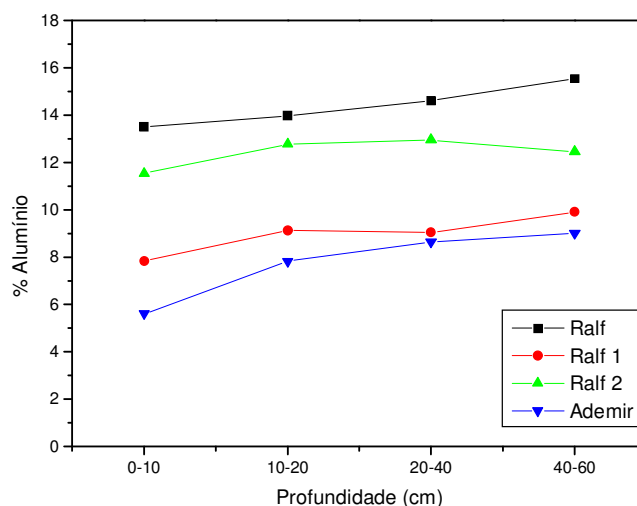


Figura 1.8 - Porcentagens de alumínio total nas amostras de solo coletadas no Rio Aracá-AM em diferentes profundidades.

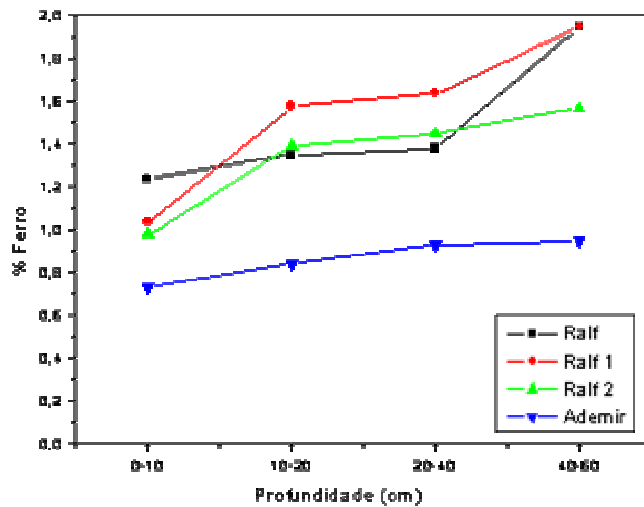


Figura 1.9 - Porcentagem de ferro total nas amostras de solo coletadas no Rio Aracá-AM em diferentes profundidades.

Embora seja uma região sem histórico de atividades de garimpos, de acordo com a Tabela 1.5, as concentrações de mercúrio determinadas nas amostras de solo coletadas na Bacia do Rio Negro-AM são comparáveis àsquelas de solos considerados impactados por atividades de mineração e maiores que os valores médios globais citados na literatura.

Tabela 1.5 – Níveis de mercúrio ($\mu\text{g g}^{-1}$) determinados em amostras de solos coletadas em diferentes regiões.

Localização	Descrição	Intervalo de concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Referência
Média global		0,05 - 0,100	Fadini e Jardim
Rio Madeira / PA	Floresta tropical, 0-10 cm	0,017 - 0,128	Brabo <i>et al.</i>
Rio Madeira / PA	Floresta tropical, 50-60 cm	0,057 - 0,279	Brabo <i>et al.</i>
Próximo a Rio Branco / AC	Solos argilosos e ferruginosos	0,190 - 0,379	Brabo <i>et al.</i>
Rio Tapajós / PA	Horizonte mineral	0,050 - 0,210	Roulet <i>et al.</i>
Rio Negro / AM		Média 0,212	Forsberg <i>et al.</i>
Rio Madeira / RR	Floresta tropical	0,030 - 0,340	Malm <i>et al.</i>
Rio Madeira / PA	Solos oxisóis	0,232 - 0,406	Lechler <i>et al.</i>
Rio Negro / AM	Floresta tropical	0,081 - 0,320	Fadini e Jardim
Serra do Navio / AP	Solo com cobertura argilosa	0,1 - 0,3	Oliveira <i>et al.</i>
Sul da AM	Solos de floresta	0,05 - 0,100	Lacerda <i>et al.</i>
	Solos de pastagem	0,01 - 0,05	
EUA	Solos agrícolas	Média 110	Bringmark
Europa	Florestas de solos minerogênicos	0,05 - 0,15	Bringmark
Europa	Solos agrícolas	Média 100	Bringmark
Norte e Sudeste da Europa		<0,06	Bringmark
Suécia	Florestas com solos podzóis – horizontes O, E, B e C	0,007 - 0,25	Bringmark
Polônia		Média 0,15	Bringmark
Hardwood / Michigan, EUA	Floresta temperada 0-5 cm	0,006 - 0,1	Zhang <i>et al.</i>
Bacia do Rio Negro -AM	Floresta tropical 0-60 cm e 4m	0,097 - 0,964	Este trabalho

De acordo com Fadini e Jardim (2001), a distribuição vertical de mercúrio na Bacia do Rio Negro indica que estes solos são naturalmente enriquecidos em mercúrio. A Figura 1.10 mostra aumento da concentração de mercúrio em função da profundidade. Elevadas concentrações de mercúrio nas maiores profundidades de solos podem estar associadas a possíveis mecanismos de lixiviação que ocorrem na superfície, seguido da retenção por oxihidróxidos de ferro e alumínio nos horizontes minerais (ROULET *et al.* 1995, 1998).

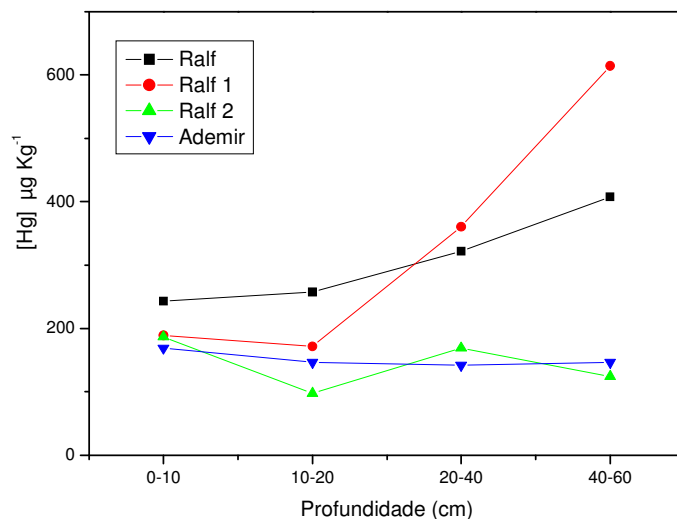


Figura 1.10 - Porcentagens de mercúrio total nas amostras de solo coletadas na região do Rio Aracá-AM em diferentes profundidades.

1.4.3 - Relações entre mercúrio e características dos solos

Para correlacionar os teores de mercúrio com as características dos solos em diferentes perfis, traçaram-se curvas entre estas variáveis e obtiveram-se os valores das regressões lineares, conforme ilustra a Figura 1.11.

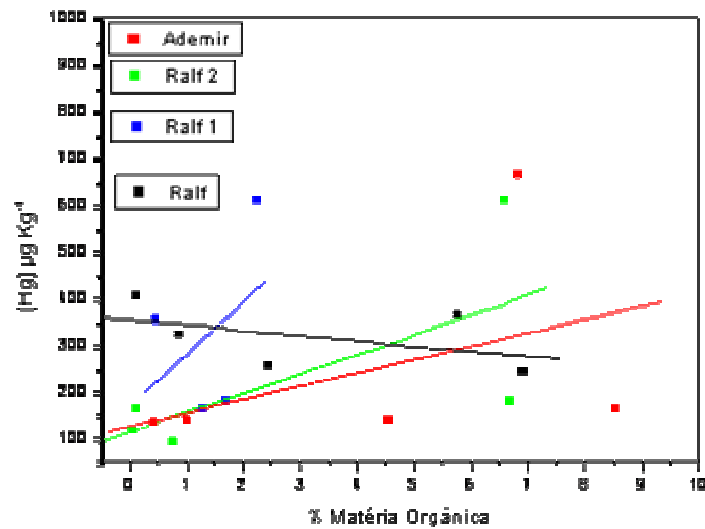


Figura 1.11 – Correlações entre as porcentagens de matéria orgânica e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas às margens do Rio Aracá-AM.

As variações dos coeficientes de correlações das regressões lineares estudadas apresentaram um comportamento diferenciado e aleatório entre os teores de mercúrio e as características físico-químicas das amostras dos solos. Essas variações podem estar associadas ao número reduzido de amostras analisadas para cada ponto de coleta ($n = 4$) o que limita as inferências sobre as correlações entre as características das amostras com os teores de mercúrio.

Considerando a grande variação entre os valores das regressões lineares em função dos parâmetros analisados e a não observância de um comportamento linear e uniforme para as diferentes amostras, optou-se pela análise de correlações entre mercúrio e os parâmetros de interesse, desconsiderando-se os pontos e profundidades de coleta das amostras. Com isto, a análise estatística foi feita com um número maior de amostras (22) coletadas na Bacia do Rio Negro-AM, com características distintas em

relação aos parâmetros de interesse, por exemplo, matéria orgânica, argila, ferro e alumínio.

Nas Figuras 1.12-1.15 estão representadas as correlações obtidas entre os parâmetros estudados e os teores de mercúrio nas amostras de solo.

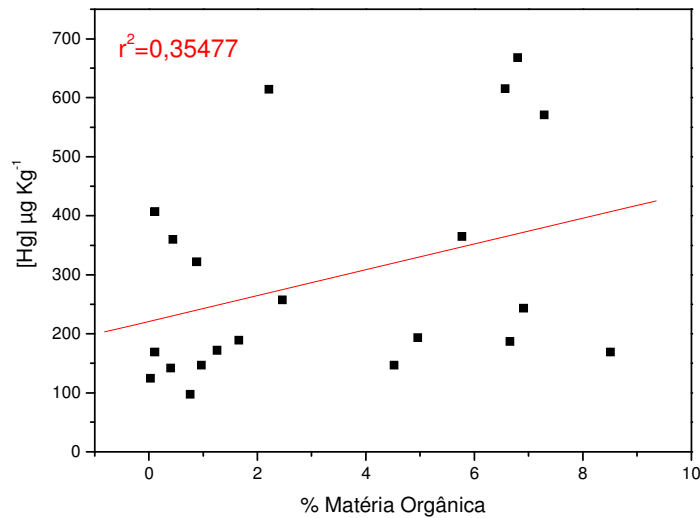


Figura 1.12 - Correlação entre as porcentagens de matéria orgânica e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletados às margens do Rio Aracá-AM.

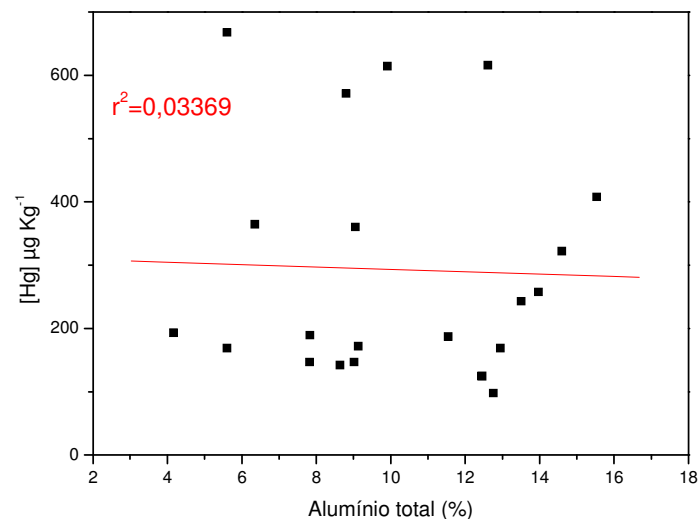


Figura 1.13 – Correlação entre as porcentagens de alumínio total e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas às margens do Rio Aracá-AM.

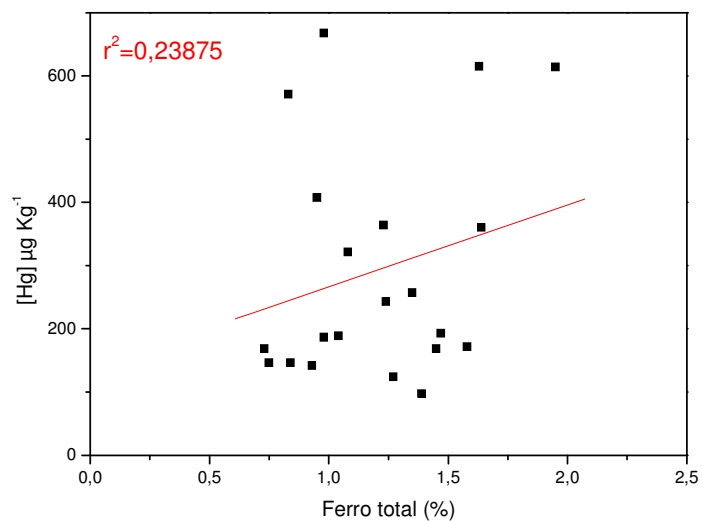


Figura 1.14 - Correlação entre as porcentagens de ferro total e concentrações de mercúrio nas amostras de às margens do Rio Aracá-AM.

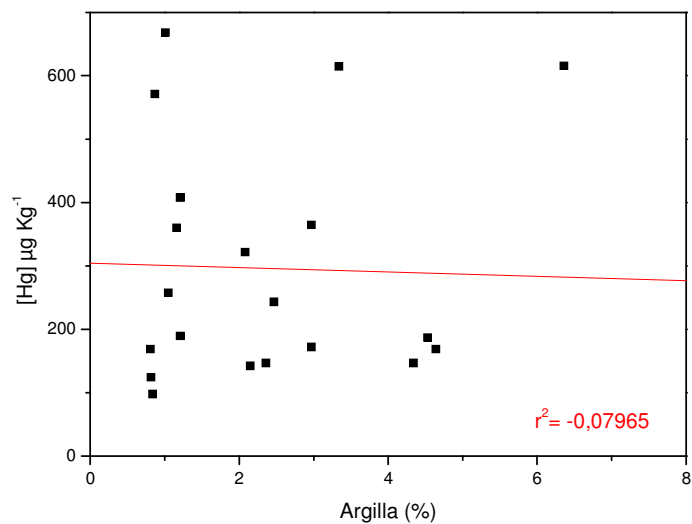


Figura 1.15 - Correlação entre as porcentagens de ferro total e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas às margens do Rio Aracá-AM.

A partir dos coeficientes de correlações entre mercúrio e algumas características dos solos, mostradas nas Figuras 1.12-1.15, pode-se observar melhores correlações entre mercúrio e matéria orgânica (Figura 1.12). Alguns autores têm preferido correlacionar mercúrio apenas com carbono total. Entretanto, a matéria orgânica presente em solos possui outros elementos como enxofre, grupos nitrogenados e oxigenados os quais também influenciam nos processos de complexação/redução de metais (STEVENSON, 1994). FADINI e JARDIM (2001) estudando amostras de solo da Bacia do Médio Rio Negro-AM obtiveram uma melhor correlação entre mercúrio e alumínio/ferro presentes nas amostras de solo ao invés de matéria orgânica. Porém, outros autores também verificaram melhores correlações entre mercúrio e matéria orgânica, principalmente para solos ácidos, nos quais a matéria orgânica, principalmente na forma de substâncias húmicas, compreende a principal classe de compostos que atua nos processos de complexação, redução e transporte de mercúrio para o ambiente (ALLOWAY, 1995).

1.4.4 – Análises estatísticas multivariadas

A técnica de análise exploratória AHA (Análise hierárquica de agrupamento) foi utilizada para interpretação dos dados experimentais gerados a partir das determinações das concentrações de mercúrio; análise granulométrica (teores de argila, silte e areia); matéria orgânica e teores de Fe e Al.

