



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José do Rio Preto

CAMILA DE ALMEIDA MELO

**Caracterização e dinâmica de metais em rios da
Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande.**

São José do Rio Preto –SP
2010

CAMILA DE ALMEIDA MELO

**Caracterização e dinâmica de metais em rios da
Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande.**

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

Melo, Camila de Almeida.

Caracterização e dinâmica de metais em rios da Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande / Camila de Almeida Melo. - São José do Rio Preto: [s.n.], 2010.

86 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Márcia Cristina Bisinoti

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Química ambiental. 2. Água - Poluição. 3. Metais - Contaminação. 4. Substâncias húmicas aquáticas. I. Bisinoti, Márcia Cristina. II. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU - 54:574

CAMILA DE ALMEIDA MELO

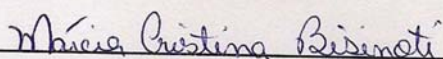
**Caracterização e dinâmica de metais em rios da
Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande.**

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

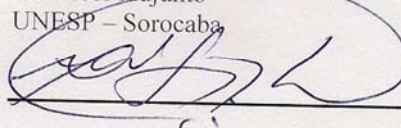
BANCA EXAMINADORA

Orientadora:

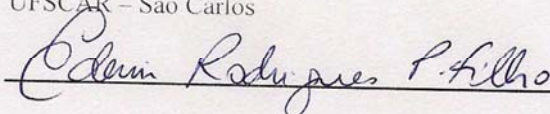
Profa. Dra. Márcia Cristina Bisinoti
Professora Assistente Doutora
UNESP – São José do Rio Preto



Prof. Dr. André Henrique Rosa
Professor Adjunto
UNESP – Sorocaba



Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho
Professor Adjunto
UFSCAR – São Carlos



São José do Rio Preto/SP, 18 de Junho de 2010.

DEDICO

*Aos meus pais Carlos e Helena que
sempre me incentivaram a estudar,
à minha irmã Vanessa pela amizade e
cumplicidade e ao meu marido Thiago
pelo companherismo, carinho e amor comigo.*

AGRADECIMENTOS

- À Profa. Dra. Márcia Cristina Bisinoti pela brilhante orientação desde a iniciação científica (2006), dedicação, paciência e amizade que me fizeram amadurecer tanto profissional quanto pessoalmente.
- Ao Prof. Dr. Altair B. Moreira pela ajuda na realização deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho pela ajuda na Análise de Componentes Principais e sugestões apresentadas no exame de qualificação.
- À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela bolsas concedidas (08/03246-2 e 08/07400-6).
- Aos amigos do LECA (Laboratório de Estudos em Ciências Ambientais): Renata Ferrarese, Amanda Tadini, Flávia dos Santos, Glaucia Pantano, Camila Beltrão, Ana Lúcia Toffoli, Anna Luisa Oliveira, Mariele Campanha, Fabio Medeiros, Vitor Cid, Thiago Sposito, Bruno Rocha, Alcyr Barcelar e entre outros que trabalharam no laboratório, pela amizade, apoio e momentos de muita alegria.
- Aos professores do Departamento de Química e Ciências Ambientais: Profa. Dra. Lídia Plicas, Prof. Dr. Maurício Boscolo, Prof. Dr. Roberto da Silva, Prof. Dr. Elizeu Trabuco, Prof. Dr. Flávio Mansini, Profa. Dra. Ieda Pastre, Prof. Dr. Eduardo de Almeida, Prof. Dr. Márcio Tiera, Profa. Dra. Vera Tiera, Prof. Dr. Fernando Fertoni pelo incentivo e conselhos valiosos.
- Aos amigos Rita Beatriz (secretária), Daniela (técnica), Claudinei (técnico) e Eliane (técnica) pela disposição em ajudar e também pelo apoio.
- Por fim e tão importante em minha vida, à DEUS que sem dúvida esteve ao meu lado em todos os momentos de conquistas e dificuldades. Gratidão e Amor são sentimentos que dedico ao Senhor.

CURRÍCULO

1. Formação acadêmica

- Bacharel em Química Ambiental pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP – campus de São José do Rio Preto/SP. 2004-2007. Título monografia: Avaliação do comportamento dos poluentes presentes nas águas da Represa Municipal de São José do Rio Preto, SP.

2. Publicações científicas

2.1 Resumos apresentados em congressos

- Melo, C.A.; Toffoli, A.L.; Moreira, A.B.; Bisinoti, M.C. Interação entre substâncias húmicas aquáticas extraídas do Rio Preto com os metais Cu, Cr, Ni e Al empregando Fluorescência Molecular. 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Maio/2010, Águas de Lindóia/SP. Resumo aceito como apresentação de painel.
- Junior, A.C.B.; Melo, C.A.; Bisinoti, M.C.; Moreira, A.B. Concentração de Al, Cd, Cr, Cu e Ni em tecidos de peixes de rios da Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande e cálculo do fator de bioconcentração. 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Maio/2010, Águas de Lindóia/SP. Resumo aceito como apresentação de painel.
- Toffoli, A.L.; Melo, C.A.; Moreira, A.B.; Bisinoti, M.C. Determinação da capacidade de complexação das substâncias húmicas aquáticas extraídas do Rio Preto com os metais alumínio, cobre, cromo e níquel. VI Semana de Química Ambiental, Maio/2010, São José do Rio Preto/SP. Resumo aceito como apresentação de painel.
- Melo, C.A.; Toffoli, A.L.; Moreira, A.B.; Bisinoti, M.C. Efeito da radiação solar na complexação dos metais Al, Cr e Ni com as substâncias

- húmicas aquáticas extraídas do Rio Preto. V Encontro Nacional de Química Ambiental, Março/2010, São Pedro/SP. Resumo aceito como apresentação de painel.
- Melo, C.A.. Moreira, A.B.; Bisinoti, M.C. Investigação da concentração de antimônio em águas minerais engarrafadas em polietileno tereftalato (PET). 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Maio/2009, Fortaleza/CE. Resumo aceito como apresentação de painel.
 - Melo, C.A.. Moreira, A.B.; Bisinoti, M.C. Mapeamento dos metais Al, As, Ba, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sb e Zn ao longo dos rios da Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande. 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Maio/2009, Fortaleza/CE. Resumo aceito como apresentação de painel.
 - Melo, C.A. Viana, E.G.; Campanha, M.B.; Bisinoti, M.C.; Moreira, A.B. Estratificação de espécies de nitrogênio e enxofre em amostras de águas dos rios Turvo e Grande, SP. 1º Encontro Brasileiro sobre Especiação Química, Dezembro/2008, São Pedro/SP. Resumo aceito como apresentação de painel.
 - Oliveira, A.L.C.; Melo, C.A.; Antunes, C.B.; Viana, E.G.; Campanha, M.B.; Bisinoti, M.C.; Moreira, A.B. Disponibilidade de espécies metálicas em águas do Rios Turvo e Grande na Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande. 1º Encontro Brasileiro sobre Especiação Química, Dezembro/2008, São Pedro/SP. Resumo aceito como apresentação de painel.
 - Campanha, M.B.; Melo, C.A. Viana, E.G.; Bisinoti, M.C.; Moreira, A.B. Especiação química de metais em águas do Rio Preto, SP, utilizando o programa CHEAQS para inferir a toxicidade. 1º Encontro Brasileiro sobre Especiação Química, Dezembro/2008, São Pedro/SP. Resumo aceito como apresentação de painel.
 - Melo, C.A.; Bisinoti, M.C.; Moreira, A.B. Avaliação do comportamento

de poluentes presentes em águas da Represa Municipal de São José do Rio Preto, SP, Brasil. 7th Iberian and 4th Iberoamerican Congress of Environmental Contamination and Toxicology, Janeiro/2008, Lisboa/Portugal. Resumo aceito como apresentação oral.

- Melo, C.A.; Bisinoti, M.C. Emprego do modelo de especiação química para a escolha de metais alvos para estudos das interações com as substâncias húmicas. IV Semana de Química Ambiental, Maio/2007, São José do Rio Preto/SP. Resumo aceito como apresentação de painel.

2.2 Artigos publicados

- Melo, C.A.; Moreira, A.B.; Bisinoti, M.C. Perfil espacial e temporal de poluentes nas águas da Represa Municipal de São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. Química Nova, v. 32, n. 6, 1436-1441, 2009.