A análise hierárquica de agrupamentos tem como objetivo observar a formação de agrupamentos naturais, em uma estrutura hierárquica em que as amostras são colocadas em um sistema de grupos e subgrupos dependendo do grau de similaridade entre elas (HAIR JR *et al.*, 1995).

Na AHA, a estrutura hierárquica é organizada na forma de um gráfico bidimensional chamado dendrograma onde é possível observar as correlações e similaridades entre as amostras. A AHA pode ser igualmente aplicada nas variáveis, para avaliar as similaridades e correlações (RIBEIRO, 2001).

Na Figura 1.16, observa-se à formação de três agrupamentos; sendo o primeiro formado pelos parâmetros matéria orgânica, argila, e concentração de mercúrio; o segundo por porcentagem de silte e alumínio e o terceiro por porcentagem de areia e ferro.

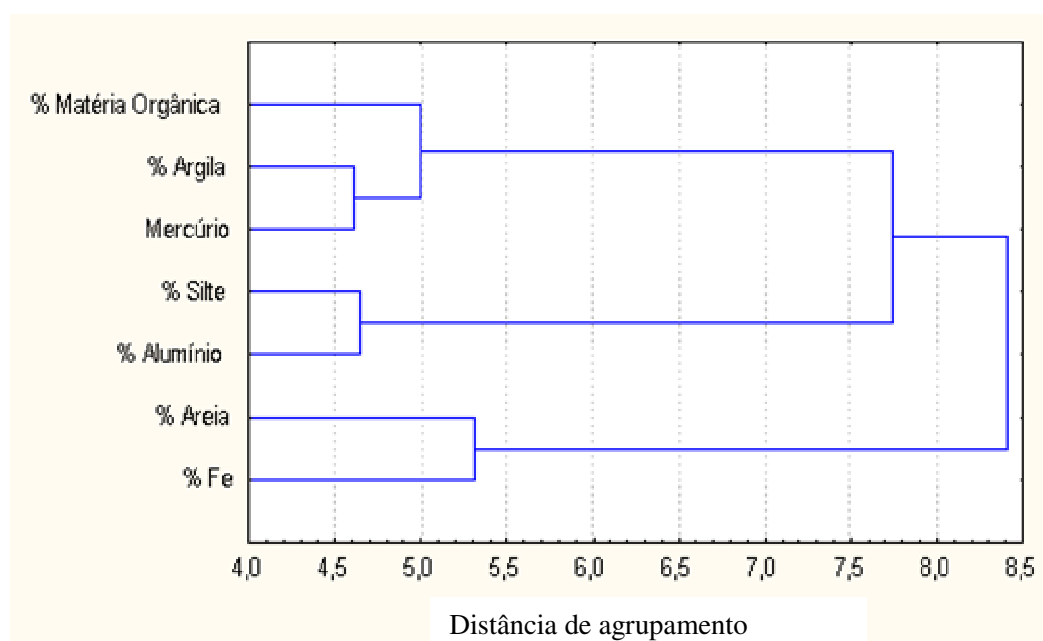


Figura 1.16 - Dendrograma obtido a partir das determinações de Hg; análise granulométrica (teores de argila, silte e areia); matéria orgânica, teores de ferro e alumínio determinados em amostras de solo da bacia do Rio Negro-AM.

No primeiro grupo formado pelos parâmetros mercúrio, argila e matéria orgânica observa-se maior similaridade entre mercúrio e argila. ROULET *et al.* (1998) determinando concentrações de mercúrio em diferentes frações granulométricas em amostras de solos de formação Alter do chão, na Amazônia central, determinaram-se concentrações de mercúrio

cerca de duas a sete vezes maiores nas frações finas (argila) que nas frações médias (silte) e grossas (areia), indicando forte interação entre mercúrio e argila, como observado nessas análises estatísticas. Vários autores descreveram correlações entre mercúrio e matéria orgânica, principalmente para solos ácidos, nos quais a matéria orgânica, principalmente na forma de substâncias húmicas, compreende a principal classe de compostos que atuam nos processos de complexação, redução e transporte de mercúrio para o ambiente (ALLOWAY, 1995; VALLE *et al.*, 2005).

O segundo grupo é formado pelos parâmetros silte e alumínio, indicando que os teores de alumínio no solo estão correlacionados principalmente a fração silte e o terceiro grupo é formado pelos parâmetros ferro e areia, indicando que nestes solos as concentrações de ferro estão principalmente ligado na fração de areia.

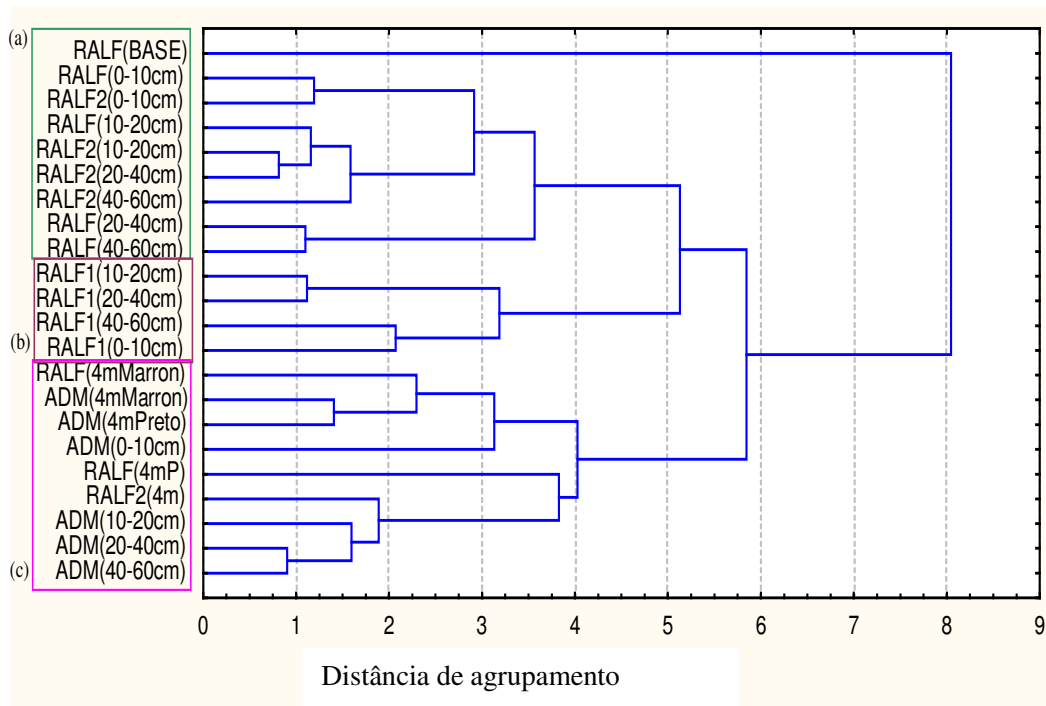


Figura 1.17 - Dendrograma das amostras coletadas em diferentes profundidades na Bacia do Rio Negro-AM.

Quanto à Figura 1.17, o tratamento estatístico teve como objetivo correlacionar as amostras coletadas nos diferentes solos e a separação hierárquica também apresentou três *clusters* principais (a, b, c). As amostras se agruparam em função do tipo de solo. Nas amostras coletadas nas profundidades de 4,0 metros observa-se que houve agrupamento das mesmas (*cluster c*), devido principalmente à semelhança na sua idade geológica.

1.5 - CONCLUSÃO

O perfil dos solos estudados é composto por uma camada de matéria orgânica superficial (0-60cm), na qual o teor diminui com a profundidade, seguido de camada arenosa (60-400cm) e logo após, na profundidade de 400 cm há presença de matéria orgânica fossilizada sendo este tipo de perfil uma particularidade desta região em estudo.

Os teores de alumínio e ferro nas amostras de solo aumentaram em função da profundidade de coleta, indicando ocorrência dos processos de arenização e podzolização.

As concentrações de mercúrio variaram de 97,4 a 964,4 $\mu\text{g g}^{-1}$ sendo comparáveis àquelas de solos considerados impactados por atividades de mineração. A partir dos coeficientes de correlações entre mercúrio e as características dos solos, pode-se observar melhores correlações entre mercúrio e matéria orgânica indicando a atuação da matéria orgânica nos processos de complexação, redução e transporte de mercúrio nos solos para o ambiente.

Através das análises estatísticas verificou-se o grau de similaridade entre amostras coletadas no mesmo solo inclusive aquelas coletadas a 400 cm de profundidade, as quais apresentaram elevado grau de similaridade, talvez pela semelhança na idade geológica destas amostras.

CAPÍTULO 2

EXTRAÇÃO, FRACIONAMENTO E CAPACIDADE DE COMPLEXAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS EXTRAÍDAS DE AMOSTRAS DE SOLOS COLETADOS NA REGIÃO DO RIO ARACÁ-AM.

2.1 - INTRODUÇÃO

2.1.1 - Substâncias húmicas

O local de estudo situa-se próximo a uma região de turfeiras, apresentando rica constituição de matéria orgânica. Sendo importante para os ciclos biogeoquímicos da Bacia do Rio Negro-AM.

A matéria orgânica presente nos solos, turfas e sedimentos consistem em uma mistura de produtos em vários estágios de decomposição, resultante da degradação química e biológica de resíduos vegetais e animais, e da atividade microbiana (AIKEN, 1985). Essa matéria é chamada de húmus, substâncias húmicas (SH), e substâncias não húmicas. A base da diferenciação é que as substâncias não húmicas são de natureza definida, como por exemplo, aminoácidos, carboidratos, proteínas e ácidos orgânicos, enquanto as substâncias húmicas são de estrutura química complexa compondo um grupo de compostos heterogêneos STEVENSON (1982).

2.1.2 - Classificação das substâncias húmicas

A primeira tentativa de isolar substâncias húmicas de solo foi de ACHARD (1786), quando submeteu turfas a solventes alcalinos e obteve uma solução escura que precipitava por acidificação. Esse material, solúvel em álcali e insolúvel em ácido, foi denominado ácido húmico (AH), cuja definição mantém-se até hoje. ACHARD observou ainda que grande quantidade desse material poderia ser extraída de turfas devido a seu alto estágio de decomposição.

DE SAUSSURE (1804) introduziu o termo *húmus* (do latim, equivalente ao solo) para descrever o material orgânico de coloração escura originário do solo. Percebeu que o húmus era derivado de resíduos vegetais, sendo rico em carbono, mas pobre em hidrogênio e oxigênio.

Como as SH não podem ser definidas estruturalmente, a classificação das diferentes frações é baseada experimentalmente em suas características de solubilidade, apresentando três principais frações. 1) Os ácidos húmicos definidos operacionalmente como a fração das SH solúvel em meio alcalino diluído e que precipita pela acidificação do extrato alcalino. 2) Os ácidos fúlvicos (AF) permanecem em solução quando o extrato alcalino é acidificado e 3) A humina é a fração não extraída por ácido ou álcali diluído HAYES (1998).

Na Tabela 2.1 apresenta-se as definições freqüentemente utilizadas na química do húmus.

Tabela 2.1 – Definições freqüentemente utilizadas na química do húmus.

Termos	Definições
Substâncias húmicas/material húmico / húmus	Substâncias de coloração escura, elevada massa molar, estrutura complexa e indefinida. Resultantes da decomposição de vegetais e animais.
Substâncias não húmicas	Substâncias presentes no solo de composição e estrutura definida, tais como aminoácidos, carboidratos, ceras, lipídeos, resinas, ácidos graxos, etc..
Humina	Parte do material orgânico presente no solo de coloração escura, insolúvel em álcalis e ácidos.
Ácidos fúlvicos	Material colorido remanescente após separação do ácido húmico por precipitação em meio ácido.
Ácidos húmicos	Material orgânico de coloração escura. Pode ser extraído do solo por vários reagentes e insolúvel em meio ácido

	(pH < 2).
Ácido himatomelânico	Fração do ácido húmico solúvel em álcoois.

Adaptada de ROSA (2001)

2.1.3 – Características das substâncias húmicas

2.1.3.1 – Estruturas das substâncias húmicas

Na literatura existem várias propostas estruturais para as substâncias húmicas (KONONOVA, 1966; SCHNITZER & KHAN, 1978; STEVENSON, 1982), entretanto, de acordo com STEVENSON (1985) nenhuma parece ser inteiramente satisfatória. Provavelmente, isto ocorre não apenas devido a complexidade e heterogeneidade estrutural das SH, mas principalmente pela falta de uma identidade estrutural genérica a qual é fortemente influenciada pelo grau e mecanismo de decomposição. Na Figura 2.1 ilustra-se um modelo estrutural para o ácido húmico, o qual foi proposto por SCHULTEN (1995) a partir de estudos espectroscópicos, pirólise, espectrometria de massa, cromatografia.

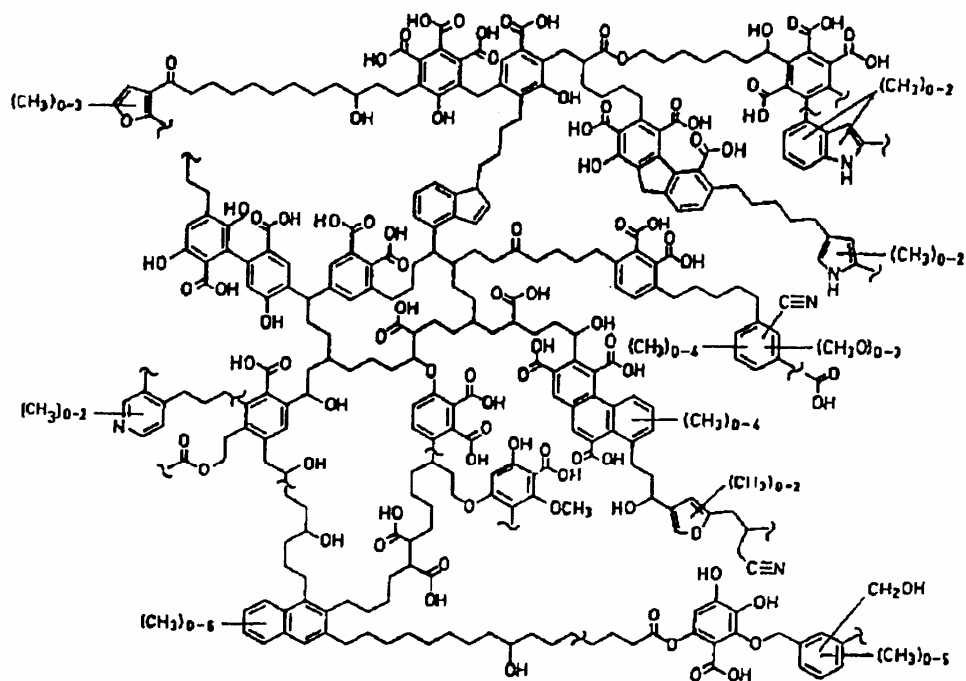


Figura 2.1 - Estrutura proposta para o ácido húmico. Adaptada de SCHULTEN (1995).

PICCOLO *et al.* (2000), baseados em cromatografia e utilizando eletroforese capilar sugerem um novo conceito a respeito das características estruturais das SH. Neste caso, as SH não possuiriam estrutura macromolecular extremamente complexa e seriam formadas pela agregação de pequenas moléculas/micelas (VON WANDRUSKA, 1998). O paradigma da estrutura das SH tem permanecido, enquanto novos procedimentos analíticos e desenvolvimentos especialmente na área de espectroscopia têm sido desenvolvidos visando à obtenção de resultados mais contundentes os quais suportem as hipóteses propostas.

Entretanto, mesmo com as contradições existentes quanto ao modelo estrutural, algumas características das SH já estão bem definidas:

1) as frações de ácido húmico e ácido fúlvico são misturas heterogêneas de moléculas polidifusas, com intervalos de massa molar variando de algumas centenas até milhões (STEVENSON, 1982);

2) há variação da razão entre ácidos húmicos e ácidos fúlvicos em função do tipo de solo. Essa razão está associada ao grau de humificação do mesmo (ROSA *et al.*, 2000).

3) as substâncias húmicas extraídas de solos têm composição elementar média de acordo com a Tabela 2.2.

4) os ácidos húmicos e fúlvicos apresentam alto teor de grupos funcionais contendo oxigênio tais como, carboxilas, hidroxilas fenólicas e carbonilas de vários tipos (STEVENSON, 1985).

Tabela 2.2 - Composição elementar média de substâncias húmicas extraídas de solos.

<i>Substâncias</i> húmicas	Composição elementar média (%)				
	C	H	O	N	S
Ácidos húmicos	53,8- 58,7	3,2- 6,2	32,8- 38,3	0,8- 4,3	0,1- 1,5
Ácidos fúlvicos	40,7- 50,6	3,8- 7,0	39,7- 49,8	0,9- 3,3	0,1- 3,6

Adaptada de CALDERONI & SCHNITZER (1984).

De acordo com a Tabela 2.2 o AH tem maior teor de carbono e menor teor de oxigênio que o AF. A razão C/H está relacionada com o grau de aromaticidade das SH, isto é, quanto maior a razão C/H, maior o grau de aromaticidade, os AH apresentam maior aromaticidade e uma estrutura mais condensada. A razão C/N é um indicativo do grau de decomposição da matéria orgânica (humificação), pois está relacionada com a variação dos teores de aminoácidos/proteína, não apresentando grande variação para os diferentes ácidos.

A conformação estrutural de algumas macromoléculas pode ser freqüentemente representada por aproximações em forma de espiral ou elipsoidal. A conformação espiral pode ocorrer em poucas moléculas, mas, de acordo SWIFT (1989) alguns tipos de elipsoidal são muito mais freqüentes.

A conformação espiral pode ser representada como uma "fita", com grupos polares e cargas negativas ao longo de sua extensão (SWIFT, 1999). Esta estrutura flexível resulta em uma molécula aproximadamente como uma esfera, com distribuição Gaussiana de massa molar, com alta densidade de massa no centro e decrescente para os limites da extremidade da esfera (SWIFT, 1989).

A dimensão da esfera depende da extensão da "fita", da densidade de carga, da solvatação, da ionização dos grupos ácidos, da concentração de sais na solução, das extensões das ramificações e das ligações cruzadas (GHOSH & SCHNITZER, 1980).

Nas Figuras 2.2 e 2.3 apresenta-se duas possíveis conformações em forma de fita e de espiral ao acaso em forma esférica, respectivamente. Este modelo aparentemente explica irregularidades da estrutura química, ligações intramoleculares e cruzadas.

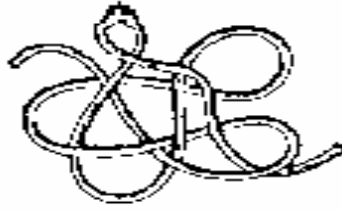


Figura 2.2 - Diagrama representativo da estrutura em forma de "fita", mostrando a flexibilidade da macromolécula (SWIFT, 1989). Adaptada de ZARA, 2001.

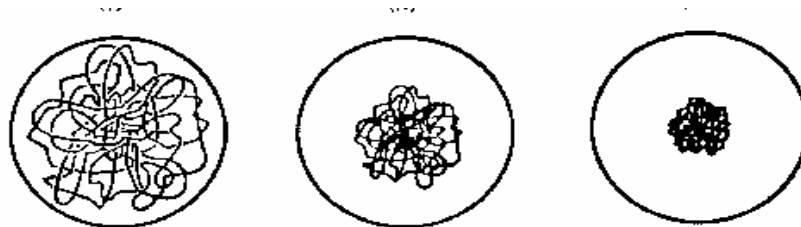


Figura 2.3 - Diagrama representativo da condensação da estrutura espiral ao acaso (SWIFT, 1989). Adaptada de ZARA, 2001.

SIMPSON *et al.*, (2002) estudando amostras de SH extraídas de solos propõe um novo modelo e explicação para a estrutura molecular das SH de solos, confrontando o modelo proposto por SWFIT (1989). Como pode ser observado na Figura 2.4, a nova proposta sustenta que a maioria dos componentes das SH extraídos de solo sob ação alcalina apresenta baixa massa molar (<2000 Da) e atribui a formação de agregados à presença de metais.

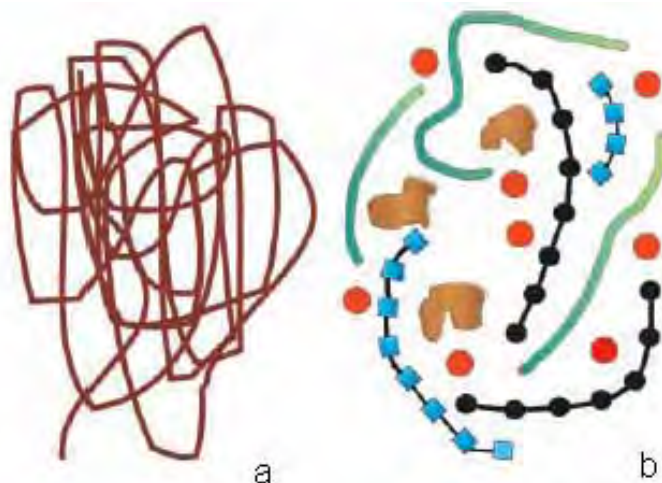


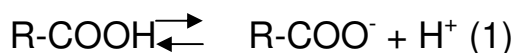
Figura 2.4 – a) Estrutura proposta por SWIFT *et al.*, 1989. b) Estrutura proposta por SIMPSON *et al.*, (2002) para a SH de extraídas de solos. As bolas vermelhas representam íons metálicos, as unidades pretas carboidratos, as unidades azuis proteínas, unidades verdes cadeias alifáticas, e marrons unidades aromáticas e fragmentos de ligninas.

2.1.3.2 – Origem da superfície de cargas

Os principais tipos de constituintes de cargas são:

I - ionização

Na estrutura das SH são identificados possíveis sítios com capacidade para suportar cargas positivas ou negativas. Mas, ocorre predominância de cargas negativas de ocorrência natural dependendo do valor do pH do meio, e também devido a ionização de grupos ácidos orgânicos, na presença de água (equação 1) (SWIFT, 1989).



II – substituição isomórfica

A forma mais comum da superfície adquirir carga é devido a imperfeições estruturais decorrentes da substituição iônica ou vazios,

resultando numa carga permanente na superfície da partícula. Mas é restrita a elementos com baixa valência e limitada pelo raio iônico.

III – solução iônica com hidratação

Superfícies também podem desenvolver carga como resultado da quimissorção de água, com adsorção dos íons H^+ e OH^- . O sinal e a magnitude da carga serão determinados pelo íon que estiver em excesso nas superfícies hidroxiladas. Os exemplos mais notáveis ocorrem em solos que apresentam óxidos ou hidróxidos de Al, Fe, Mn e Si (SPARKS, 2003).

Uma superfície modifica a carga quando a solução acumula contracarga, com objetivo de preservar a neutralidade elétrica. A contracarga pode consistir simplesmente de uma atmosfera difusa de contraíons ou tomar a forma de uma camada compacta de carga de ligação. A superfície de carga e as subcamadas compactas e difusas de contraíons são chamadas de dupla camada elétrica.

2.1.3.3 – Efeito das cargas intramoleculares

Substâncias húmicas podem ser consideradas como polieletrólito linear, flexível e com ocorrência de cargas negativas em pontos fixos ao longo de sua estrutura decorrente da ionização de grupos ácidos carboxílicos, tornando a molécula expandida devido à repulsão das cargas negativas (SCHNITZER, 1978). As interações intramoleculares do tipo ligações de hidrogênio, forças de London, elétrons π de anéis adjacentes e sítios hidrofóbicos favorecem a conformação estrutural condensada.

A energia livre eletrostática da molécula é minimizada quando a molécula está na forma expandida. As cargas negativas da macromolécula são balanceadas por um número igual de possíveis cargas positivas

(contraíons) evitando a expansão total da molécula. O equilíbrio existente entre as forças de repulsão e atração intramoleculares induzem à conformação estrutural das substâncias húmicas (SWIFT, 1999).

2.1.3.4 – Efeito das cargas intermoleculares

Devido à presença de cargas na superfície das substâncias húmicas, ocorrem interações intermoleculares. A intensidade das forças de repulsão e a distância de aproximação entre as moléculas dependem de vários fatores: 1) da quantidade de carga, 2) tamanho molecular e 3) concentração iônica da solução. As considerações teóricas desse comportamento estão baseadas nos efeitos de Donnam e na teoria da dupla camada elétrica (GHOSH e SCHNITZER, 1980). As forças de repulsão entre as moléculas podem ser superadas com o aumento da concentração de eletrólitos. Os contraíons em solução minimizam o potencial de carga no polieletrólito húmico, o qual não é estendido em solução devido ao efeito da dupla camada possibilitando a aproximação mais efetiva das macromoléculas húmicas. As interações intermoleculares podem levar a formação de dipolos induzidos devido ao deslocamento de elétrons π de anéis aromáticos favorecendo a conformação estrutural condensada (BARTSCHAT, 1992). Estes efeitos podem resultar na associação de macromoléculas causando precipitação (SWIFT, 1989).

2.1.3.5 – Grau de hidratação









Polímeros orgânicos e inorgânicos em sistemas aquáticos contêm grande número de sítios hidrofílicos (-OH; -COOH; -NH₂ ; -SH) os quais causam alto grau de hidratação. Em ácidos húmicos e fúlvicos, cerca de 30 % da macromolécula é hidratada por ligação direta de moléculas de água com os sítios hidrofílicos. O processo de hidratação influencia na estrutura

tridimensional da macromolécula e o valor da constante dielétrica dos sítios complexantes vizinhos. Estes dois efeitos influenciam a estabilidade do complexo formado (SCHERAGA, 1979).

2.1.3.6 – Grau de condensação

A análise de parâmetros físico-químicos da macromolécula húmica sugerem uma estrutura flexível devido à interações intra/intermoleculares de baixa energia e ligações de hidrogênio. Na Tabela 2.3 observa-se que o grau de condensação é influenciado pelo pH, concentração de SH e eletrólitos (ENCYCLOPEDIA OF ANALYTICAL SCIENCE, 1995; GHOSH & SCHNITZER, 1980).

Tabela 2.3 - Influência do pH, das concentrações de substâncias húmicas e de eletrólitos no grau de condensação da macromolécula húmica (BUFFLE, 1990).

Concentração de SH (g L ⁻¹)	Concentração de eletrólito (mol L ⁻¹)		pH	
	≤ 0,005	≥ 0,05	≤ 2	≥ 3,5
0,1 – 4				
4 – 9				

Adaptada de ZARA, 2001.

2.1.3.7 – Propriedades complexantes das substâncias húmicas

As substâncias húmicas possuem grupos funcionais em sua estrutura molecular inferindo-lhes excepcional reatividade para complexar metais. A habilidade complexante das SH deve-se ao alto teor de grupos funcionais contendo oxigênio, tais como carboxilas, hidroxilas fenólicas e carbonilas de vários tipos (AIKEN, 1985).

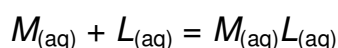
Os agentes complexantes podem ser divididos em duas categorias:

- Ligante simples: Cl^- , CO_3^{2-} e aminoácidos.
- Compostos com grupos homólogos: SH, proteínas e óxidos de metais.

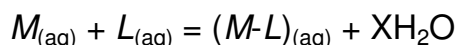
Compostos com grupos homólogos (CGH) frequentemente contêm grande número de sítios complexantes e a densidade de sítios pode ser comparada à concentração de muitos ligantes simples. A estabilidade dos complexos correspondentes é geralmente alta e, portanto, têm importante função na distribuição dos metais em soluções.

Para ligantes simples (L) a complexação do metal (M) pode resultar de dois modelos de interações:

I) Atração eletrostática entre o ligante e o íon metálico, as cargas foram suprimidas, os quais conservam as esferas de hidratação.



II) Formação de ligação covalente entre os ligantes e o íon metálico, com total ou parcial desidratação.



No caso de complexos homólogos a reação pode ocorrer entre o metal e cada um dos sítios complexantes, mas com fortes efeitos adicionais (chamados de “secundários”) que podem influenciar no processo de complexação. Estes efeitos aparecem em complexantes com estrutura que envolvem misturas de compostos na macromolécula.

O ambiente pode exercer forte influência na estabilidade do complexo SH-Metal devido às macromoléculas húmicas apresentarem:

I - Propriedades polifuncionais

A qual pode ser dividida em:

(a) Natureza química dos sítios de coordenação:

Em contraste aos ligantes simples (L), os compostos com grupos homólogos possuem sítios de coordenação com diferentes naturezas químicas.

(b) Meio eletrônico dos sítios de complexação (S): em uma dada macromolécula grupos S podem ser originários de diferentes fragmentações (cadeia alifática, anéis aromáticos), assim, podem exercer diferentes efeitos eletrônicos.

(c) Impedimento estérico dos sítios S: CGH podem formar uma capa ao redor de sítios S influenciando a estabilidade do complexo formado.

II - Cargas conformacionais

O impedimento estérico dos sítios S depende da conformação espacial da macromolécula, a qual pode variar de acordo com a concentração iônica do meio, pH, temperatura e concentração de substâncias húmicas na solução. A conformação depende em particular do processo de hidratação, desidratação e formação de ligações de hidrogênio ou ligações com íons metálicos, as quais dependem do grau de ocupação dos sítios S.

III - Propriedades polieletrólíticas

Os sítios de complexação em substâncias húmicas são divididos em sítios maiores e sítios menores dependendo da fração molar total de sítios considerados. Sítios maiores são aqueles presentes na ordem de 90 % dos sítios presentes (carboxilatos e fenolatos). Sítios menores correspondem a uma pequena fração dos sítios complexantes totais, porém inclui um número variado de tipos de sítios com grupos funcionais contendo

nitrogênio e enxofre. Para o controle de metais traço em sistemas naturais esses sítios são de grande importância devido a sua alta energia de complexação e afinidade por metais de transição e metais moles (ENCYCLOPEDIA OF ANALYTICAL SCIENCE, 1995).

Em ligantes orgânicos naturais, particularmente nas macromoléculas, a formação de complexos mistos é favorecida por sua grande extensão e em especial à ocorrência simultânea de formação de interações π , interação eletrostática, ligações de hidrogênio, interação apolar de sítios hidrofóbicos, e interações de forças de London (BUFFLE, 1990).

A importância relativa destas propriedades varia com o grau de sítios ocupados. Isto constitui uma diferença fundamental comparada as propriedades dos ligantes simples e uma das maiores dificuldades em entender o comportamento dos complexos homólogos (BUFFLE, 1990; SIGEL & McCORMICK, 1970).

2.1.3.8 – Massa molar média das substâncias húmicas

As substâncias húmicas são polidispersas, isto significa que, em uma amostra as moléculas individuais não são todas do mesmo tamanho, e conseqüentemente existe uma distribuição de massa molar. As medidas mais utilizadas na literatura são M_n e M_m .

Como as SH são uma mistura, o valor da massa molar é resultante de uma média. As duas definições mais utilizadas são massa molar numérica (M_n) e massa molar ponderal média (M_m) definidos pela somatória dos números e massa das concentrações de diferentes frações húmicas (TIPPING, 2002). Polidispersidade é a razão do peso e do número médio. Para uma amostra (substância) monodispersa, todas as moléculas têm o mesmo valor da massa molar M_i então M_n e M_m são iguais $M_m/M_n = 1$. Para medidas numa variada quantidade de amostras por diferentes técnicas,

tem-se observado uma concordância quanto a massa molar dos ácidos fúlvicos, sendo estes somente da ordem de alguns milhares como mostra a Tabela 2.4 e CAMERON *et al.* (1972) observaram um amplo intervalo de massa molar entre 2400 – 1360000 Da.

Tabela 2.4 – Massa molar média de ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH).