2.3 Artigos aceitos

- Campanha, M.B.; Melo, C.A.; Moreira, A.B.; Ferrarese, R.F.M.S.; Tadini, A.M.; Viana, E.G.; Pereira Filho, E.R.; Bisinoti, M.C. Variabilidade espacial e temporal de parâmetros físico-químicos nos rios Turvo, Preto, Grande no estado de São Paulo, Brasil. Química Nova, 2010.

2.4 Capítulos de livro submetidos

- Melo, C.A.; Campanha, M.B.; Ferrarese, R.F.M.S.; Tadini, A.M.; Yabe, M.J.S.; Moreira, A.B.; Bisinoti, M.C. Identification of punctual and diffuse pollutants source with emphasis on environmental maintenance in Turvo/Grande hydrographic watershed, Brazil. In: Carolina Bilibio; Oliver Hensel; Jeferson Francisco Selbach; José Roberto de Souza Almeida Leite. Sustainable water management on the tropics and subtropics. 2010.

RESUMO

Neste trabalho foi determinado o estoque de metais e avaliada a dinâmica destes em águas superficiais dos rios Preto, Turvo e Grande e seus afluentes (corpos aquáticos pertencentes à Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande). Numa primeira etapa, os elementos alumínio, antimônio, arsênio, bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo, níquel e zinco foram quantificados mensalmente em 13 locais de amostragens empregando Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização por Forno de Grafite. Nessas mesmas amostras foram monitorados em campo, com o auxílio de equipamentos multiparâmetros, os parâmetros temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade, pH e sólidos totais dissolvidos, bem como no laboratório o carbono orgânico total (COT) empregando um Analisador de Carbono Orgânico Total. Os resultados foram interpretados com o auxílio de Análise de Componentes Principais (PCA). Numa segunda etapa, substâncias húmicas aquáticas (SHA) foram extraídas das águas do rio Preto empregando método recomendado pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas. Em seguida, estudos da capacidade de complexação das SHA do Rio Preto com os metais alumínio, cromo (III), cromo (VI) e níquel foram realizados no laboratório e em campo empregando Espectrofluorimetria Molecular. A partir dos resultados obtidos pode-se verificar que os corpos aquáticos Córrego Piedade e rio Preto próximo a ETE (COT variando de 2,9-225,8 mg L⁻¹) encontraram-se impactados principalmente, devido ao lançamento de efluentes domésticos. Os dados de PCA discriminaram 4 grupos permitindo avaliar a influência da sazonalidade no aporte dos contaminantes monitorados. As constantes de estabilidade condicional dos complexos SHA-Cromo (VI), SHA-Cromo (III) e SHA-Níquel foram de $2,6 \cdot 10^{-2}$, $2,0 \cdot 10^{-2}$ e $1,1 \cdot 10^{-5}$, respectivamente. Estes resultados, associados à caracterização das SHA permite concluir que as interações metal-SHA são fracas quando comparadas com outros trabalhos, o que pode estar associado ao baixo grau de humificação. Os resultados dos estudos de capacidade de complexação das SHA-Alumínio apresentaram um comportamento atípico, em que observou-se um aumento da intensidade do sinal de fluorescência com a adição do metal. Por fim, a radiação solar diminui a capacidade de complexação das SHA do rio Preto com os metais Ni, Cr e Al, tornando estes mais disponíveis para serem transportados a longas distâncias.

Palavras-chaves: Substâncias Húmicas Aquáticas, metais, Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande.

ABSTRACT

Quantify and metals environmental dynamics in waters from Preto, Turvo and Grande rivers and its main tributaries (water bodies belonging at Turvo/Grande Watershed) were evaluated in this work. As a first step, freshwater were sampling monthly at 13 sampling places during 12 months and the elements aluminum, antimony, arsenic, barium, cadmium, lead, copper, chromium, nickel and zinc were quantified using Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. In field, the characterization of these water samples were carried through measures of temperature, dissolved oxygen, conductivity, pH and total dissolved solids. Total organic carbon (TOC) was quantified using a Total Organic Carbon Analyzer. Principal Component Analysis (PCA) was employed to data treatment. In a second step, aquatic humic substances (AHS) were extracted from Preto River according International Humic Substances Society method. Complexation capacity studies of AHS with aluminum, chromium (III), chromium (VI) and nickel were performed in the laboratory and field using Fluorescence Molecular Spectroscopy. Results showed that Piedade and Preto rivers near ETE are the aquatic bodies more affected by domestic discharges presenting TOC ranged from 2.9 to 225.8 mg L⁻¹. PCA discriminated four groups to evaluate seasonality influence on discriminated diffuse and point sources of monitored contaminants. Conditional stability constants of metal complexes with AHS were $2.6 \cdot 10^{-2}$, $2.0 \cdot 10^{-2}$ and $1.1 \cdot 10^{-5}$ for chromium (VI), chromium (III) and nickel, respectively. Our results indicated that SHA-metal interactions are weak compared to other studies reported in the literature, whose may be associated to humification degree low. Atypical behavior was observed to complexation capacity study of the AHS-Aluminum. An increase of the fluorescence signal was noted with metal addition. Finally, solar radiation decrease the complexation capacity of the AHS with Ni, Cr and Al metals, leaving the most a available metal to be transported for long distances along the river.

Keywords: aquatic humic substances, metals, Turvo/Grande watershed.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química proposta para o ácido húmico por Flaig (1960).....	24
Figura 2. Estrutura química proposta para o ácido fúlvico por Buffle (1970).....	24
Figura 3. Estrutura química proposta para o ácido fúlvico por Schnitzer e Khan (1978).....	24
Figura 4 Estrutura química proposta para os ácidos húmicos por Schulten e Schnitzer em 1993.....	25
Figura 5. Mapa esquemático contendo os principais corpos aquáticos, bem como a localização dos pontos de amostragem de água (1 a 13) representados por pontos em vermelho, ao longo dos principais rios da Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande.....	33
Figura 6. Foto das garrafas PET empregadas para manter as amostras utilizadas no experimento em microcosmo submersas no Rio Preto, para estudo do efeito da radiação solar na capacidade de complexação dos metais alumínio, cromo (VI) e níquel.....	40
Figura 7. Gráficos da variação da concentração dos metais em função dos meses de coleta, para os 13 locais de amostragem, no período de Junho/2007 a Novembro/2008, para os metais (a) cromo, (b) cobre, (c) níquel e (d) alumínio. Concentrações em $\mu\text{g L}^{-1}$ e linha vermelha destacando a concentração máxima permitida pela Resolução CONAMA 357/2005.....	47
Figura 8. Gráfico dos escores para a Componente Principal 1 (CP1) e para a Componente Principal 2 (CP2).....	48
Figura 9. Espectro de varredura de 200 a 800 nm obtidos empregando-se espectrofotômetro de UV/Vis para a amostra de SHA extraídas das águas do Rio Preto.....	50
Figura 10. a) Espectros de fluorescência molecular no modo emissão (350-650, λ_{exc} 332 nm) e b) no modo sincronizado (240-700, $\Delta\lambda$ 18 nm), para as SHA extraídas do Rio Preto.....	51
Figura 11. Espectro de fluorescência no modo Matriz Emissão-Excitação (MEE) para as SHA extraídas das águas do Rio Preto.....	53
Figura 12. Determinação do tempo de complexação necessário para estabilizar o sinal de emissão de fluorescência correspondente aos complexos (a) SHA-Alumínio, (b) SHA-Cromo (VI) e (c) SHA-Níquel.....	54
Figura 13. Espectros de fluorescência nos modos emissão (a) e sincronizado (b) obtidos na titulação de alumínio com SHA.....	54
Figura 14. Curva das intensidades máximas de fluorescência obtidas nos modos emissão e sincronizado para o complexo SHA-Alumínio.....	56
Figura 15. Espectros de fluorescência nos modos emissão (a) e sincronizado (b) obtidos na titulação de cromo (VI) com SHA.....	57
Figura 16. Curvas de supressão de fluorescência nas modalidades emissão e sincronizado para o complexo SHA-Cromo (VI).....	57
Figura 17. Curvas de linearização das intensidades de fluorescência nos modos emissão e sincronizado para o cálculo de K_C utilizando modelo Stern-Volmer (Lakowicz, 1999).....	58
Figura 18. Espectros de fluorescência nos modos emissão (a) e sincronizado (b) obtidos na titulação de cromo (III) com SHA.....	59