Amostra	M_n(Da)	M_m(Da)	Método	Referências
AF ^a	600 - 1.400	1.000 - 2.300	FFF	AYKEN <i>et al.</i> , (1987)
AF ^a	600 - 1.000		Cri	VISSER (1964)
AH ^b		4000 - 8.000	UC	REID <i>et al.</i> , (1990)
AH ^b		25.000 - 200.000	GDU	PIRET <i>et al.</i> , (1960)

Adaptada de TIPPING, (2002).

^a amostra extraída de água. ^b amostra extraída de solo. (FFF) Fracionamento em campo de fluxo. (Cri) Crioscopia, (UC) Ultracentrifugação, (GDU) Gradiente de densidade de ultracentrifugação.

2.1.4 - Importância das substâncias húmicas no solo

As substâncias húmicas representam a principal forma de matéria orgânica (MO) distribuída no planeta Terra. São encontradas não apenas em solos, mas também em águas naturais, turfas, pântanos, sedimentos aquáticos e marinhos. A quantidade de carbono presente na Terra na forma

de SH ($60 \cdot 10^{11}$ t) excede àquela presente em organismos vivos ($7 \cdot 10^{11}$ t) STEVENSON (1994).

As SH são ambientalmente importantes pelas seguintes razões:

1) de acordo com WERSHAW (1993), as propriedades físico-químicas do solo e de sedimentos são, em larga extensão, controladas pelas substâncias húmicas.

2) dependendo das condições do meio possuem características oxidorredutoras, influenciando na redução de espécies metálicas para a atmosfera (p.e. redução do íon Hg(II) para Hg⁰) ROCHA *et al.* (2000).

3) atuam no mecanismo de sorção no solo de gases orgânicos e inorgânicos presentes na atmosfera.

4) quando presentes em altas concentrações durante o processo de tratamento de água podem reagir com o cloro, produzindo compostos orgânoclorados os quais possuem características cancerígenas.

5) interagem com compostos orgânicos antrópicos, por exemplo, pesticidas e herbicidas por efeitos de adsorção, solubilização, hidrólise, processos microbiológicos e fotossensibilizantes (BARCELÓ, 1991; SANTOS, 1998). O efeito solubilizante das SH sobre compostos orgânicos pode desempenhar importante função na dispersão, mobilidade e transporte desses produtos no ambiente aquático e terrestre LACORTE & BARCELÓ (1995).

6) auxiliam nos processos pedogênicos

Além da relevância ambiental, as características físico-químicas do húmus também causam alguns efeitos benéficos ao solo, conforme a Tabela 2.5.

Tabela 2.5 - Propriedades gerais das substâncias húmicas e efeitos causados ao solo.

Propriedades	Observações	Efeitos no solo
Cor	A coloração escura dos solos é causada pelas substâncias húmicas	Retenção de calor, auxiliando na germinação de sementes
Retenção de água	Retêm água até 20 vezes a sua massa	Evitam erosão e mantêm a umidade do solo
Combinação com argilas minerais	Cimentam partículas do solo formando agregados	
Quelação	Formam complexos estáveis com Cu^{+2} , Mn^{+2} , Zn^{+2} e outros cátions polivalentes	Melhoram a disponibilidade de nutrientes para as plantas
Insolubilidade em água	Devido sua associação com argilas e sais de cátions di e tri valentes	Pouca matéria orgânica é lixiviada
Ação tampão	Têm função tamponante em amplos intervalos de pH	Mantém as condições reacionais do solo
Troca de cátions	A acidez total das frações isoladas do húmus varia de 300 a $1400 \text{ cmol kg}^{-1}$	Aumentam a CTC no solo. De 20 a 70 % da CTC de solos é devida a MO
Mineralização	A decomposição da MO fornece CO_2 , NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} e SO_4^{2-}	Fornecimento de nutrientes para o crescimento das plantas

Adaptada de STEVENSON, 1994.

2.1.5 - Fracionamento das substâncias húmicas

2.1.5.1 – Técnicas utilizadas

Fracionamentos baseados em diferença de solubilidade (STEVENSON, 1982; ROCHA *et al.* 1999), tamanho molecular (SWIFT, 1996; FRIMMEL *et al.*, 2003), densidade de carga (SENESI *et al.*, 1994), precipitações com íons metálicos e características de adsorção (SWIFT, 1985) têm sido utilizados para separar SH em diferentes frações.

A variação do pH é a forma mais utilizada para fracionamento das SH extraídas de solos por solventes alcalinos (STEVENSON, 1982). As frações obtidas são ácido húmico, solúvel em álcali e insolúvel em ácido (precipita em $\text{pH} < 2$); ácido fúlvico, solúvel em álcali e ácido e humina, fração insolúvel em todo intervalo de pH (HAYES, 1997). ROCHA *et al.*, (1998), propuseram um método para fracionamento de SH em ácidos húmicos e fúlvicos utilizando álcali em sistema de fluxo contínuo.

Solventes orgânicos, sais e íons metálicos têm sido utilizados para separar AH e AF em diferentes subfrações. Um exemplo do fracionamento das SH utilizando solvente orgânico é a obtenção do ácido himatomelânico (ODEN, 1919) a partir de tratamento do ácido húmico com etanol. As SH também podem ser fracionadas com acetona, metanol, metil iso-butilcetona e éter dietílico.

Eletrólitos influenciam o comportamento das macromoléculas húmicas (polieletrólito) devido alterações nas cargas. Aumentando a concentração de sais diminui-se a extensão da dupla camada aproximando-se mais da superfície da macromolécula podendo ocorrer precipitação. Ácido húmico redissolvido em base pode ser fracionado pela adição de sais, como cloreto de potássio (SPRINGER, 1938) ou sulfato de amônio precipitando o ácido

húmico “Gray” enquanto o ácido húmico “Brown” permanece em solução (THENG *et al.*, 1968).

SWIFT (1985) fracionou SH por precipitação com íons metálicos. Vários íons bivalentes e polivalentes são capazes de formar sais ou complexos insolúveis com SH causando a precipitação. Íons cobre foram muito utilizados para fracionamento de AF em ácidos “Apocrênico” e “Crênico”. Entretanto, o fracionamento das SH utilizando solventes orgânicos, sais e íons metálicos não têm tido muita aplicação, pois a maioria dos estudos tem sido feita com as três principais frações, ou seja, AH, AF e humina.

Existem diferentes métodos cromatográficos para fracionar as substâncias húmicas:

1) A cromatografia por permeação em gel

Tem sido bastante utilizada, (SWIFT, 1996). Os géis mais utilizados consistem de polissacarídeos, poliestireno e poliamidas na forma de pequenos grânulos. A estrutura do gel é permeada por poros com capacidade de agir como meio cromatográfico permitindo a separação com base nas diferenças de tamanho molecular. Moléculas menores podem penetrar nos poros e sua passagem na coluna é retardada. Assim, as moléculas são eluídas em ordem decrescente de massa molar.

A eletroforese é baseada no movimento de cargas de moléculas do soluto quando sob influencia de um campo elétrico. Em um experimento básico de eletroforese, a amostra de SH é dissolvida em tampão alcalino e colocada em suporte com superfície plana ou em pérolas de gel em sistemas por coluna. A migração ocorre em função inversa da massa molar e direta da densidade de carga. Geralmente, a eficiência do fracionamento pela eletroforese tradicional é inferior ao obtido com base na massa molar ou solubilidade (SENESI *et al.*, 1994).

2) Resinas de troca iônica

De acordo com SILVA *et al.*, (2000) muito utilizadas para fracionar SH de solo. Depois da adsorção das moléculas húmicas, o fracionamento pode ser obtido por eluição com soluções tampão, salinas e, se necessário, com reagentes alcalinos. Na prática, o fracionamento obtido não é satisfatório, provavelmente por causa do limite da área superficial da resina o qual limita a possibilidade de interação com os sítios carregados das macromoléculas húmicas. Como consequência, há perda de resolução no fracionamento.

3) Procedimentos baseados em adsorção

Em alumina, géis e, mais recentemente, resinas macroporosas XAD, têm sido utilizados para fracionamento de SH, especialmente ácidos fúlvicos (SWIFT, 1985). A dessorção pode ser feita por solventes orgânicos e reagentes ácidos ou básicos. O inconveniente é a forte adsorção de SH na resina sendo necessário utilizar reagentes que às vezes causam danos ao material da resina. Uma exceção é a resina XAD 8, a qual tem adsorção menor sendo de maior aplicabilidade tanto para fracionamento como para propriedades de purificação.

Ultracentrifugação utilizando gradiente de densidade ou técnica de centrifugação zonal também tem sido aplicada para fracionamento das SH. O procedimento é trabalhoso se comparado com cromatografia em gel e ultrafiltração. Além disso, a repulsão entre as cargas intermoleculares pela adição de eletrólito é essencial para fracionar as SH por técnicas de ultracentrifugação (REID, 1990).

2.1.5.2 – Fracionamentos das substâncias húmicas em função do tamanho molecular: ultrafiltração

A ultrafiltração é uma técnica simples e versátil que permite o fracionamento das SH utilizando uma série de membranas com diferentes tamanhos de poros. Unidades de ultrafiltração (UF) com fluxo tangencial

permitem filtração relativamente rápida devido ao reduzido processo de obstrução dos poros, pois os compostos acumulados na superfície da membrana são deslocados pelo forte fluxo cruzado (SPIVAKOV *et al.*, 1996). O fracionamento de substâncias húmicas por UF em filtros de membranas adequados é, em princípio, um método simples para estudar essa complexa mistura de macromoléculas. Assim, a caracterização de importantes propriedades físicas e químicas das SH dissolvidas tais como solubilidade, comportamento de adsorção, acidez, capacidade complexante com íons metálicos, distribuição de grupos funcionais/estruturas reativas e etc. pode ser feita em função da distribuição dos diferentes tamanhos moleculares (SWIFT, 1996).

Nos processos de separação utilizando-se a UF, além da obstrução dos poros e conseqüentemente maior tempo demandado, outros problemas analíticos podem ocorrer devido a fenômenos de contaminação e adsorção. Semelhantes fenômenos ocorrem em alguns sistemas de filtração em cascata devido a inerente utilização de tubos relativamente longos, muitas válvulas e conectores. Em princípio, essas dificuldades podem ser minimizadas utilizando-se sistemas de ultrafiltração seqüencial com múltiplos estágios.

É uma técnica recente, simples, rápida e de baixo custo, a qual em princípio, pode ser aplicada para investigar interações entre substâncias húmicas e diferentes íons metálicos, sendo dependente apenas dos limites de detecção das técnicas de determinação aplicadas (ROMÃO *et al.*, 2003). A técnica de ultrafiltração através de membranas com diferentes porosidades tem sido utilizada, em indústrias, hospitais p.e. hemofiltração, purificação de sucos, água (CASTRO *et al.*, 2006, BARROS *et al.*, 1999, GECKELER & VOLCHEK, 1996). Pode ser utilizada para separação seletiva de compostos orgânicos ou inorgânicos, material dissolvido ou particulado, em sistemas aquosos. As possibilidades de aplicações dessa técnica ainda

são pouco exploradas e o fracionamento pode ser feito em ordem ascendente ou descendente de tamanho molecular. Um inconveniente é a distribuição não completamente uniforme dos tamanhos dos poros nessas membranas e, nesse caso, o tamanho molecular pode não ser o esperado.

No caso de SH, os resultados das interações entre as cargas das macromoléculas húmicas e as das membranas podem interferir no processo de filtração o qual não será mais baseado somente no tamanho molecular (SENESI *et al.*, 1994).

2.1.6 – Capacidade de complexação

Qualquer modelo completo de especiação química deverá ser capaz de distinguir as formas do íon metálico livre das formas complexadas. Na maioria dos casos, a concentração do íon metálico livre é determinada e em seguida estimada a concentração do metal complexado (PERDUE, 1998).

2.1.6.1 - Técnicas utilizadas para determinar a capacidade de complexação

A escolha de um método para especiação química influencia os resultados encontrados, pois as várias técnicas medem aspectos diferentes do sistema e operam sob condições diferentes. Segundo ROCHA & ROSA (2003), fatores como concentração das SH e espécies metálicas, pH, concentração iônica e temperatura influenciam os

parâmetros de complexação das substâncias húmicas e metais. Os processos de complexação das SH dependem de sua origem, características estruturais e do procedimento utilizado em sua extração.

Diversas técnicas têm sido utilizadas para o estudo de complexação de metais por SH, dentre as quais pode-se citar a voltametria, potenciometria (BUFFLE, *et al.*, 1990; ABATE & MASINI, 1999; ROMÃO *et al.*, 2003); ultrafiltração (ROCHA *et al.* 2002) e cromatografia (BUFFLE, 1990).

Todas estas técnicas possuem vantagens e limitações (NIFANTEVA *et al.*, 1999; TUSCHALL & BREZONIK, 1983; THURMAN, 1985). As principais técnicas de separação são as eletroanalíticas, destacando-se as potenciométricas e voltamétricas. Nas voltamétricas é medida a corrente gerada na interface eletrodo/solução, enquanto nas potenciométricas a corrente é aproximadamente zero (BUFFLE, 1990). Na técnica potenciométrica, utiliza-se eletrodos de membranas mais conhecidos como eletrodo íon seletivo (EIS), mais utilizada na determinação da capacidade complexante de SH. É simples, rápida e de fácil operação, além de determinar a atividade dos íons em solução, não existe ambigüidade na medida da concentração das espécies (NIFANTEVA *et al.*, 1999).

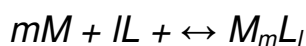
A grande limitação da potenciometria é a existência de poucos eletrodos seletivos disponíveis comercialmente (p.e. Cu, Cd, Pb, Ca) (THURMAN, 1985), sendo necessária a busca de técnicas alternativas, as quais possam ser utilizadas no estudo da capacidade de complexação para outras espécies metálicas de importância ambiental.

2.1.6.2 – Determinação da capacidade de complexação por ultrafiltração

A técnica de ultrafiltração com fluxo tangencial é uma técnica recente, simples, rápida e baixo custo. O procedimento de ultrafiltração para especiação de metais baseia-se na separação das SH, de espécies metálicas livres/complexadas através de membrana de 1 kDa. Como as SH possuem tamanhos moleculares maiores que 1 kDa, estas são retidas pela membrana, enquanto espécies metálicas livres são filtradas. Este procedimento possibilita separar metais complexados dos livres, estudar diferentes espécies metálicas simultaneamente e caracterizar parâmetros de complexação como capacidade complexante, constantes de troca e estabilidade de espécies metálicas por substâncias húmicas (ROCHA *et al.*, 2002; ROMÃO *et al.*, 2003).

Para o estudo de reações de complexação de substâncias húmicas têm sido utilizados modelos matemáticos, os quais são baseados nas propriedades físicas das SH. Todos os modelos de complexação de metal por SH são empíricos haja vista a complexidade do sistema. Logo, um modelo deve descrever a interação do metal em função da concentração de SH, do pH e concentração iônica (PERDUE, 1998).

A expressão de equilíbrio que descreve uma reação de complexação de M por um sítio de ligação simples de um ligante L é



$$K = \frac{[M_mL_l]}{[M]^m [L]^l}$$

Onde os termos M , L e ML representam as concentrações do íon metálico livre, ligante e do complexo, respectivamente.

Muitos dados de complexação encontrados na literatura foram obtidos tratando os sítios complexantes como ligantes dissolvidos em uma solução, não considerando a existência de interações entre os sítios e negligenciando a influência da carga elétrica da molécula na reação de complexação (ANTONELLI *et al.*, 2001; SOARES & VASCONCELOS *et al.*, 1994; TOWN & POWELL *et al.*, 1993; ABATE & MASINI, *et al.*, 1999).

Métodos gráficos que utilizam modelos de ligantes discretos, são utilizados para avaliar e modelar sistemas e determinar o valor de k e $[L]$ para os complexos formados entre metais e diversos ligantes. Dentre estes, os mais discutidos na literatura estão Scatchard (1957) e Ruzic (1980), os quais utilizam linearizações para o modelo de formação de complexo 1:1, considerando um número finito de diferentes sítios complexantes nas SH e inexistência de interações entre esses sítios (PARMEGGIANI & MASINI, 2003).

2.1.7 – Cobre

Em geral, o cobre forma complexos mais estáveis com diferentes ligantes de ocorrência natural que os outros metais. Logo, tem sido mais utilizado para obter informações sobre a capacidade complexante de diferentes ligantes orgânicos, tais como as substâncias húmicas (ROSA, 1998).

É elemento essencial para toda a biota, sendo identificado em plantas e animais no século XIX e como catalisador biológico no século XX.

Estudos nutricionais demonstram que o cobre é necessário para o ótimo desenvolvimento de plantas e animais (WHO, 1998). É utilizado como co-fator de diversas enzimas celulares como catalase, citocromoxidase, hidroxilases e peroxidases. Entretanto, em concentrações excessivas o cobre pode causar toxicidade (CAMARGO, 2000).

Na literatura estão citados vários casos de exposição aguda (WHO, 1998; BARCELOUX, 1999). A toxicidade aguda decorrente da ingestão de cobre não é freqüente em seres humanos e geralmente relacionada à ingestão acidental ou intencional e a contaminação de bebidas.

No ambiente o cobre encontra-se nos estados de oxidação Cu^{2+} e Cu^+ dependendo das condições físicas e químicas do meio. Em águas naturais, cobre é encontrado preferencialmente adsorvido a partículas em suspensão ou complexado com ligantes. Os ligantes inorgânicos de maior importância são hidróxidos, carbonatos, e em águas salgadas cloretos. Entretanto, a maior concentração de cobre está associada a ligantes orgânicos, como as substâncias húmicas.

A maior parte do cobre depositada no solo está fortemente adsorvida aos primeiros centímetros e é oriunda da deposição atmosférica, aplicação agrícola e disposição de resíduos sólidos. Sua movimentação é determinada pelas suas interações físico-químicas com os componentes do solo. Em geral, liga-se a matéria orgânica, carbonatos, argila, e óxidos de ferro ou manganês. Quando a quantidade de matéria orgânica no solo é baixa, a concentração de minerais de ferro ou alumínio torna-se importante na adsorção de cobre.

2.2 – OBJETIVOS

- Fracionar as substâncias húmicas extraídas de amostras de solos da Região do Rio Aracá-Am em função do tamanho molecular utilizando sistema de ultrafiltração seqüencial em fluxo tangencial.
- Determinar a capacidade de complexação (CC) de substâncias húmicas extraídas de solos da Bacia do Médio Rio Negro e a CC de SH de solo da Região do Rio Aracá-AM com íons cobre.
- Determinar a capacidade complexante das substâncias húmicas com íons cobre nas frações com diferentes tamanhos moleculares.
- Correlacionar o teor de carbono nas diferentes frações com a capacidade complexante das macromoléculas húmicas.
- Correlacionar o teor de Al e Fe nas diferentes frações com a capacidade complexante das macromoléculas húmicas

2.3 – EXPERIMENTAL

2.3.1 – Materiais

2.3.1.1 – Equipamentos

- ✓ agitador magnético multi-pontos Variomag Telesystem;

- ✓ balança analítica Mettler, mod. H10, mecânica de precisão 0,1 mg;
- ✓ balança Denver Instrument Company 400XE séries, eletrônica, prato externo, precisão 0,01g e capacidade máxima 400g;
- ✓ chapa aquecedora Fanem;
- ✓ equipamento para análise elementar Thermo Fingman;
- ✓ estufa com renovação de ar SOC FAB, modelo 305/5;
- ✓ mufla EDGCON 5P;
- ✓ sistema purificador de água Millipore – Modelo Milli-Qplus;
- ✓ vidraria comum a um laboratório de Química Analítica;
- ✓ sistema de filtração à vácuo acoplado a bomba de vácuo marca Primar, modelo 141, utilizando-se papel de filtro 0,45 μm ;
- ✓ sistema de fracionamento seqüencial por ultrafiltração com fluxo tangencial, equipado com membranas comerciais Sartorius de 100, 50, 30, 10 e 5 kDa;
- ✓ sistema de ultrafiltração com fluxo tangencial de um estágio, equipado com membrana Gelman Pall-Filtron OMEGA de 1 kDa;
- ✓ evaporador rotativo Tecnal modelo TE120, equipado com sistema de alto vácuo Edwards, modelo Speedivac-2;
- ✓ bomba peristáltica de cinco canais Ismatec modelo MC-MS/CA;
- ✓ centrífuga Baby 206 com capacidade de até 3000 g.

2.3.2 – Métodos

2.3.2.1 - Extração das substâncias húmicas

As substâncias húmicas foram extraídas conforme procedimento recomendado pela *International Humic Substances Society-IHSS* (CLAPP *et al.* (1993); WERSHAW *et al.* (1990). Transferiram-se 500,0 g de amostra de solo seco para frasco de extração de 8,0 L, adicionaram-se 5,0 L de solução de HCl 0,10 mol L⁻¹ e ajustou-se o pH em 1,5 com HCl 1,0 mol L⁻¹. Deixou-se a mistura HCl/solo sob agitação por 1h e em seguida fez-se centrifugação o sobrenadante do resíduo. Ajustou-se o pH do resíduo em 7,0 com solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹ e adicionaram-se 5,0 L de solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹. Deixou-se a mistura sob agitação mecânica por 4h em atmosfera de nitrogênio (Figura 2.5). Separou-se o sobrenadante (SH) do resíduo (Humina) por centrifugação a 1478 g por 10 minutos. Ajustou-se o pH em 5,0 (pH original do solo).



Figura 2.5 – Sistema extrator por batelada utilizado na extração de substâncias húmicas de solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM e da região do Rio Aracá-AM.

2.3.2.2 – Purificação das substâncias húmicas.

Impurezas inorgânicas (p.e. sais, espécies metálicas etc.) e orgânicas (p.e. carboidratos, proteínas, lipídeos etc.) geralmente estão presentes nas SH extraídas de amostras de solos. Para esses contaminantes não influenciarem nos resultados referentes às propriedades e características das SH necessita-se da prévia purificação do material. Neste sentido realizou-se experimentos de diálise.

2.3.2.3 – Preparação das membranas de diálise

As membranas de diálise (SAMLESS CELL 16 X 100 CLEAR) foram tratadas durante 10 minutos com soluções de NaHCO_3 2 % (m v^{-1}) e Na_2EDTA ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$), lavadas com água ($65 \text{ }^\circ\text{C}$) e estocadas a $-6 \text{ }^\circ\text{C}$, de acordo com TOWN *et al.*, 1992.

2.3.2.4 - Diálise das substâncias húmicas

As SH de solos foram transferidas para as membranas de diálise purificadas e em um béquer, fez-se a imersão em água deionizada, como ilustra a Figura 2.6. Mergulhou-se o eletrodo de um condutímetro deixando sob agitação magnética. Substituíam-se a água do sistema quando a condutividade estabilizava, até que a condutividade do sistema fosse igual a condutividade da água desionizada usada inicialmente, $2,86 \mu\text{s cm}^{-1}$. Em seguida calculou-se o rendimento transferindo-se as SHS para placas de Petri previamente taradas e secou-se em estufa com renovação de ar a $55 \text{ }^\circ\text{C}$ até peso constante.



Figura 2.6 - Purificação de substâncias húmicas extraídas de solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM e região do Rio Aracá-AM.

2.3.2.5 – Fracionamento seqüencial das substâncias húmicas de solo

As substâncias húmicas extraídas de amostras de solos da Região do Rio Aracá-AM, foram fracionadas em sistema de fracionamento seqüencial de ultrafiltração (SFSUF) como ilustram as Figuras 2.7 e 2.8.

De acordo com a Figura 2.7, quando as frações do SFSUF são aspiradas dos reservatórios R_1 - R_5 , pela bomba peristáltica (com cinco canais), a pressão do sistema é controlada com o ajuste dos reguladores de pressão P_1 - P_5 , conectados nos respectivos tubos de retorno do material não filtrado.

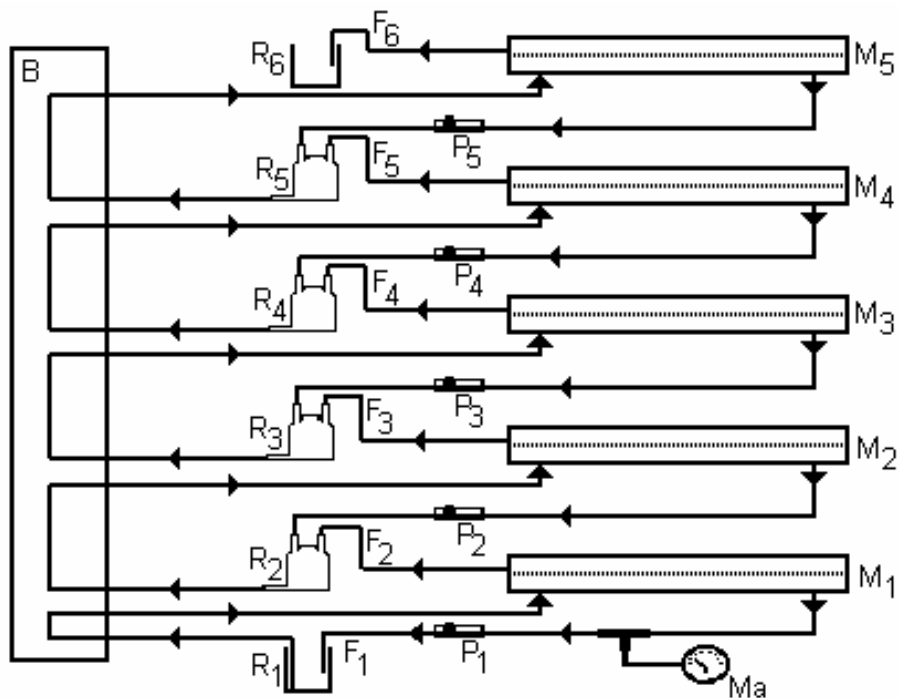


Figura 2.7 - Esquema do sistema de fracionamento seqüencial por ultrafiltração para substâncias húmicas extraídas de solos da região do Rio Aracá-AM. Condições: filtros equipados com membranas comerciais (Sartorius), com 50 cm² **M₁**: 100, **M₂**: 50, **M₃**: 30, **M₄**: 10 e **M₅**: 5 kDa; frações obtidas e respectivos intervalos de tamanhos moleculares médios de **F₁** (>100), **F₂**: (100 - 50), **F₃**: (50 - 30), **F₄**: (30 - 10), **F₅**: (10 - 5) e **F₆**: (< 5 kDa); **B**: bomba peristáltica de 5 canais com tubos de bombeamento de Tygon[®]; **R₂** a **R₅** (25 mL), **R₁** (250 mL) e **R₆** (500 mL): reservatórios de frações; **P₁** a **P₅**: reguladores de pressão; **Ma**: manômetro; 250 mL de solução de substâncias húmicas 1,0 mg mL⁻¹ em pH 5,0; fluxo tangencial com vazão de 85 mL min⁻¹ em todos os filtros; pressão inicial de 0,2-0,3 bar; fluxo de permeação através das membranas 0,8-1,4 mL min⁻¹; limpeza do sistema com 200 mL de água.

A Figura 2.8 ilustra um reservatório para coleta das frações construído em vidro de borossilicato e suas respectivas dimensões. A solução de SH entra pelo ponto (1) e é aspirado pelo ponto (2) o qual está conectado a um dos filtros de membrana (M) do sistema ilustrado na Figura 2.7. Com fluxo no interior do filtro tangencial sobre a membrana. Essa circulação contínua evita o entupimento da membrana, concentra o material não filtrado no reservatório e fraciona o extrato húmico em diferentes tamanhos moleculares. O reservatório R₁ (Figura 2.7), no qual concentra a fração F₁, é

o próprio frasco da solução de SH a qual está sendo fracionada. Por outro lado, R₆ é um frasco com cerca de 400 mL para coletar a fração F₆. Esta, é composta pelo volume inicial do extrato a ser fracionado mais cerca de 200 mL de água que após fracionamento da amostra, são aspirados através de todo o SFSUF para limpeza preliminar do sistema e recolhidos em R₆.

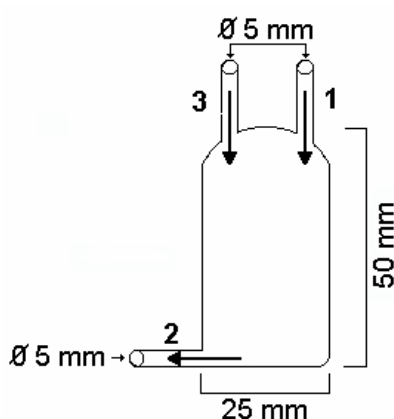


Figura 2.8 - Reservatório com volume interno de 25 mL, para coletas das frações durante o fracionamento dos extratos húmicos utilizando-se o sistema de fracionamento seqüencial por ultrafiltração. **1**: entrada do filtrado húmico; **2**: aspiração do filtrado húmico para o próximo filtro de membrana com fluxo tangencial; **3**: retorno para circulação do material não filtrado no próximo filtro.

2.3.2.6 – Determinação de capacidade de complexação das substâncias húmicas

Para o estudo de complexação entre íons cobre e as substâncias húmicas, utilizou-se o procedimento analítico proposto por BURBA *et al.* (2001) ilustrado na Figura 2.9. Este procedimento baseia-se na utilização de um sistema de ultrafiltração tangencial (Sartorius Ultrasart X), equipado com membrana de membrana de 1 kDa (Gelman Pall-Filtron OMEGA,) a qual impede a passagem das SH e dos complexos SH/metais com tamanho molecular maior que 1 kDa. Logo, os íons metálicos livres não complexados às SH ou trocados por elas passam através da membrana BURBA *et al.* (2001).

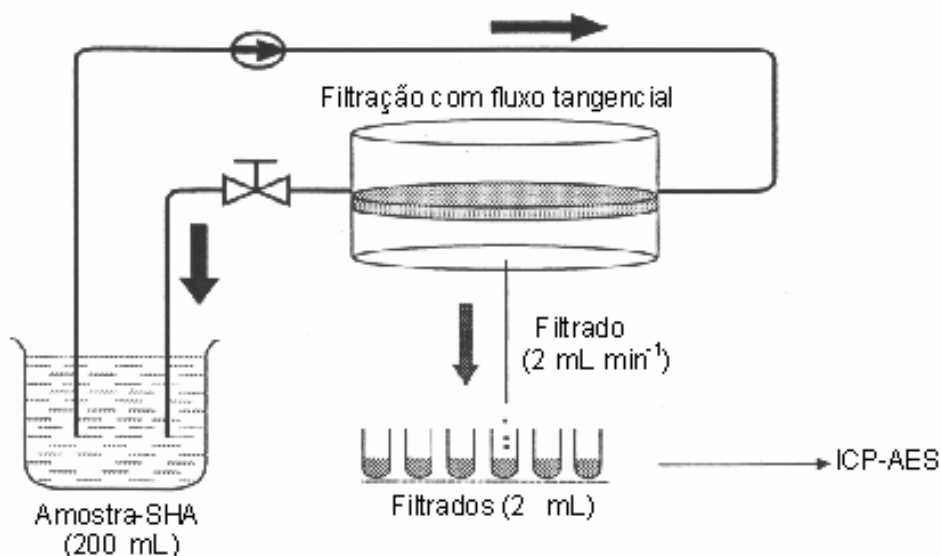


Figura 2.9 – Esquema do procedimento analítico utilizado para determinação da capacidade de complexação das frações de substâncias húmicas extraídas de amostras de solos da região do Rio Aracá-AM por íons Cu(II). Condições: sistema de ultrafiltração (Sartorius Ultrasart X), equipado com membrana de porosidade de 1 kDa e 47 mm de diâmetro (polyethersulfone, Gelman Pall-Filtron OMEGA).