Figura 19. Curvas de supressão de fluorescência nas modalidades emissão e sincronizado para o complexo SHA-Cromo (III).....	59
Figura 20. Curva de linearização da intensidade de fluorescência no modo emissão para o cálculo de K_C utilizando o modelo Stern-Volmer (Lakowicz, 1999).....	60
Figura 21. Espectros de fluorescência nos modos emissão (a) e sincronizado (b) obtidos na titulação de níquel com SHA extraídas do Rio Preto.....	60
Figura 22. Curvas de supressão de fluorescência nas modalidades emissão e sincronizado para o complexo SHA-Níquel.....	61
Figura 23. Curvas de linearização das intensidades de fluorescência nos modos emissão e sincronizado para o cálculo de K_C utilizando o modelo Stern-Volmer.....	62
Figura 24. Espectro de varredura de 200 a 800 nm obtido do material das garrafas PET utilizando um espectrofotômetro UV-Vis.....	63
Figura 25. Espectros de fluorescência nos modos emissão (a) e sincronizado (b) para as SHA controle, exposta a radiação solar e não exposta a radiação solar.....	64
Figura 26. Espectro de fluorescência no modo emissão para o experimento em microcosmo de SHA-Alumínio exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).....	65
Figura 27. Espectro de fluorescência no modo sincronizado para o experimento em microcosmo de SHA-Alumínio exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).....	65
Figura 28. Espectro de fluorescência no modo emissão para o experimento em microcosmo de SHA-Cromo (VI) exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).....	66
Figura 29. Espectro de fluorescência no modo emissão para o experimento em microcosmo de SHA-Cromo (III) exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).....	67
Figura 30. Espectro de fluorescência no modo sincronizado para o experimento em microcosmo de SHA-Cromo (VI) exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).....	68
Figura 31. Espectro de fluorescência no modo sincronizado para o experimento em microcosmo de SHA-Cromo (III) exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).....	68
Figura 32. Espectro de fluorescência no modo emissão para o experimento em microcosmo de SHA-Níquel exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).....	69
Figura 33. Espectro de fluorescência no modo sincronizado para o experimento em microcosmo de SHA-Níquel exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos locais de amostragem ao longo dos rios pertencentes à Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande.....	34
Tabela 2. Condições instrumentais para a determinação de alumínio, arsênio, bário, cádmio, cromo, cobre, níquel, chumbo, antimônio e zinco em amostras de águas superficiais empregando GFAAS.....	36
Tabela 3. Equação da reta, regressão linear, faixa linear, limite de detecção, limite de quantificação e valores de recuperações para os metais e semi-metais alumínio, antimônio, arsênio, bário, cádmio, cobre, chumbo, cromo, níquel e zinco para amostras de águas superficiais empregando GFAAS.....	41
Tabela 4. Valores mínimo e máximo dos parâmetros físico-químicos encontrados para os rios ao longo da Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande no período de Junho/2007 a Novembro/2008.....	43
Tabela 5. Valores mínimo e máximo dos parâmetros físico-químicos encontrados para os rios ao longo da Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande no período de Junho/2007 a Novembro/2008.....	44
Tabela 6. Valores mínimo e máximo dos parâmetros físico-químicos encontrados para os rios ao longo da Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande no período de Junho/2007 a Novembro/2008.....	44
Tabela 7. Tabela 7. Valores de COT medidos para as soluções de SHA eluídas, bem como valores de COT esperados e porcentagens de recuperações correspondentes para as três soluções de SHA.....	49
Tabela 8. Faixas de comprimentos de onda e respectivos constituintes orgânicos observados por Peuravuori <i>et alii</i> (2002), Ferrari e Mingazzini (1995) e este trabalho para espectros de fluorescência no modo sincronizado.....	52
Tabela 9. Dados de intensidades de radiação ultravioleta obtidos junto ao CPTEC no dia 14 de novembro de 2009 (Experimento 1) e no dia 7 de maio de 2010 (Experimento 2) para a cidade de São José do Rio Preto.....	63
Tabela 10. Valores do Índice Z obtidos para as análises de cobre e zinco para as amostras de tecido vegetal.....	71

ABREVIATURAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

AOAC - Scientific Association Dedicated to Analytical Excellence ®

BHTG – Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande

CAPRP – Captação do Rio Preto

CE – Condutividade Elétrica

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do estado de São Paulo

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

CORBOT - Córrego Botelho

CORFE - Córrego Felicidade

CORP - Córrego Piedade

COT – Carbono Orgânico Total

CP – Componente Principal

CPTEC – Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EPA – Environmental Protection Agency of Unites States

EPR – Ressonância Paramagnética Nuclear

ETERP - Após Estação de Tratamento de Efluentes

f- Fração de fluorescência inicial que corresponde as estruturas fluorescentes disponíveis para complexação

GFAAS – Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry

IHSS – International Humic Substances Society

I_{ML} - Valor limite no qual a fluorescência não diminui com a adição do metal

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

I_o – Intensidade de fluorescência do ligante quando nenhum metal está presente

IUV – Intensidade de Radiação Ultravioleta

K_c – Constante de Estabilidade Condicional

L – Ligante

LD – Limite de Detecção

LECA – Laboratório de Estudos em Ciências Ambientais

LQ – Limite de Quantificação

M – Metal

MEE – Matriz Emissão-Excitação

ML – Metal complexado

NRP – Nascente do Rio Preto

OD – Oxigênio Dissolvido

PCA – Análise de Componentes Principais

PET – Polietilenotereftalato

PORTUR - Ponte na rodovia que liga SJRP à Olímpia

PRTURAPRP - Ponte na rodovia que liga Pontes Gestal a Riolândia

RBJAT - Ribeirão Jataí

RGRANDE - Rio Grande após receber água dos Rios Preto e Turvo

RIBTOM - Ribeirão Tomazão

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

RPARTUR - Rio Preto antes do Rio Turvo

RTURARG - Rio Turvo antes de desaguar no Rio Grande

SHA – Substâncias Húmicas Aquáticas

STD – Sólidos Totais Dissolvidos

UGRHI – Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos

ΔI – Fração inicial de fluorescência que corresponde a estrutura fluorescente disponível para complexação

SUMÁRIO GERAL

1. Introdução.....	18
2. Objetivo Geral.....	19
3. Revisão Bibliográfica.....	19
3.1 Fontes de metais em corpos aquáticos.....	19
3.2 Dinâmica de metais.....	22
3.3 Substâncias Húmicas.....	23
3.3.1 Origem, formação e estrutura das substâncias húmicas.....	23
3.3.2 Caracterização das SHA.....	25
3.3.2.1 Espectrofotometria de Ultravioleta/Vísivel (UV/Vis).....	26
3.3.2.2 Espectroscopia de Fluorescência Molecular.....	26
3.3.3 Importância das SHA e suas interações com metais.....	28
3.3.4 Determinação da constante de estabilidade condicional.....	29
3.4 Análise exploratória dos dados.....	30
3.5 Área de estudo.....	30
4. Parte Experimental.....	32
4.1 Materiais e Equipamentos.....	32
4.2 Limpeza de vidrarias.....	32
4.3 Soluções e reagentes.....	32
4.4 Locais de amostragens.....	33
4.5 Procedimentos de amostragens e preservação de amostras.....	34
4.6 Desenvolvimento Experimental.....	35
4.6.1 Decomposição das amostras de água superficial para quantificação de metais e semi-metais.....	35
4.6.2 Quantificação de metais e semi-metais por GFAAS.....	36
4.6.3 Análise exploratória dos dados.....	37
4.6.4 Extração de substâncias húmicas utilizando resina XAD 7.....	37
4.6.4.1 Estudo da eficiência da resina XAD 7 na extração de SHA.....	37
4.6.5 Caracterização das substâncias húmicas aquáticas.....	38
4.6.5.1 Quantificação de carbono orgânico total (COT).....	38
4.6.6 Determinação da capacidade de complexação SHA-Metal e da constante de estabilidade condicional.....	38
4.6.6.1 Determinação do tempo de complexação.....	38
4.6.6.2 Capacidade de complexação.....	39