2.3.2.7 - Determinação do carbono orgânico total (COT)

As concentrações de carbono foram determinadas utilizando-se o método de combustão catalítica sob atmosfera de oxigênio em equipamento Shimadzu TOC-5000 Analyzer.

¹³C 2.3.2.8 - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros das amostras de SHS foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro INOVA Varian-300 de 75,42 MHz para ¹³C, em frequência de rotação de 4500 Hz, pulso de $\pi/2$ e tempo de aquisição de 6 ms. Os espectros foram obtidos à temperatura ambiente e os

deslocamentos químicos registrados δ (ppm) a partir do deslocamento químico de tetrametilsilano (TMS) utilizado como referência externa.

2.4 - RESULTADOS e DISCUSSÃO

2.4.1 – Distribuição de carbono em função da massa molar das substâncias húmicas de solo

Na Tabela 2.6 apresenta-se os pontos de amostragem da região do Rio Aracá-AM e suas respectivas localizações, as quais foram fracionadas e determinadas teor de carbono orgânico total (COT).

Tabela 2.6 - Pontos de amostragem e suas respectivas coordenadas geográficas obtidas por G. P. S.:

Pontos de amostragem	Localização
Ralf	N (00, 15', 818'') W (63, 14', 658'')
Ralf 1	N (00, 16', 505'') W (63, 15', 185'')
Ralf 2:	N (00, 19', 120'') W (63, 16', 150'')
Adm:	N (00, 17', 436'') W (63, 16', 157'')

O fracionamento das substâncias húmicas extraídas de amostras de solos da Região do Rio Aracá-AM, possibilitou a obtenção de seis frações F₁-F₆, nos respectivos tamanhos moleculares (>100, 100-50, 50-30, 30-10, 10-5, <5 kDa). Após o fracionamento, foram feitas determinações de carbono orgânico total (COT) em todas as frações.

Os perfis de distribuição de carbono nas quatro amostras fracionadas apresentaram comportamento similar, optou-se por apresentar graficamente os dados de carbono orgânico total das frações da amostra Adm, nas

respectivas profundidades de coleta: 0 -10 cm, 10-20 cm, 20-40 cm, 40-60 cm, 4 metros marrom (4mm) e 4 metros preto (4mp).

Na Figura 2.10 apresenta-se a distribuição de COT nas respectivas frações de diferentes tamanhos moleculares da amostra Adm ao longo de todo perfil.

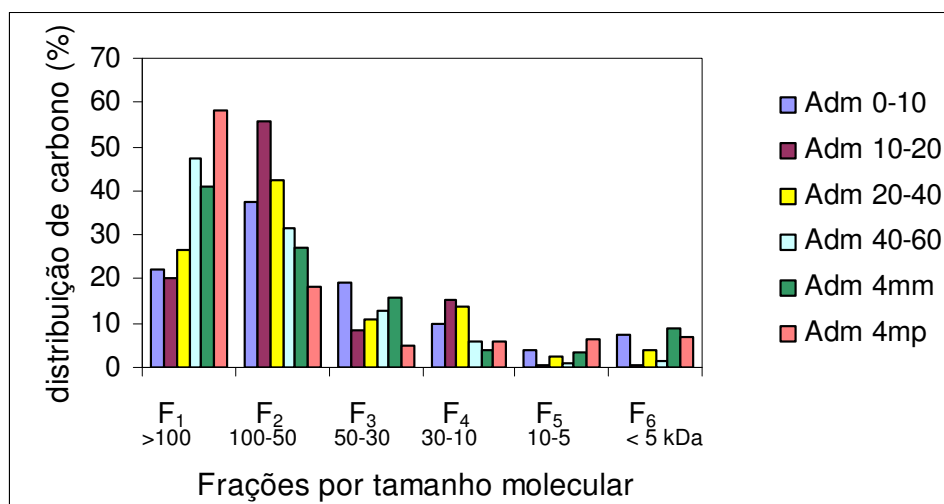


Figura 2.10 – Distribuição de carbono nas frações com diferentes tamanhos moleculares de substâncias húmicas extraídas de amostras de solo coletada na região do Rio Aracá-AM.

Através dos resultados apresentados na Figura 2.10 verifica-se que em todo o perfil das amostras Adm (0 - 4m) 71,31% do carbono orgânico total está presente nas frações de maiores massas molares F₁ e F₂. Esses resultados permitem estabelecer a seguinte ordem decrescente de distribuição média de carbono orgânico total: F₂ > F₁ > F₃ > F₄ > F₆ > F₅.

Nas quatro amostras (Ralf, Ralf 1, Ralf 2 e Adm) foram determinados maiores teores de ácidos húmicos que ácidos fúlvicos: provavelmente as frações F₅ e F₆ apresentam maiores teores de ácidos fúlvicos.

Cameron *et al.* 1972 fracionaram substâncias húmicas extraídas de amostras de solo por filtração em gel e determinaram a massa molar utilizando ultracentrifugação e observaram que frações com tamanho

molecular 100 kDa têm maior concentração de carbono orgânico total, corroborando com os resultados deste trabalho.

Por outro lado, ROCHA *et al.*, (1999) encontraram maiores distribuições de carbono orgânico nas frações de menor tamanho molecular ($F_6 < 5$ kDa) em SH aquática do Rio Negro-AM, substâncias húmicas aquáticas apresentam maiores concentrações de ácidos fúlvicos, portanto com massa molar em torno de 5kDa. Nas frações de SH de solos estudadas neste trabalho a fração F_6 apresentou os menores valores de distribuição de carbono, sendo que SH de solos apresentam maiores teores de ácidos húmicos, portanto com massa molar em torno de 100 kDa.

2.4.2 - Capacidade de complexação das substâncias húmicas

A capacidade de complexação das SH é convencionalmente expressa em mmol de Cu(II) g^{-1} COT (Carbono Orgânico Total) e caracteriza a máxima quantidade de metais livres, os quais podem ser complexados às SH em solução aquosa.

Os resultados apresentados no Capítulo 1, verifica-se que a maior parte da matéria orgânica presente no solo se encontra na camada superficial, entre 0-10 cm de profundidade, Assim experimentos envolvendo a capacidade de complexação foram feitos com substâncias húmicas extraídas de amostras de superfície de solos.

Na Figura 2.11 exemplifica-se uma curva típica de titulação de solução de SH de solos extraídos (Adm 0-10 cm) por íons Cu(II). A capacidade de complexação foi obtida pelo gráfico de metal livre (mmol L^{-1}) em função de metal total adicionado (mmol L^{-1}).

A CC foi obtida pela interseção das duas porções lineares das curvas, as quais correspondem a presença de íons metálicos livres na solução (TUSCHALL, 1983; MORRISON, 1989).

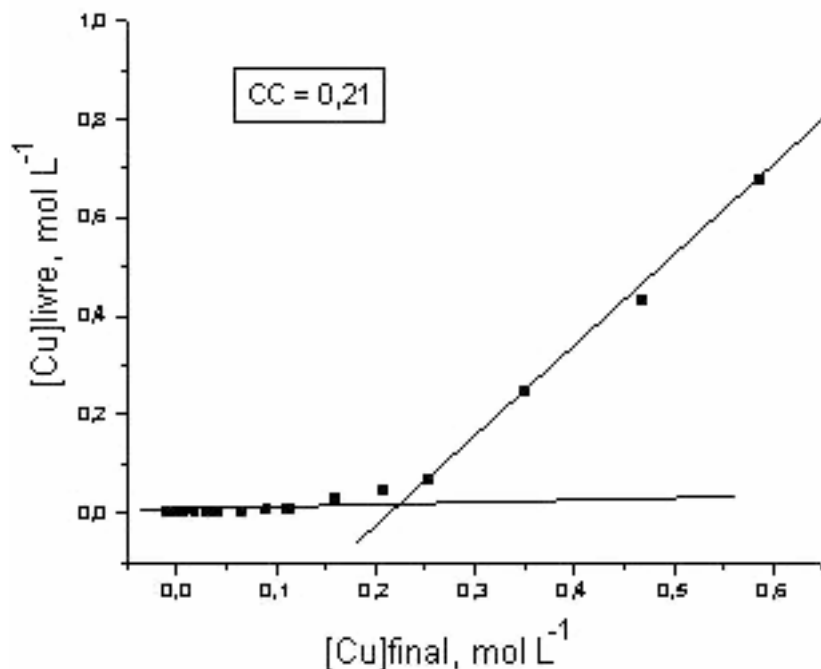


Figura 2.11 – Curva da capacidade de complexação de substâncias húmicas extraídas de amostra de solo da região do Rio Aracá-AM por íons Cu(II). Condições: amostra Adm 0-10cm; concentração de SH 30 mg L⁻¹; pH = 5,0 – 6,0, CC = 0,21.

2.4.2.1 – Influência do tipo de solo na capacidade de complexação de íons Cu(II) pelas substâncias húmicas extraídas.

A Tabela 2.7 apresenta os resultados dos parâmetros determinados em amostras de substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM e da região do Rio Aracá-AM coletadas à superfície (0 - 10 cm).

A CC para o solo da região do Rio Aracá é de 0,21 mmol Cu(II) g⁻¹ COT. ANTONELLI *et al.*, (2001), caracterizando amostras de ácidos

húmicos extraídos de sedimentos de regiões temperadas da Europa, encontraram valores de CC cerca de 0,5 mmol de Cu(II) g COT⁻¹ independentemente da massa molar das SH. Entretanto ROMÃO *et al.* (2003) e ABATE & MASINI (1999) estudando SH extraídas de amostras de água de diferentes regiões do Brasil, encontraram valores de CC em torno de 1,3 mmol de Cu(II) por g COT⁻¹. Geralmente a capacidade de complexação de SH extraídas de solos é maior que aquelas encontradas em SH extraídas de sedimentos e águas. Isto não foi caracterizado nos dados deste trabalho, pois os solos da região em estudo apresentam CC distintas dos citados na literatura.

Tabela 2.7 - Substâncias húmicas extraídas de solos de diferentes locais da Bacia do Médio Rio Negro-AM e Região do Rio Aracá-AM.

Amostra	Localização	Matéria orgânica (%)	CC	Al (mg kg ⁻¹)	Fe (mg kg ⁻¹)
Araçá ^b	S 01° 14' 000" W 61° 50' 000"	14,4	1,81	2,2	4,2
Carvoeiro 1 ^b	S 01° 23' 615" W 61° 58' 776"	9,37	2,58	1,0	2,9
Carvoeiro 3 ^a	S 01° 23' 615" W 61° 58' 776"	10,1	2,36	1,0	4,5
Tucandera ^b	S 01 02' 908" W 62 48' 562"	11,73	3,44	1,1	4,6
Aracá ^b	N 00 17' 436" W 63 16' 157"	8,51	0,21	7,82	0,84

^a região alagável, de águas escuras

^b região não alagável

Geralmente o teor de matéria orgânica (MO) está associado a CC das SH por íons Cu(II). Entretanto neste trabalho não encontrou-se correlação entre o teor de MO e a CC. Como pode ser observado na Tabela 2.7, os

diferentes pontos de coleta de solos da Região do Médio Rio Negro apresentam valores muito próximos de porcentagens de MO.

Comparando-se os resultados da CC para as SH extraídas dos diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM, verifica-se que as amostras apresentam elevada CC para íons cobre ($3,44 - 1,81$ mmol de Cu(II) g COT^{-1}), exceto na Região do Rio Aracá onde determinou-se CC de $0,21$ mmol de Cu(II) g $^{-1}$ COT.

De acordo com SIMPSON *et al.*, (2002) íons metálicos exercem uma importante função para estabilidade, formação de agregados e até mesmo na constituição das SH de solos.

O alumínio é bastante lábil em ambientes ácidos, podendo as águas intersticiais do solo e principalmente as de superfície conter altos teores deste metal. O Al faz forte ligação sob qualquer circunstância, principalmente em pH 5-6. Esta forte ligação influencia a rede de carga das substâncias húmicas e conseqüentemente, a competição entre metais, diminuindo a atração eletrostática da superfície das SH de solo. Segundo STERN (1924) devido a atração eletrostática entre o contraíon (cátion) e a superfície carregada negativamente, forma-se uma camada compacta próximo à superfície. Posteriormente, um segundo contraíon (ânion) é atraído pelo cátion formando uma segunda camada difusa causando alteração no potencial elétrico da superfície. De acordo com BOLT (1955) a dupla camada causa alteração na constante dielétrica e o aumento da espessura da dupla camada diminui o potencial da superfície.

Na Figura 2.12 ilustra-se a correlação ($r = 0,84$) entre a CC de SH extraídas de solos por íons Cu(II) em função da concentração de Al determinadas nas respectivas amostras de solos. Encontrando-se uma regressão linear para o alumínio das amostras de solo citadas na Tabela 2.7.

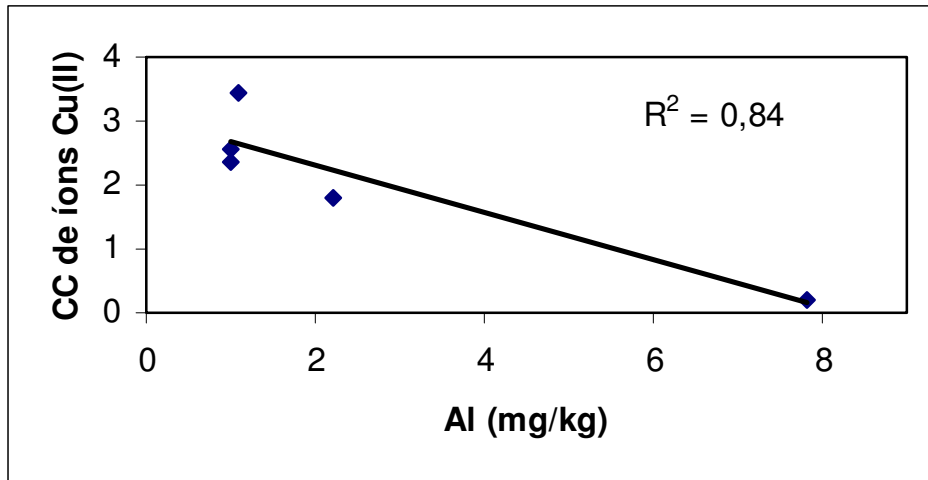


Figura 2.12 – Correlação entre a capacidade de complexação de substâncias húmicas por íons Cu(II) em função da concentração de Al nos respectivos solos de diferentes locais da Bacia do Médio Rio Negro–AM e Região do Rio Aracá-AM.

Na Figura 2.13 ilustra-se a correlação ($r = 0,68$) entre a CC de SH extraídas de solos por íons Cu(II) em função da concentração de Fe determinadas nas respectivas amostras de solos. Encontrando-se uma regressão linear para o ferro das amostras de solo citadas na Tabela 2.7.

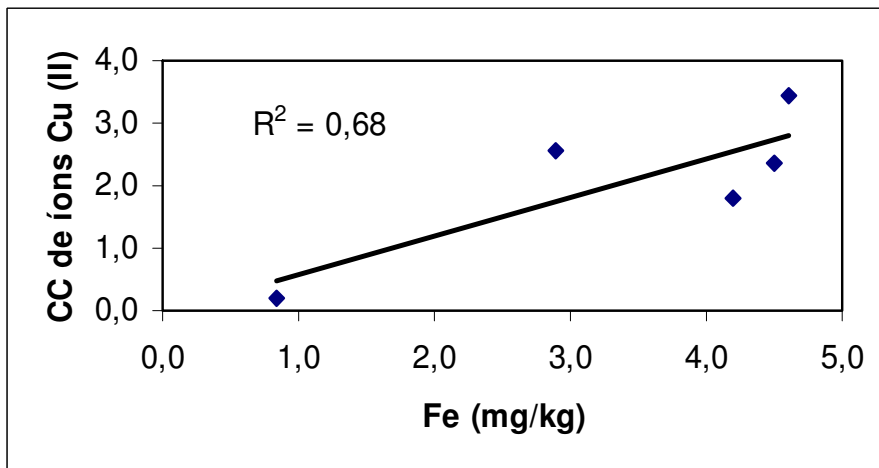


Figura 2.13 – Correlação entre a capacidade de complexação de substâncias húmicas por íons Cu(II) em função da concentração de Fe nos respectivos solos de diferentes locais da Bacia do Médio Rio Negro–AM e Região do Rio Aracá-AM.