4.6.6.3 Efeito da radiação solar na capacidade de complexação dos metais alumínio, cromo (VI), cromo (III) e níquel com as SHA do rio Preto.....	39
4.6.6.3.1 Experimento 1.....	39
4.6.6.3.2 Experimento 2.....	40
5. Resultados e Discussão.....	41
5.1 Adaptação dos métodos analíticos para quantificação de metais e semi-metais por GFAAS.....	41
5.2 Caracterização das amostras de águas superficiais.....	42
5.3 Análise de Componentes Principais.....	47
5.4 Extração das substâncias húmicas aquáticas.....	49
5.4.1 Eficiência da resina XAD 7.....	49
5.5 Caracterização das substâncias húmicas aquáticas.....	49
5.6 Estudos de capacidade de complexação dos metais alumínio, cromo (VI), cromo (III) e níquel com SHA do Rio Preto.....	53
5.6.1 Tempo de complexação.....	53
5.6.2 Capacidade de complexação SHA-Alumínio.....	54
5.6.3 Capacidade de complexação SHA-Cromo (VI).....	56
5.6.4 Capacidade de complexação SHA-Cromo (III).....	58
5.6.5 Capacidade de complexação SHA-Níquel.....	60
5.7 Experimentos em microcosmos para avaliar o efeito da radiação solar na capacidade de complexação das SHA com os metais alumínio, cromo (VI), cromo (III) e níquel.....	62
5.7.1 Alumínio.....	64
5.7.2 Cromo.....	66
5.7.3 Níquel.....	68
6. Conclusão.....	70
7. Anexo 1.....	71
8. Referências bibliográficas.....	72

1. Introdução

A qualidade das águas dos recursos hídricos é de fundamental importância para o desenvolvimento econômico e social de um país. Entretanto, com o rápido crescimento populacional e a industrialização, os recursos hídricos vêm apresentando índices preocupantes de contaminação tornando-se impróprios para o uso pretendido em conformidade com a legislação brasileira (Resolução CONAMA 357/05). Os principais problemas associados à contaminação dos corpos aquáticos são os excessos de carga poluidora, doméstica ou industrial, e o aumento da demanda de consumo de água. Dentre os constituintes dos efluentes industriais destaca-se o aporte de metais diretamente nas águas sem prévio tratamento.

A presença de metais nos ambientes aquáticos tem influência direta nas funções biológicas dos organismos aquáticos que compõem a biota. Dependendo da concentração, os metais podem atuar positivamente, sendo considerados essenciais para o desenvolvimento dos organismos, ou negativamente, sendo considerados tóxicos. Concentrações na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ já são tóxicas para alguns organismos aquáticos (Antunes *et alii*, 2007; Brooks *et alii*, 2008; Remyła *et alii*, 2008). A disponibilidade de metais em recursos hídricos está em grande parte associada às características das substâncias húmicas aquáticas (SHA). Os estudos de capacidade de complexação das SHA com metais possibilitam o entendimento da disponibilidade, transporte e toxicidade dos mesmos para a biota dos ambientes aquáticos (Rocha *et alii*, 2003).

No estado de São Paulo, a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do estado de São Paulo (CETESB) realiza, desde o ano de 1974, o monitoramento de parâmetros físicos, químicos e biológicos em 323 estações paulistas distribuídas em 22 Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHI). Dentre os parâmetros físico-químicos monitorados estão os metais, porém o monitoramento dos mesmos é realizado a cada dois ou seis meses, dependendo do metal e da UGRHI. A UGRHI 15 denominada Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande tem como principais corpos aquáticos os rios Preto, Turvo, Grande, São Domingos e Ribeirão da Onça os quais são empregados no abastecimento público, industrial e para o afastamento de efluentes. A CETESB monitora 10 locais na UGRHI 15 (região agrícola), onde 5 estão localizados no rio São Domingos e Ribeirão da Onça. Apesar da elevada área de drenagem da bacia (15.925 km^2) e da importância dos recursos hídricos para a UGRHI 15, o monitoramento desta por meio da quantificação de metais é ainda pequeno, sendo praticamente inexistentes estudos que abordem a dinâmica dos metais, tão fundamentais para avaliar a disponibilidade e a toxicidade.

2. Objetivo Geral

Este trabalho teve como principal objetivo avaliar o impacto da presença de metais na Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande, bem como entender o papel das substâncias húmicas aquáticas na dinâmica dos metais em questão.

Objetivos específicos:

- Caracterizar os corpos aquáticos pertencentes à Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande por meio do monitoramento de parâmetros físico-químicos relevantes à qualidade de água.
- Identificar as fontes de contaminantes nestes corpos aquáticos e a influência da sazonalidade no comportamento dos mesmos empregando análise exploratória de dados.
- Extrair e caracterizar as SHA extraídas das águas do Rio Preto utilizando espectrofotometria de absorção molecular (UV/Vis) e de fluorescência molecular.
- Estudar a capacidade de complexação das SHA com os principais metais encontrados nos corpos aquáticos, determinando as constantes de estabilidade condicional.
- Avaliar o efeito da radiação solar na capacidade de complexação das SHA com metais por meio de experimentos em microcosmos.

3. Revisão Bibliográfica

3.1 Fontes de metais em corpos aquáticos

O uso de metais é uma prática antiga no mundo, já em 5000 a.C. há relatos do uso de cobre em armas utilizadas pelas civilizações no Oriente Médio. Segundo Vanin (1994), no Império Romano, outros elementos metálicos como o chumbo e o zinco foram descobertos, sendo estes fundidos ao ar livre causando emissões tóxicas no ambiente. Porém com o advento da Revolução Industrial houve um aumento expressivo na exploração de metais, que acabaram por gerar problemas ambientais, dentre eles o aporte de efluentes industriais sem tratamento.

Os metais ocorrem nos ambientes aquáticos como o resultado de processos naturais e das atividades antrópicas. São considerados essenciais para o crescimento e funcionamento regular de alguns organismos aquáticos (Lee e Lim, 2008; Speisky *et alii*, 2008; Vicente-Sánchez *et alii*, 2008), porém em alguns casos podem ser tóxicos em concentrações na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ (Antunes *et alii*, 2007; Brooks *et alii*, 2008; Remyła *et alii*, 2008). Metais como o cobre, cromo, chumbo e mercúrio são bastante estudados devido às suas propriedades de persistência no ambiente e bioacumulação nos organismos (Baird, 1995; Arain *et alii*, 2008) sendo a principal via de aporte nos corpos aquáticos as atividades metalúrgicas e

agroquímicas (Gagneten e Gervasio, 2007; Lam *et alii*, 2007; Douay *et alii*, 2008). Outros elementos como arsênio, bário e alumínio estão normalmente associados às características geológicas de cada região (Das e Krishnaswami, 2006; Macdonald *et alii*, 2007; Shinkai *et alii*, 2007).

O alumínio é o terceiro elemento mais abundante na crosta terrestre. É principalmente extraído do mineral bauxita, um óxido de alumínio hidratado ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$). O intemperismo pode disponibilizar o alumínio em outras formas, como os aluminossilicatos. Estes estão presentes nas argilas, micas e feldspatos que são constituintes do solo (Lepsch, 2002). Macdonald *et alii* (2007) estudaram o efeito da lixiviação de metais em solos sulfatados caracterizados por um horizonte A ácido ($\text{pH} < 4$), na Austrália, e observaram que os metais alumínio e ferro são os mais facilmente lixiviados pelas chuvas. De acordo com López *et alii* (2002) outra fonte de aporte do metal alumínio nos corpos aquáticos refere-se às Estações de Tratamento de Água, que empregam coagulantes a base de alumínio, especialmente $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$. Jordão *et alii* (2007) apontaram uma outra fonte de contaminação por alumínio nos rios Turvo Limpo e Turvo Sujo (Minas Gerais) devido à disposição de lixo municipal, sucatas metálicas e resíduos de construção civil próximos aos corpos aquáticos em questão. Estes autores encontraram concentrações de alumínio total extremamente elevadas (480 mg L^{-1}) para o Rio Turvo Limpo.

Outro elemento de importância é o antimônio, onde as espécies mais tóxicas são as inorgânicas Sb(III) e Sb(V) (Nordberg *et alii*, 2007). Normalmente, o antimônio é utilizado na indústria como metal de sacrifício, sendo adicionado ao estanho como liga e também adicionado a baterias como condutor (Veado *et alii*, 2006). Estudos apontaram que a contaminação por antimônio se deve ao fato deste ser encontrado na forma de impureza do inseticida arsenato de chumbo, a qual é aplicada em culturas agrícolas mesmo já sendo proibido em alguns países como Estados Unidos da América e Brasil (Wagner *et alii*, 2003; Steely *et alii*, 2007). Cabe ressaltar que Shotyk *et alii* (2006) e Westerhoff *et alii* (2008) encontraram concentrações de antimônio de $0,09$ a $0,52 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para águas minerais dos Estados Unidos da América, e de $0,11$ a $0,37 \text{ ng L}^{-1}$ para águas minerais do Canadá e Europa, engarrafadas em polietileno tereftalato (PET). Na produção do PET é empregado antimônio como catalisador devido ao baixo custo, sendo demonstrado por alguns autores que o mesmo pode ser lixiviado em contato com a água (Shotyk *et alii*, 2006; Westerhoff *et alii*, 2008).

O metalóide arsênio pode ser encontrado nas formas inorgânicas e orgânicas, sendo as espécies inorgânicas As(III) e As(V) as formas mais tóxicas para o ambiente (Dias e Satte, 2003). O aporte de arsênio se dá principalmente por via antrópica devido ao seu uso como

preservante de madeira, na forma de pentóxido de arsênio em sua composição (Cocker *et alii*, 2006), bem como foi empregado no final do século XIX na composição de herbicidas e inseticidas (Cancès *et alii*, 2005).

O bário pode ocorrer naturalmente em águas na forma de carbonatos, e também por meio da atividade antrópica tendo como principais fontes de aporte no ambiente as mineradoras, indústrias de tintas e de fabricação de fogos de artifício (Gondal e Hussain, 2007; Moreno *et alii*, 2007). Das e Krishnaswami (2006) investigaram a concentração de bário em rios margeados por solos basálticos de Deccan, Índia, e encontraram concentrações de 1,0 a 14,5 mg L⁻¹ de bário. As baixas concentrações encontradas foram atribuídas à adsorção deste metal pela argila e oxi-hidróxidos de ferro que compõem o solo. Franciskovic-Bilinski (2006) investigou a concentração de bário em sedimentos do rio Kupa, Croácia, em regiões de minas de processamento de barita, tendo encontrado concentrações que variaram de 20 a 5.790 mg kg⁻¹.

A principal fonte de cádmio em águas se dá por meio do lançamento de efluentes industriais. Este metal é utilizado como pigmentos de tintas e em indústrias de plásticos e cerâmicas (Gowd e Govil, 2008). Fianko *et alii* (2007) ao avaliarem a poluição por metais nos rios Kakum e Sorowie (Gana, África) encontraram concentrações que variaram de 11 a 41 µg L⁻¹, que foram atribuídas ao emprego de fertilizantes fosfatados em solos agriculturáveis, que margeiam os rios em questão, uma vez que o cádmio é considerado uma impureza destes fertilizantes.

O cobre é um metal encontrado naturalmente em águas, porém pode ser originado de fontes antropogênicas. Indústrias metalúrgicas de fundição são consideradas vias de aporte de cobre seja por meio do lançamento de efluentes sem tratamento ou até mesmo pela emissão gasosa deste metal, que depois atingirá o corpo aquático por deposição seca ou úmida (Douay *et alii*, 2008). Outra fonte do metal para os corpos aquáticos refere-se à lixiviação dos solos nos quais foi realizado o controle de pragas utilizando sulfato de cobre, bem como o uso de algicidas a base de cobre em águas de recreação (Gagneten e Gervasio, 2007; Tadini *et alii*, 2009).

As concentrações de cromo em água doce são normalmente muito baixas, inferiores a 1 µg L⁻¹. As principais espécies inorgânicas de cromo são o Cr(III) e o Cr(VI), sendo o primeiro essencial ao metabolismo humano e o segundo prejudicial, pois tem efeito cancerígeno (Beaumont *et alii*, 2008). Muitos estudos atribuem a contaminação por cromo às indústrias de couro (curtumes) instaladas nas margens dos rios (Gallo *et alii*, 2006; Yaymtas *et alii*, 2007; Gowd e Govil, 2008). Cabe relatar que a região noroeste do estado de São Paulo,

a qual compreende municípios como São José do Rio Preto, Mirassol, Potirendaba, Urânia, entre outros, tem apresentado concentrações de cromo em águas de subsolo acima do limite máximo permitido pelo Ministério da Saúde. Em alguns casos a concentração de cromo atingiu $0,14 \text{ mg L}^{-1}$, valor este quase três vezes maior que o limite ($0,05 \text{ mg L}^{-1}$). Segundo os pesquisadores que estudaram a contaminação por cromo na região, acredita-se que o cromo seja de origem natural, associado à presença do mineral diopsídio no arenito e ao elevado pH (8,5-10,7) do solo (Bertolo *et alii*, 2009). Uma possível contaminação causada pela presença de curtumes na cidade de São José do Rio Preto também é discutida.

O chumbo é um metal muito utilizado em fundição, desde os anos de 4000 a.C., quando este era extraído na queima de seu respectivo minério (galena, sulfeto de chumbo) com carvão. Desde a Revolução Industrial este metal é ainda bastante utilizado em indústrias metalúrgicas, bem como nas indústrias de pilhas e baterias (Lam *et alii*, 2007). Cabe destacar que as espécies orgânicas de chumbo metiladas, apresentam toxicidade maior do que o Pb(II) atuando diretamente no sistema nervoso central (Templeton *et alii*, 2000).

Níquel é um exemplo de metal largamente utilizado nas indústrias, pois apresenta qualidades de dureza, ductibilidade, estabilidade em altas temperaturas, resistência a corrosão e características estéticas (Reck *et alii*, 2008). Outra fonte de níquel no ambiente pode ser atribuída às áreas mineradoras (Blais *et alii*, 1999; Nieto *et alii*, 2007).

Zinco é um metal essencial à vida humana, participando da síntese de enzimas, podendo, porém, em função da concentração, acarretar efeitos maléficos inibindo a respiração mitocondrial (Gazaryan *et alii*, 2007). Este composto pode ser lançado no ambiente por fontes industriais e lixões. Térres-Martos *et alii* (2002) determinaram a concentração de zinco em águas do sudeste da Espanha e encontraram concentrações que variaram de $14,9$ a $52,0 \mu\text{g L}^{-1}$, que foram associadas a uma indústria de processamento de polpa de madeira. Fianko *et alii* (2007) associaram as concentrações de zinco encontradas em águas de rios do estuário de Iture, Gana, à deposição clandestina de lixo municipal e também de sucatas galvanizadas.

3.2 Dinâmica de metais

A dinâmica de metais, definida neste trabalho como o transporte, complexação e especiação dos mesmos é na maioria das vezes controlada pelo tipo de substâncias húmicas aquáticas (SHA) que compõe a matéria orgânica de cada corpo aquático.

3.3 Substâncias Húmicas

3.3.1 Origem, formação e estrutura das substâncias húmicas

O pioneiro em estudos com substâncias húmicas foi o químico alemão Franz Karl Achard que em 1798 dissolveu solos turfas em solvente alcalino e obteve uma solução de coloração escura que precipitava em presença de ácido (Frimmel e Christman, 1988). Já em 1837, Sprengel realizou um estudo na tentativa de compreender a origem e a natureza química das substâncias húmicas (Frimmel e Christman, 1988). Outros autores como Flaig (1960), Kononova (1966), Buffle (1970), Schnitzer e Khan (1978), Stevenson (1982), Wershaw (1993) e Piccolo (2001, 2002) buscaram propostas para a estrutura molecular das substâncias húmicas, sendo até hoje não definida completamente.