Ligações com espécies metálicas, principalmente como o Al neutralizam as cargas das SH reduzindo repulsão intramolecular, de acordo com SWIFT o raio da SH pode diminuir até menos da metade que o valor em solução, implicando numa diferença considerável ordem de grandeza. Mudanças na conformação em virtude do contato com cátions têm sido mencionadas.

2.4.2.3 – Capacidade de complexação das substâncias húmicas por íons cobre nas frações de diferentes massa molar

Para melhor compreender a CC das SHS por íons Cu(II) experimentos foram feitos em cada uma das frações em função do tamanho molecular. Dentre as amostras de superfície coletadas nas margens do Rio Aracá optou-se por trabalhar as amostras (Adm 0-10 e Adm 10-20) de SH. Dentre as amostras da região do Rio Aracá-AM (Tabela 2.6) foram as que apresentaram concentrações de matéria orgânica mais elevada.

Tabela 2.8 – Capacidade de complexação de frações de substâncias húmicas extraídas de amostras de solos da Região do Rio Aracá-AM por íons Cu(II)

Amostras	Intervalo de massa molar	Capacidade de complexação ^a
Adm 0-10 (F ₁)	>100 kDa	0,12
Adm 0-10 (F ₂)	100-50 kDa	0,21
Adm 0-10 (F ₃)	50-30 kDa	0,05
Adm 0-10 (F ₄)	30-10 kDa	0,13
Adm 0-10 (F ₅)	10-5 kDa	0,04
Adm 0-10 (F ₆)	< 5 kDa	0,23
Adm 10-20 (F ₁)	>100 kDa	0,10
Adm 10-20 (F ₂)	100-50 kDa	0,12
Adm 10-20 (F ₃)	50-30 kDa	0,07
Adm 10-20 (F ₄)	30-10 kDa	0,07
Adm 10-20 (F ₅)	10-5 kDa	0,05
Adm 10-20 (F ₆)	< 5 kDa	0,14

^aobtida pela interseção das seções lineares da curva $[Cu]_{livre}=f([Cu]_{total})$

Como ilustra a Figura 2.11.

A CC das SH extraídas de solos da região do Aracá-AM (Tabela 2.7) foi de 0,21 em concordância com a CC da fração F₂ da mesma região, o mesmo comportamento foi observado outras amostras (Adm 10-20cm) indicando que a fração de massa molar compreendida entre 100-50kDa é a principal responsável pela CC das substâncias húmicas estudadas.

Embora trabalhando com SH aquáticas da região do Rio Negro-AM, SARGENTINI (1999) também observou que as frações com maiores capacidade de complexação por íons cobre, foram aquelas com maior massa molar (F_1 , >100 kDa e F_2 , 100-50 kDa).

Ácidos húmicos apresentam uma estrutura mais complexa que os ácidos fúlvicos, ampliando as possibilidades de forma e tamanho das substâncias húmicas, conseqüentemente apresenta maior grau de complexidade estrutural. De acordo com SWIFT (1989) os ácidos húmicos são polímeros lineares como uma “fita” enovelada que podem expandir ou contrair. As SH são como um gel, pois apresentam solventes retidos através de sua estrutura. CAMERON (1972) observou que pequenas frações de AH apresentam comportamento semelhante ao de esferas solvatadas, apresentando 30-70% de água. Dados físicos sugerem que os ácidos fúlvicos são aproximadamente esféricos. Por outro lado AH com massa molar maior que 50 kDa tendem a uma estrutura mais aberta, com uma grande quantidade de solvente associado, causando variação na carga de superfície em função do tamanho molecular, como pode ser observado na Tabela 2.8.

De acordo com a Tabela 2.8, pode-se observar maior capacidade complexante das SH nas frações F_6 , em função da maior área superficial dessas moléculas nestas frações. Pois de acordo com Chiou *et al.* (1990) observou-se que ácidos húmicos com massa molar 50 kDa apresenta área de superfície de $2000 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ e com massa molar 16 kDa o valor passa a ser $5000 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$, ou seja, 2,5 vezes maior. Podendo ser o aumento da área de superfície um dos fatores a contribuir para o aumento da CC para a fração F_6 observada.

2.4.2.2 – Influência dos diferentes grupos funcionais na capacidade de complexação de substâncias húmicas de solos por Cu(II).

Enquanto não se conhecer mais sobre a estrutura das SH, muitas das importantes funções exercidas pelas SH de solos, como seus efeitos na estrutura dos solos, complexação com metais, adsorção de pesticidas, irão permanecer obscuras. Com objetivo de verificar a influencia dos grupos funcionais nas SH de solos estudadas para a CC por íons cobre realizou-se estudos de espectroscopia de ressonância magnética nuclear ^{13}C .

As SH apresentam ampla variedade de grupos funcionais, como COOH, fenólicos OH, enólicos OH, quinonas, hidroquinonas, lactonas, éteres, álcoois OH. Conforme a Tabela 2.2 (pág. 41) os elementos C e O são majoritários na composição elementar media das SH e os ácidos fúlvicos apresentam menor teor de carbono, porém maior de oxigênio.

Na Figura 2.14 observa-se a correlação das capacidades de complexação de SH por íons Cu(II) com as porcentagens dos diferentes grupos funcionais, determinados por RMN ^{13}C e não se observaram boas correlações entre as porcentagens de grupos funcionais e a CC por Cu(II) das SH.

Pode-se inferir que embora os grupos funcionais influenciem na capacidade de complexação das substâncias húmicas, a conformação estrutural pode estar exercendo maior influencia nos processos de complexação.

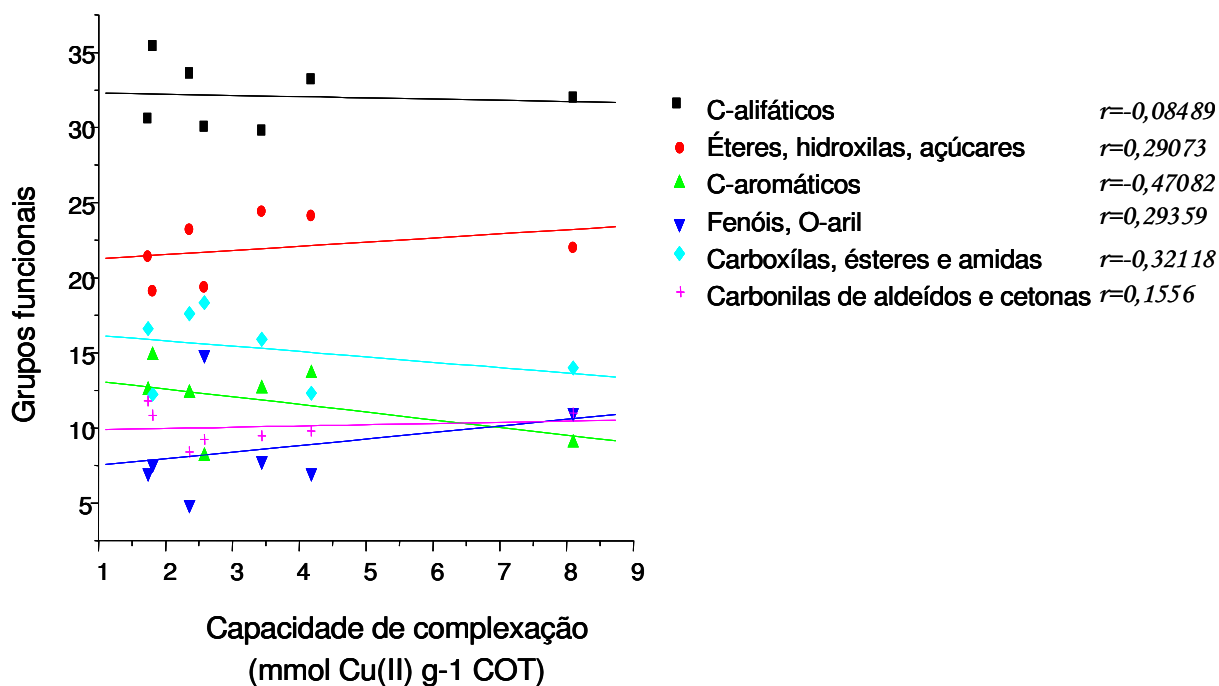


Figura 2.14 – Correlações entre as porcentagens de diferentes grupos funcionais e capacidades de complexação pelas SH de solos de diferentes locais da Bacia do Médio Rio Negro – AM região do Rio Aracá-AM.

2.5 – CONCLUSÕES

Com base nos estudos realizados pode-se estabelecer a seguinte ordem decrescente de distribuição de carbono nas diferentes frações: $F_2 > F_1 > F_3 > F_4 > F_5 \approx F_6$.

A maior parte do carbono orgânico (73%) encontrado nas SHS está presente nas frações F_2 e F_1 , com massa molar em torno de 100 kDa.

A capacidade de complexação das substâncias húmicas por íons Cu(II) de amostras extraídas de superfície (0-10cm) da Região do Rio Aracá-AM apresentaram os menores valores (0,21), comparadas com amostras da Bacia do Médio Rio Negro (1,81 - 3,44).

As frações F_2 e F_6 apresentam maiores valores CC para íons Cu(II). Embora a F_6 apresenta elevada CC para íons Cu(II), a distribuição de carbono mostra que F_6 constitui uma pequena parte da SH de solo.

A fração F_2 é a principal responsável pelos valores obtidos para capacidade de complexação das substâncias húmicas por íons cobre.

A correlação do teor de alumínio ($r = 0,84$) com as capacidades de complexação (CC) das substâncias húmicas por íons Cu(II), indica elevada influência do alumínio na superfície de carga da substância húmica, causando diminuição na CC (0,21) somente encontrada nesta região do Rio Aracá-AM.

A correlação do teor de ferro ($r = 0,68$) com as capacidades de complexação (CC) das substâncias húmicas por íons Cu(II), indica que a baixa concentração pode influenciar na superfície de carga da substância húmica, causando diminuição na CC (0,21) somente encontrada nesta região do Rio Aracá-AM.

Capítulo 3

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABATE, G.; MASINI, J. C. Utilização de eletrodos potenciométricos de amálgama em estudo de complexação de substâncias húmicas. **Química Nova**, v. 22, n. 5, p. 661-665, 1999.

ACHARD, F.K.. Chemische untersuchung des torfs. **Crells chemischen annalen** 2, p. 391, 1786.

AIKEN, G. R. Isolation and concentration techniques for aquatic humic substances. In: AIKEN, G. R.; McKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L.; MacCARTHY, P. (Ed.). **Humic substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation and characterization**. New York: John Wiley & Sons, 1985.

ALLOWAY, B. J. **Heavy metal in soils**. New York: John Wiley & Sons, 1995. 368 p.

ANTONELLI, M. L.; CALACE, N.; CENTIOLI, D.; PETRONIO, B. M.; PIETROLETTI, M. Complexing capacity of different molecular weight fractions of sedimentary humic substances. **Analytical Letters**, v. 34, n. 6, p. 989-1002, 2001.

BARCELÓ, D. Occurrence, handling and chromatographic determination of pesticides in the aquatic environment. **Analyst**, v. 116, p. 681-689, 1991.

BARROS, S. T. D.; MENDES, E. S.; PERES, L. Influence of important parameters in acerola juice ultrafiltration. In: CONGRESSO DE ENGENHARIA DE PROCESSOS DO MERCOSUL, 2., 1999, Florianópolis. Resumos – ed. Prisma, 1999.

BARTSCHAT, B. M.; CABANISS, S. E.; MOREL, F. M. M. Oligoelectrolyte model for cation binding by humic substances. **Environ. sci. technol.** v. 26(2), p. 284-294, 1992.

BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F.; ROCHA, J. C. Factors affecting Hg (II) adsorption in soils from the Rio Negro basin (Amazon). **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 62-67, 2005.

BLOOM, P. R.; MCBRIDE, M. B.; WEAVER, R. M. Aluminum organic matter in acid soils: buffering and solution aluminum activity. **Soil Science Society of America Journal**, v. 43, p. 488-493, 1979.

Bolt, GH. **Soil chemistry B. physico-chemical models**. 2^a ed. Amsterdam: Elsevier. 1982.

BUFFLE, J. Characteristics of aquatic organic compounds. In BUFFLE, J. **Complexation reactions in aquatic system an analytical approach**. New York: Ellis Horwood, 1990a. p. 146-194.

BUFFLE, J. **Complexation reactions in aquatic systems: an analytical approach**. New York: Ellis Horwood, 1990b. p. 692.

BURBA, P.; SHKINEV, V.; SPIVAKOV, Y. B. On-line fractionation and characterization of aquatic humic substances by means of sequential-stage ultrafiltration. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 351, n. 1, p. 74-82. 1995.

BURBA, P.; VAN DEN BERGH, J.; JAKUBOWSKI, B. 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, n. 3, 2001, p. 587-593. 2001.

GALDERONI, G.; SCHNITZER, M. Effects of age on the chemical structure of paleosol humic acids and fulvic acids. **Geochimica and Cosmochimica Acta**, v. 48, p. 2045-2951, 1984.

CAMARGO, O. A.; MONIZ, A. C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. A. S. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agrônômico de Campinas**. Campinas: IAC, 1986. 94 p. Boletim Técnico, 106.

CAMERON, R. S.; THORNTON, B. K.; SWIFT, R. S.; PORSNER, A. M. Molecular weight and shape of humic acid from sedimentation and diffusion measurements on fractionated extracts. **Journal Soil Science**, v. 23, p. 394-408, 1972.

CARNEIRO, A. F.; YEE, M.; HATSUE, S. T. Dunas fósseis na amazônia. **Ciência hoje**. V. 32, n. 181-191, 2003.

CASTRO, R. P. Ultrafiltração convencional com modificação técnica no tratamento cirúrgico dos defeitos cardíacos congênitos. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v. 21, n. 1, p. 42-49, 2006.

CHIOU, C. T.; LEE, J. F.; BOYD, S. A. Reply to the comment on “the surface area of soil organic matter”. **Environ. Sci. technol.** 26, p. 404-406, 1992.

DANA, J. D. **Manual of mineralogy**. New York: John Wiley & Sons, 1999.

DE SAUSSURE, T. Recherches chimiques sur la végétation, Paris 1804. In: STEVENSON, F. J. **Humus chemistry**: extraction, fractionation, and general chemical composition of soil organic matter. New York: John Wiley & Sons. 1994.cap. 2.

Encyclopedia of analytical science. Academic press, london, 1995, p. 2017-2027.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisas Agropecuária do Cerrado. **Relatório técnico anual** Brasília, 1975-76.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro, 1998. 412 p.

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

FADINI, P. S.; JARDIM, W. F. Is the Negro River Basin (Amazon) impacted by naturally occurring mercury?. **Science Total Environmental**, v. 275, p. 71-77, 2001.

FOSTIER, A. H.; MAGARELLI, G. Influence of deforestation on the mercury air/soil exchange in the Negro River Basin, Amazon. **Atmospheric Environmental**, v. 39, p. 7518-7528, 2005.

FRASER, D. C. Organic sequestration of copper. **Economic Geology**, v. 56, p. 1063-1078, 1961.

FRIMMEL, F. H.; PERMINOVA, I. V.; KUDRYAVTSEV, A. V.; KULIKOVA, N. A.; ABBT-BRAUN, G.; HESSE, S.; PETROSYAN, V. S. Molecular weight characteristics of humic substances from different environments as determined by size exclusion chromatography and their statistical evaluation. **Environmental Science Technology**, v. 37, p. 2477-2485, 2003.