As substâncias húmicas aquáticas (SHA) são originadas a partir da decomposição de restos vegetais e animais por meio das transformações microbiológicas. São macromoléculas de coloração normalmente escura e de elevada massa molecular geralmente composta de estrutura complexa formada de anéis aromáticos e grupos funcionais reativos que acabam por apresentar uma capacidade de complexação com metais (Romão *et alii*, 2002). Os principais grupos funcionais são os carboxílicos (-COOH), fenólicos (Aromáticos-OH), aminídicos (-NH₂), imidazólicos (Aromáticos-NH), sulfidrílicos (-SH), quinônicos (Aromáticos=O), entre outros. Os constituintes elementares mais importantes destas substâncias são: o carbono (40-60%), oxigênio (30-40%) e hidrogênio (4-6%) (Stumm, 1995). Outro ponto importante a se destacar é que a composição das SHA difere de um ambiente aquático para o outro, devido suas características dependerem da origem, condições meteorológicas e características físico-química dos rios.

Flaig (1960) propôs uma possível estrutura para o ácido húmico (constituente das substâncias húmicas solúvel em meio básico e insolúvel em meio ácido) onde há a presença de anéis aromáticos com dois ou três grupos OH fenólicos, grupos COOH e quinonas também são encontrados (Figura 1). Kononova (1966) propôs estrutura semelhante a proposta por Flaig (1960) para os ácidos húmicos com pequena diferença na quantidade de grupos OH fenólicos.

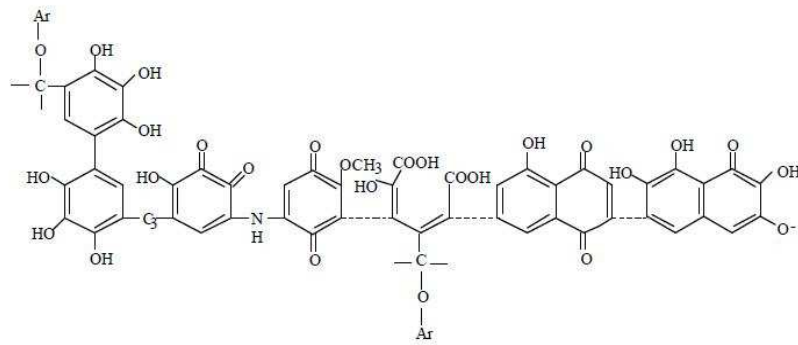


Figura 1. Estrutura química proposta para o ácido húmico por Flaig (1960).

Já Buffle (1970) propôs a estrutura para o ácido fúlvico (constituente das substâncias húmicas solúvel em meio básico e em meio ácido) onde há a presença de anéis aromáticos com grande quantidade de grupos COOH e componentes alifáticos e cetônicos podem ser visualizados (Figura 2). Schnitzer e Khan (1978) melhoraram a estrutura proposta por Buffle (1970) afirmando que os grupos carboxílicos e fenólicos estão unidos por meio de ligações de hidrogênio formando assim uma estrutura polimérica de alta estabilidade química (Figura 3).

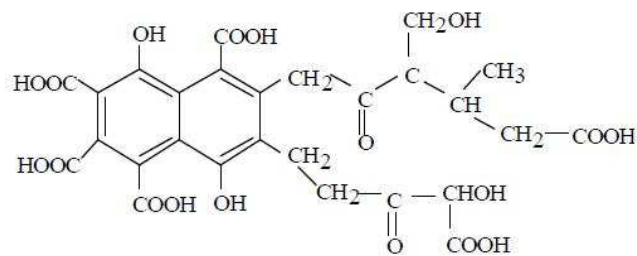


Figura 2. Estrutura química proposta para o ácido fúlvico por Buffle (1970).

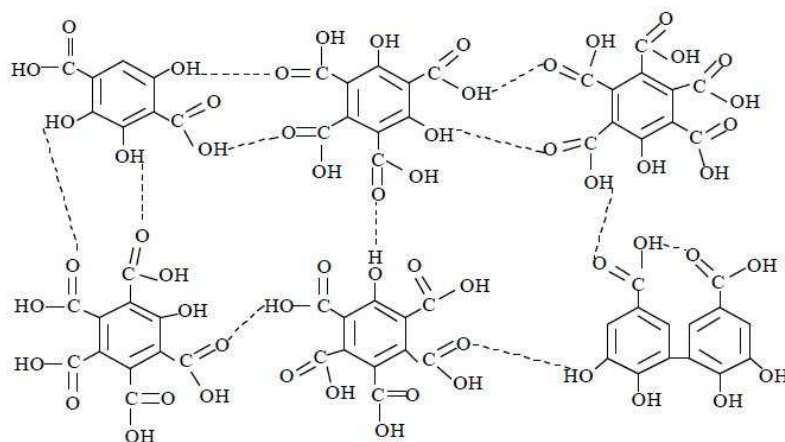


Figura 3. Estrutura química proposta para o ácido fúlvico por Schnitzer e Khan (1978).

Passados 15 anos, Schulten e Schnitzer (1993) propuseram uma estrutura para os

ácidos húmicos onde uma grande quantidade de anéis aromáticos, com vários grupos carboxílicos, fenólicos, alcoólicos e nitrogenados estão presentes (Figura 4). Os ácidos húmicos diferem dos ácidos fúlvicos por possuírem maior conteúdo de anéis aromáticos, estrutura condensada e maior massa molecular.

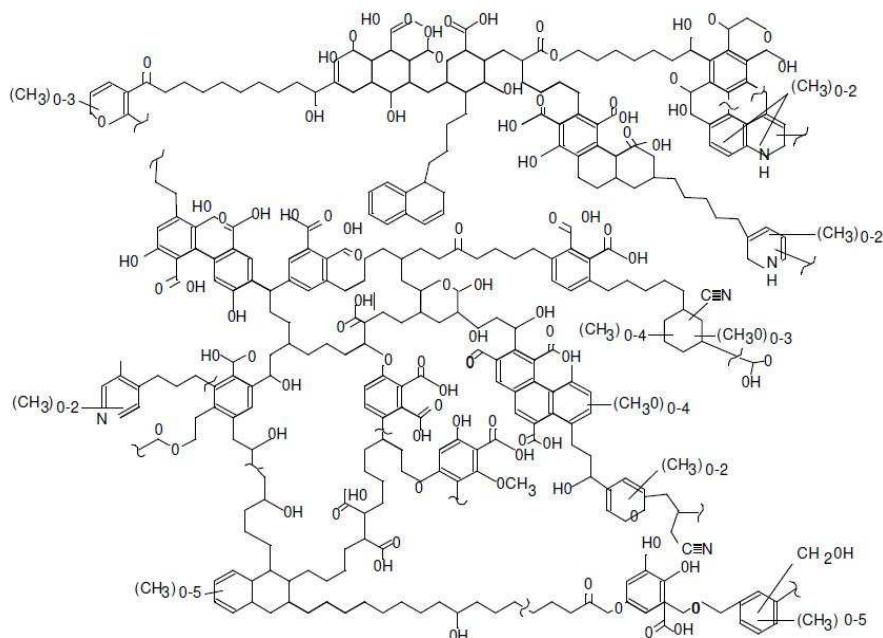


Figura 4 Estrutura química proposta para os ácidos húmicos por Schulten e Schnitzer em 1993.

Schulten e Schnitzer (1997) propuseram um modelo para as substâncias húmicas baseado na formação de macromoléculas orgânicas, como proteínas, polissacarídeos e ácidos nucleicos. Eles observaram que na estrutura das substâncias húmicas existem espaços “vazios” de diferentes tamanhos podendo ser hidrofílicos ou hidrofóbicos.

Wershaw em 1993, Sein *et alii* (1999) e posteriormente Piccolo (2001) propuseram o modelo supramolecular para as substâncias húmicas, sendo este baseado na agregação de moléculas pequenas e heterogêneas mantidas por ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. O modelo propõe uma estrutura auto-organizada em conformações supramolecular, o que proporciona o grande tamanho molecular aparente das substâncias húmicas. Ainda segundo Piccolo (2001) o pH atua influenciando a estrutura por meio da protonação da molécula e conseqüentemente aumento das ligações de hidrogênio intermoleculares.

3.3.2 Caracterização das SHA

Vários são os métodos espectroscópicos utilizados para a caracterização das substâncias

húmicas, dentre eles pode-se citar a Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR), Espectroscopia na região do Infravermelho, Espectroscopia de UV/Vis e Espectroscopia de Fluorescência Molecular. Estes métodos são utilizados freqüentemente por serem não destrutíveis, além de possuírem vantagens como a utilização de pequenas massas e/ou volumes da mesma (Skoog, 2005).

3.3.2.1 Espectrofotometria de Ultravioleta/Vísivel (UV/Vis)

A espectrofotometria de absorção molecular de UV/Vis está baseada na medida de absorção de luz por um composto molecular em função do comprimento de onda. Esta técnica permite identificar transições eletrônicas de elétrons π de duplas ligações conjugadas, estruturas comumente presentes nas substâncias húmicas. Porém não é possível caracterizar determinado grupo cromóforo, somente a sobreposição das absorbâncias de vários grupos funcionais (Stevenson e Schnitzer, 1982). Mesmo assim a espectrofotometria de UV/Vis vem sendo empregada em diversos estudos sobre caracterização de SHA (Ruohomaki *et alii*, 1998; Christl *et alii*, 2000; McDonald *et alii*, 2004). Certas razões entre as absorbâncias de determinados comprimentos de onda possibilitam avaliar a aromaticidade das SHA e também a presença de compostos com caráter alifáticos ou aromáticos. A razão E_4/E_6 obtida entre as absorbâncias dos comprimentos de onda de 465 nm e 665 nm é comumente utilizada para avaliar a aromaticidade das SHA. Estruturas contendo anéis aromáticos tendem a absorver energia em comprimentos de onda maiores (665 nm), já estruturas alifáticas absorvem em comprimentos de onda menores (465 nm). Sendo assim, valores acima de 5,0 para a razão E_4/E_6 indica a predominância de estruturas alifáticas (Azevedo e Nozaki, 2008). De modo semelhante, valores superiores a 3,0 para as razões E_2/E_3 (254 nm/365 nm) e E_3/E_4 (300 nm/400 nm) são indicativos de compostos com características alifáticas (Sloboda, 2007).

3.3.2.2 Espectroscopia de Fluorescência Molecular

A fluorescência é um fenômeno de fotoluminescência onde as moléculas são excitadas por radiação eletromagnética e ao retornarem ao estado fundamental emitem radiações em comprimentos de onda maiores que o de excitação (Lakowicz, 1999).

Compostos orgânicos contendo grupos funcionais aromáticos apresentam fluorescência mais intensa quando comparados a compostos orgânicos contendo estruturas alifáticas e ligações duplas (Skoog, 2005). Assim, estruturas aromáticas de alto grau de condensação emitem fluorescência em comprimentos de onda maiores (Peuravuori, 2002).

A fluorescência emitida pelas SHA é devida principalmente a compostos ácidos

orgânicos (ácidos fúlvicos e ácidos húmicos). Carvalho *et alii* (2004) utilizaram espectros de fluorescência molecular obtido de amostras de SHA extraídas do rio Itapanhaú e verificaram intensidades máximas de fluorescência em 435 nm, os quais foram atribuídos aos ácidos fúlvicos aquáticos (intensidade máxima de fluorescência ao redor de 433 nm). Baker e Genty (1999) estudaram as intensidades de fluorescência de emissão para os ácidos fúlvicos e húmicos e observaram que estes emitem fluorescência em 380-460 nm e 410-480 nm, respectivamente. Ainda na modalidade de emissão outros autores observaram que os ácidos fúlvicos e húmicos emitem em comprimento de onda superiores a 450 nm e 500 nm, respectivamente (Senesi *et alii*, 1991; Azevedo e Nozaki, 2008). Duas outras modalidades de fluorescência são empregadas em estudos de caracterização de SHA: a sincronizada e a matriz excitação-emissão (MEE). Na modalidade sincronizada os comprimentos de onda de excitação e emissão são monitorados de maneira sincronizada com intervalo constante entre ambos os comprimentos de onda expressos por $\Delta\lambda = \lambda_{\text{emissão}} - \lambda_{\text{excitação}}$. Peuravuori *et alii* (2002) empregaram um $\Delta\lambda$ de 18 nm para avaliar diferentes frações de SHA extraídas de águas superficiais provenientes de lagos e rios da Finlândia. Estes autores associaram regiões de comprimentos de onda entre 260-302 nm à presença de aminoácidos aromáticos e/ou ácidos voláteis de estrutura alifática, enquanto que a região de 302-340 nm está associada a compostos do tipo naftaleno e seus derivados (com dois anéis aromáticos). Em 340-370 nm os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos contendo de 3 a 4 anéis estão presentes. Em 370-420 nm estão presentes compostos contendo de 5 anéis aromáticos, sendo que em 438-487 nm compostos com 7 anéis aromáticos ou estruturas como a lignina fluorescem. De maneira semelhante, Ferrari e Mingazzini (1995) associaram a presença de ácidos fúlvicos a região de 370-400 nm e a de ácidos húmicos a comprimentos de onda superior a 470 nm.

Na modalidade MEE é obtido um gráfico tridimensional construído a partir de vários espectros de emissão. Esta modalidade permite trabalhar em uma extensa faixa espectral e identificar mais de um sinal de fluorescência dependendo das características de cada SHA. Azevedo e Nozaki (2008) atribuíram o sinal de fluorescência de amostras de substâncias húmicas aquáticas extraídas da Lagoa dos Patos, em Minas Gerais, Brasil, nos comprimentos de onda de $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{emi}}$ 315/440 aos ácidos fúlvicos e em $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{emi}}$ 270/400, $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{emi}}$ 310/470 e $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{emi}}$ 440/505 aos ácidos húmicos. De modo semelhante outros autores (Sierra *et alii*, 2005; Mobed *et alii*, 1996) atribuíram os sinais de fluorescência de amostras de substâncias húmicas aquáticas extraídas dos corpos aquáticos Suwannee, Ratonés (Santa Catarina-Brasil) e Peri (Santa Catarina-Brasil) em $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{emi}}$ 320/450, $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{emi}}$ 255/455 e $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{emi}}$ 350/450 aos ácidos fúlvicos e em $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{emi}}$ 330/470, $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{emi}}$ 260/485 e $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{emi}}$ 370/470 aos ácidos

húmicos.

3.3.3 Importância das SHA e suas interações com metais

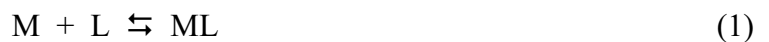
Muitos são os estudos que apontam à importância das substâncias húmicas na complexação de metais (Wood, 1996; Romão *et alii*, 2002; Santos *et alii*, 2004; Santos *et alii*, 2008). A maioria dos autores conclui que os metais quando complexados as substâncias húmicas tornam-se menos disponíveis nos ambientes (Romão *et alii*, 2002; Santos *et alii*, 2004) e, portanto, menos tóxicos para organismos aquáticos (Santos *et alii*, 2008). Porém Lamelas *et alii* (2005) e Sánchez-Marín *et alii* (2007) também mostraram que há casos que a presença de substâncias húmicas aumentou o acúmulo de chumbo em organismos aquáticos. Desta maneira, os estudos de interações de metais com SHA estão na grande maioria vinculados à disponibilidade dos mesmos e da toxicidade destes para a biota dos ambientes. Estas interações são influenciadas por fatores como pH, temperatura do ambiente, concentração dos metais e das substâncias húmicas e intensidade da radiação solar (Silva *et alii*, 1998; Brooks *et alii*, 2007; Winter *et alii*, 2007). A capacidade de complexação dos metais cobre e níquel com as SH extraídas de folhas foram menores para pH ácidos (Silva *et alii*, 1998). Cao *et alii* (2004) ao avaliarem a complexação de cobre com matéria orgânica dissolvida de rios da China, observaram que em pH básicos as constantes de estabilidade condicional foram maiores. Estes mesmos autores também observaram um aumento nas constantes de estabilidade ao trabalharem com soluções mais diluídas do metal. Trabalhos recentes têm mostrado que a radiação solar e/ou artificial exerce papel fundamental na interação matéria orgânica dissolvida-metal (Kopáček *et alii*, 2006; Shank *et alii*, 2006; Brooks *et alii*, 2007; Winter *et alii*, 2007; Porcal *et alii*, 2009). Estes trabalhos apontam que a degradação fotoquímica da matéria orgânica dissolvida diminui a capacidade desta em complexar metais como alumínio, ferro e cobre. Porcal *et alii* (2009) verificaram que a diminuição do carbono orgânico dissolvido foi de 13% para amostras irradiadas artificialmente por 2 horas, e esta diminuição foi mais significativa para amostras que continham compostos mais alifáticos. Ainda neste estudo foi demonstrado que as reações fotoquímicas são capazes de atuar disponibilizando metais do complexo matéria orgânica-metal.