GECKELER, K. E.; VOLCHEK, K. Removal of hazardous substances from water using ultrafiltration in conjunction with soluble polymers. **Environmental Science Technology**, v. 30, n. 3, p. 725-734, 1996.

GOMES, M. A. F.; SPADOTTO, C. A.; PESSOA, M. Pesticidas avaliação da vulnerabilidade natural do solo em áreas agrícolas: subsidio à avaliação do risco de contaminação do lençol freático por agroquímicos. **Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 12, p. 169-179, 2002.

Gosh, K.; schntzer, M. macromolecular structures of humic substances. **Soil science**, v. 129, p. 266-276, 1980.

HAIR JR., J. F.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W. C. **Multivariate data analysis with readings**. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall, 1995. 745 p.

HAYES, M. H. B. Extraction of humic substances from soil. In: **Humic substances in soil, sediment, and water**. ed. AIKEN G. R.; McKnight, D. M.; Wershaw & MacCarthy. p. 329-362. New York, Wiley. 1985.

HAYES, M. H. B. Humic substances: progress towards more realistic concepts of structures. In: DAVIES, G.; GHABBOUR, E. A. (Ed.). **Humic substances: structures, properties and uses**. Cornwall: MPG Books, 1998. 259 p.

HAYES, M. H. B.; WILSON, W. R. **Humic substances, peats and sludges**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1997.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Amazônia brasileira**. Rio de Janeiro, 1944.

KINDLE, A.; GARAY, I. Humus form in ecosystem of atlantic forest, Brazil. **Geoderma**. v. 118, p. 101-118, 2002.

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

LACERDA, L. D.; MARINS, R. V. Anthropogenic mercury emissions to the atmosphere in Brazil: the impact of gold mining. **Journal Geochemistry Explorer**, v. 58, p. 223–229, 1997.

LACORTE, S.; BARCELÓ, D. Determination of organophosphorus pesticides and their transformation products in river waters by automated online solid-phase extraction followed by thermospray liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal Chromatography**, v. 712, p. 103-112, 1995.

LEENHEER, J. A. Origin and nature of humic substances in the waters of the Amazon River Basin. **Acta Amazônica**, v. 10, n. 3, p. 513-526, 1980.

MACCARTHY, P.; SUFFET, I. H. **Aquatic humic substances**: Influence on fate and treatment of pollutants. ACS, Washington, 1989.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola**: nutrição de plantas e fertilizantes do solo. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 527 p.

MASON, R. P.; MOREL, F. M. M.; FITZGERALD, W. F. The biogeochemical cycling of elemental mercury: anthropogenic influences. **Geochimica et Cosmochimica**, v. 58, n. 15, p. 251-259, 1994.

MIRANDA, E. E.; COUTINHO, A. C.; MIRANDA, J. R.; DORADO, A. J. Caracterização dos sistemas ecológicos Amazônicos Ocaso da Bacia do Rio Demeni – AM/RR. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 8., 1996, Salvador. Rio de Janeiro: INPE, 1996. p. 523-524.

MORRISON, G. M. P.; FLORENCE, T. M. Electrochemical speciation analysis of metals at membrane-coated electrodes. **Elektroanalysis**, v. 1, n. 6, p. 485-491, 1989.

NIFANTEVA, T. I.; SHKINEV, V. M.; SPIVAKOV, B. Ya.; BURBA, P. Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species – a concise overview. Evaluation of conditional stability. Constants by using ultrafiltration. **Talanta**. v. 48, p. 257-267, 1999.

NRIAGU, J. O. Global metal pollution: poisoning the biosphere. **Environmental ENVITAR**, v. 32, n. 7, p. 28-33, 1990.

ODEN, S. the humic acids, studies in their chemistry, physics and soil science. **Kolloidchem.** v. 11, p. 75-260, 1919.

OLIVEIRA, E. C. S.; JESUS, I. M.; BRABO, E. S.; LOUREIRO, E. C. B.; MASCARENHAS, A. F. S.; WEIRICH, J. Mercury exposures in riverside Amazon communities in Pará, Brasil. **Environmental Environmental Research**, v. 84, p. 100-107, 2000.

OLIVEIRA, S. B.; MELFI, A. J.; FOSTIER, A. H.; FORTI, M. C.; FAVARO, D. I. T.; BOULET, R. Soils as an important sink for mercury in the Amazon. **Water, Air, Soil Pollut.**, v. 126, n. 3/4. p. 321-337, 2001.

PERDUE, E. M. Chemical composition, structure, and metal binding properties. In: HESSEN, D. O.; TRANVIK, L. J. (Ed.). **Aquatic humic substances/Ecology and biogeochemistry**. New York: Spring-Verlag, 1998. p. 41-61.

PFEIFFER, W. C.; LACERDA, L. D. Mercury inputs into the Amazon Region, Brazil. **Environmental Technology Letters**, v. 9, p. 325-330, 1988.

PICCOLO, A. Differences in high performance size exclusion chromatography between humic substances and macromolecular polymers. In: GHABBOUR, E. A.; DAVIES, G. (Ed.). **Humic substances versatile components of plants, soil and water**. Cornwall: Royal Society of Chemistry, 2000. p. 111-124.

REID, P. M.; WILKINSON, A. E.; TIPPING, E.; MALCOLM N. Determination of molecular weights of humic substances by analytical (UV scanning) ultracentrifugation. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 54, n. 1, p. 131-138, 1990.

RIBEIRO, F. A. L. **Aplicação de métodos de análise multivariada no estudo de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos**. 2001. 196 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; FURLAN, M. An alternative methodology for extraction of humic substances from soil. **Journal of brazilian chemical society**, v. 9, p. 51-58, 1998.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. **Substâncias húmicas aquáticas: interações com espécies metálicas**. São Paulo: Editora da UNESP, 2003. 138 p.

ROCHA, J. C.; SANTOS, A.; SENE, J. J. Método modificado para determinação de mercúrio por espectrofotometria de absorção atômica sem chama. **Eclética Química**, v. 19, p. 119-127, 1994.

ROCHA, J. C.; TOSCANO, I. A. S.; BURBA, P. Lability of heavy metal species in aquatic humic substances chracterized by ion exchange with cellulose phosphate. **Talanta**, v. 44, p. 69-74, 1997.

ROCHA, J. C.; TOSCANO, I. A. S.; CARDOSO, A. A. Relative lability of trace metals complexed in aquatic humic substances using ion-exchanger cellulose-hyphan. **Journal Brazilian Chemistry Society**, v. 8, p. 239-243, 1997.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A. **Introdução à química ambiental**. Porto Alegre: Bookman, 2004, 154 p.

ROCHA, J. C.; SARGENTINI JR., E.; TOSCANO, I. A. S.; ROSA, A. H.; BURBA, P. Multi-method study on aquatic humic substances from the "Rio Negro" - Amazonas State/Brazil. Emphasis on molecular-size classification of their metal contents. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 10, p. 169-175, 1999.

ROCHA, J. C.; SARGENTINI, E.; ZARA, L. F.; ROSA, A. H.; SANTOS, A.; BURBA, P. Reduction of mercury(II) by tropical river humic substances (Rio Negro) - a possible process of the mercury cycle in Brazil. **Talanta**, v. 53, p. 551-558, 2000.

ROCHA, J. C.; SARGENTINI, E.; ZARA, L. F.; ROSA, A. H.; SANTOS, A.; BURBA, P. Distribuição de metais e características das constantes de troca entre espécies metálicas e frações húmicas aquáticas de diferentes tamanhos moleculares. **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1103-1107, 2002.

ROMÃO, L. P. C.; CASTRO, G. R.; ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; PADILHA, P. M.; SILVA, H. C. Tangencial flow ultrafiltration: a versatile methodology for determination of complexation parameters in refractory organic matter from brazilian water and soil samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 375, p. 1097-1100, 2003.

ROSA, A. H. **Desenvolvimento de metodologia para extração de substâncias húmicas de turfas utilizando-se hidróxido de potássio**. 1998. 88 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1998.

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, n. 4, p. 472-476, 2000.

ROULET, M.; LUCOTTE, M.; SAINT-AUBIN, A.; TRAN, S.; RHÉAULT, I.; FARELLA, N.; SILVA, E. J.; DEZENCOURT, J.; PASSOS, C. J.; SOARES, G. S.; GUIMARÃES, J. R.; MERGLER, D.; AMORIM, M. The geochemistry of mercury in central Amazonian soils developed on the Alter-do-Chão formation of the lower Tapajós River Valley, Para State, Brazil. **Science Total Environmental**, v. 1, n. 24, p. 223-229, 1998.

RUSSELL J. S. Changes in the long-term experimental plots at kybybolite, South Australia. Changes in pH, total nitrogen, organic carbon, and bulk density. **Australian Journal of Agricultural and Resource Economics**, v. 11, p. 902-926, 1960.

SANTOS, A. **Distribuição de metais no reservatório de captação de água superficial Anhumas – Américo Brasiliense-SP**. 1998. 147 f. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.

SARGENTINI, JR., E. **Substancias húmicas aquáticas do Rio Negro-Am: extração, caracterização, fracionamentos e distribuição de metais**. 1999. 105 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1999.

SCHINNER, F.; ILLMER, P. Compost turning – a central factor for a rapid and high-quality degradation in household composting. **Bioresource Technology**, v. 59, n. 2 - 3, p. 157-162, 1997.

SCHNITZER, M.; KHAN, S. U. **Soil organic matter**. Amsterdam: Elsevier, 1978. 319 p.

SCHULTEN, H. R. The three-dimensional structure of humic substances and soil organic matter studied by computational analytical chemistry. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, v. 351, p. 62-63, 1995.

SEELINK, C. Elemental characteristics of humic substances. In: AIKEN, G. R.; McKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L.; MacCARTHY, P. (Ed.). **Humic substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation and characterization**. New York: John Wiley & Sons, 1985. p. 457-476.

SENESI, N.; MIANO, T. M.; BRUNETTI, G. Methods and related problems for sampling soil and sediment organic matter. Extration fractionation and purification of humic substances. **Química Analítica**, v. 13, p. 26-33, 1994.

SILVA, C. A.; ANDERSON, S. J.; GUILHERME, L. R. G. Uso da cromatografia de exclusão por tamanho na caracterização de substâncias

humicas de latossolo vermelho-escuro sob efeito da calagem. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 3, p. 495-503, 2000.

SIMPSON, A. J. Determining the molecular weight, aggregation, structures and interections of natural organic matter using diffusion ordered spectroscopy. **Magnetic resonance in chemistry**. v. 40, p. 72-82, 2002.

SIOLI, H. **Amazônia**: fundamentos da ecologia da maior região de florestas tropicais. Petrópolis: Vozes, 1985. 256 p.

SKINNER, B. J.; PORTER S. C. **Physical Geology**. New York: John Wiley & Sons, 1987.

SOARES, H. M. V. M.; VASCONCELOS, M. T. S. D. Study of the lability of copper (II)- fulvic acid complexes by ion selective electrodes and potentiometric stripping analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 293, p. 261-270, 1994.

SPARKS, D. L. **Environmental soil chemistry**. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 2003. 198 p.

SPIVAKOV, Y. B.; SHKINEV, M. V.; GOLOVANOV, I. V.; BAYER, E.; GECKELER, K. E. Theory and mathematical models of ion retention by watersoluble polymers during membrane filtration. **Macromolecular Theory and Simulations**, v. 5, n. 2 , p. 357–364, 1996.

SPRINGER , U. The present status of humus investigation methods especially with respect to the separation, determination and characterization of humic acid types and application to characteristic forms of humus, **Bodenkunde Pflanzenermah**, v. 6, p. 312-373, 1938.

STEVENSON, F. J. Extraction, fractionation, and general chemical composition of soil organic matter. In: _____ **Humus chemistry**. New York: Wiley & Sons, 1982. p. 26-53.

STEVENSON, F. J. **Cycles of soil**: carbon, nitrogen, phosphorus, sulphur, micronutrients. New York: Jonh Willey & Sons, 1985.

STEVENSON, F. J. Biochemistry of the formation of humic substances. In: STEVENSON, F. J. **Humus chemistry**. New York. John Wiley & Sons, 1982. p. 195-219.

STEVENSON, F. J. genesis, composition, reactions of humic substances. In: STEVENSON, F. J. **Humus chemistry**. New York. John Wiley & Sons, 1994.

SUGUIO, K. **Introdução à sedimentologia**. São Paulo: Edgard Blücher, 1973. 317 p.

SWIFT, R. S. Fractionation of soil humic substances humic substances. in: AIKEN, G. R. **Soil, sediment, and water: geochemistry, isolation, and characterization**. New York: John Wiley and Sons, 1985. p. 387-408.

SWIFT, R. S. Molecular weight, size, shape and charge characteristics of humic substances: some basic considerations. in: HAYES, M. H. B.; MACCARTHY, P.; MALCOLM, R. L. **Humic substances II: in search of structure**. New York: Wiley & Chichester, 1989. p. 450-466.

SWIFT, R. S. Organic matter characterization. In: SPARKS, D. L. (Ed.). **Methods of soil analysis: chemical methods**. Maddison: SSSA, 1996. p. 1011-1069.

SWIFT, R. S. Macromolecular properties of soil humic substances: Fact, fiction, and opinion. **Soil science**. v. 164(12), p. 790-802, 1999.

TAUK, S. M. Biodegradação de resíduos orgânicos no solo. **Revista Brasileira de Geociência**, v. 20, n. 1/4, p. 299-301, 1990.

TEXEIRA, W.; TOLEDO, M. C. M.; FAIRCHILD, T. R.; TAIOLI, F. **Decifrando a Terra**. São Paulo: Oficina de Texto, 2003. 557 p.

THENG, B. K. G.; WAKE, J. R. H.; POSNER, A. M. The fractional precipitation humic acid of soil by ammonium sulphate. **Plant and Soil**, v. 29, n. 2, 1968.

THOMAS, F.; MASON, A.; BOTTERO, J. Y.; ROUILLER, J.; MONTIGNY, F.; GENÉVRIER, F. Aluminium(III) speciation with hydroxy carboxylic acids. ²⁷Al NMR study. **Environmental Science and Technology**, v. 27, p. 2511-2516, 1993.

THURMAN, E. M. Humic substances in groundwater. In: AIKEN, G. R.; McKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L.; MacCARTHY, P. (Ed.). **Humic substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation and characterization**. New York: John Wiley & Sons, 1985. p. 87-104.

TIPPING E. **Cation binding by humic substances**. Cambridge University Press, 2002.

TOWN, R. M.; POWELL, H. K. J. Elimination of adsorption effects in gel permeation chromatographic of humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 256, p. 81-86, 1992.

VALLE, C. M.; SANTANA, G. P.; AUGUSTI, R.; EGREJA FILHO, F. B.; WINDMOLLER, C. C. Speciation and quantification of mercury in Oxisol, Ultisol, and Spodosol from Amazon (Manaus, Brazil). **Chemosphere**, v. 58, p. 779-784, 2005.

VEIGA, M. M.; MEECH, J. A.; OÑATE, N. Mercury pollution from deforestation. **Nature**, v. 368, p. 816-817, 1994.

VIEIRA L. C; SANTOS, P. C. T. **Amazônia seus solos e outros recursos naturais**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1987.

VON WANDRUSKA, R. The micellar model of humic acid: evidence from pyrene fluorescence measurements. **Soil science**. v. 163(12), p. 921-930, 1998.

WALLACE, A. R. A narrative of travels on the Amazon and Rio Negro... London: Reeve, 1953.

WANG, C.; JUANG, L.; HSU, T.; LEE, C.; LEE, J.; HUANG, F. Adsorption of basic dyes onto montmorillonite. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 273, p. 80-86, 2004.

WERSHAW, R. L. Model for humus in soils and sediments. **Environmental Science Technology**, v. 27, p. 814-816, 1993.

ZARA, L. F. **Redução de mercúrio iônico por substâncias húmicas aquáticas**. 2001. 123f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.