Uma explicação para a fotodegradação da matéria orgânica foi muito bem discutida no trabalho de Sulzberger e Durisch-Kaiser (2009). A formação de radicais livres, suportada pela presença de radiação solar, os quais atuam como agentes oxidantes é a explicação mais discutida por alguns autores para o mecanismo de fotodegradação da matéria orgânica

(Tzortziou *et alii*, 2007; Rodriguez-Zuniga *et alii*, 2008; Trubetskoj *et alii*, 2009). Voelker *et alii* (1997) demonstraram que os radicais livres (OH) são principalmente oriundos da fotólise do complexo matéria orgânica-Fe(III). O par redox ($\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+3}$) exercem um papel importante nas reações fotoquímicas uma vez que estas espécies atuam cataliticamente na decomposição de H_2O_2 e conseqüente na produção de radicais hidroxilas ($\bullet\text{OH}$) na presença de irradiação UV, tornando assim o ambiente mais oxidante e, portanto, favorável a degradação de compostos orgânicos (Nogueira *et alii*, 2007). A química dos radicais hidroxilas e seu papel na fotodegradação da matéria orgânica e sua relação com o ciclo do mercúrio tem sido bastante discutido na literatura (Silva *et alii*, 2009; Jardim *et alii*, 2010).

3.3.4 Determinação da constante de estabilidade condicional

Os estudos de interação das SHA com metais podem ser avaliados utilizando a fluorescência molecular. As SHA emitem fluorescência devido a sua estrutura contendo anéis aromáticos conjugados, porém esta é suprimida na presença de alguns metais como o cobre, níquel, zinco, dentre outros (Silva *et alii*, 1998; Provenzano *et alii*, 2004). Em alguns casos a presença de alumínio pode promover um acréscimo na intensidade do sinal de fluorescência (Sharpless *et alii*, 1999). A supressão de fluorescência corresponde a associação dos sítios ligantes fluorescentes (L) com um íon metálico paramagnético (M) representada pela Equação 1:



onde M, L e ML representam o metal livre, o ligante livre e o complexo, respectivamente. A constante de estabilidade condicional do complexo é representada pela Equação 2:

$$K_c = \frac{[\text{M}][\text{L}]}{[\text{ML}]} \quad (2)$$

onde [M], [L] e [ML] representam a concentração do metal livre, ligante livre e complexo, respectivamente.

Considerando que o perfil de supressão de fluorescência observado com o aumento da concentração do metal, corresponde a uma classe de fluoróforos similares, com capacidade de formar complexos estáveis com os metais, uma interpretação deste perfil pode ser feita de acordo com a equação de Stern-Volmer (Lakowicz, 1999) demonstrada pela Equação 3:

$$\frac{I_0}{\Delta I} = \frac{1}{f} + \frac{1}{(f \cdot K_c \cdot [M])} \quad (3)$$

onde I_0 é a intensidade de fluorescência do ligante quando nenhum metal está presente, ΔI é a fração inicial de fluorescência que corresponde a estrutura fluorescente disponível para

complexação ($\Delta I = I_0 - I$, onde I = intensidade de fluorescência do ligante em função do metal adicionado) e $[M]$ concentração do metal livre. Se um gráfico de $I_0/\Delta I$ versus $1/[M]$ é linear, K_c e f (f fração de fluorescência inicial que corresponde as estruturas fluorescentes disponíveis para complexação) podem ser calculados pelo coeficiente angular ($1/fK_c$) e pela intersecção da reta ($1/f$). Porém nesta técnica não é possível saber a concentração do metal livre, somente a concentração do metal total adicionado (C_M), assim, esta concentração é utilizada ao invés de $[M]$, sendo válida somente se $C_M \approx [M]$.

Alternativamente, o perfil de fluorescência pode ser interpretado pelo método de Ryan e Weber (1982). Neste método é plotado um gráfico de intensidade de fluorescência versus a concentração do metal adicionado. Estes autores sugeriram uma equação para o gráfico em termos da constante de estabilidade condicional (K_c) e da concentração do ligante ($[L]$) mostrada na Equação 4:

$$I = \frac{(I_{ML} - 100)}{2.K_c.[L]} \cdot \left[(K_c.[L] + (K_c.[M] + 1) - \sqrt{(K_c.[L] + K_c.[M] + 1)^2 - 4.K_c^2.[L].[M]}) + 100 \right] \quad (4)$$

onde I_{ML} é o valor limite no qual a fluorescência não diminui com a adição do metal. Esta equação é resolvida em termos de K_c e $[L]$ usando análise de regressão não linear.

3.4 Análise exploratória dos dados

Os estudos que contemplam a investigação da concentração de vários poluentes em diversos locais de amostragem com ênfase ao efeito da sazonalidade levam a uma quantidade de resultados de difícil interpretação do ponto de vista univariado. Uma ferramenta estatística chamada quimiometria tem sido de grande valia para uma melhor interpretação e visualização dos dados obtidos. A Análise de Componentes Principais (PCA) é umas das técnicas quimiométricas multivariadas que tem sido aplicado na área de química (Zimmermann *et alii*, 2008; Kazi *et alii*, 2009). O objetivo da técnica é reduzir a dimensão de dados quando existe a correlação das variáveis. A idéia principal é encontrar as Componentes Principais (CP1, CP2,...) que são combinações lineares das variáveis originais. A escolha do número de CP deve permitir a descrição do sistema com um número mínimo, porém que represente uma variação máxima, evitando informações desnecessárias.

3.5 Área de estudo

Em 1994 o Governo do Estado de São Paulo criou a Lei 9.034 – Plano Estadual de Recursos Hídricos – a qual divide o Estado de São Paulo em 22 Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHI) visando à conservação, preservação e recuperação dos

recursos hídricos. A UGRHI 15 denominada Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande (BHTG) está localizada na região noroeste do Estado de São Paulo e contempla rios como o rio Preto, rio Turvo e rio Grande, os quais são os principais corpos aquáticos deste trabalho.

No Estado de São Paulo a Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande (composto por 64 municípios e com área de drenagem de 15.925 km²) é considerada crítica por possuir uma disponibilidade hídrica em torno de 960 m³/habitante/ano (Hernandes *et alii*, 2006), valor este menor que o considerado recomendável (1500 m³/habitante/ano), segundo a Organização das Nações Unidas (Jimenez e Asano, 2008) porém maior que para as regiões como a Bacia Hidrográfica do Piracicaba, Capivari e Jundiaí (industrial) que possui disponibilidade hídrica de 400 m³/habitante/ano e a Bacia do Alto Tietê (industrial) com 200 m³/habitante/ano (Neves *et alii*, 2007). A região consta com um número de habitantes bastante expressivo com 1.235.708 habitantes, sendo que 91% estão localizados em área urbanas e o restante em áreas rurais (Perfil Regional, 2007). As áreas rurais são impactadas principalmente pela atividade agropecuária que acarretam em problemas como a erosão e a contaminação por agroquímicos provenientes das principais culturas da Bacia, a cana-de-açúcar e a laranja (Instituto de Economia Agrícola, 2009).

Segundo levantamento de Andrade (2009) a UGRHI 15 vem sofrendo as mais elevadas taxas de expansão da cultura de cana-de-açúcar ocupando em 2009, 21,6% de todo o território da Bacia. Também tem sido reportado na literatura que a cultura de cana-de-açúcar pode gerar a salinização de solos devido às aplicações de vinhaça (Silva *et alii*, 2007), principal resíduo da indústria sucroalcooleira; cujo lançamento segue as recomendações da Norma Técnica P4.231 da CETESB, bem como a contaminação do solo e dos corpos aquáticos adjacentes à cultura (Lyra *et alii*, 2003). É importante destacar que na região da Bacia, a pecuária ocupava grande área, na qual parte já foi substituída pelo cultivo de cana-de-açúcar e apenas 3,9% do território possui área de vegetação nativa (CETESB, 2008).

As áreas urbanas da BHTG contribuem com a contaminação dos corpos aquáticos, principalmente pelo lançamento de efluentes domésticos, pois apenas cerca de 29% de todo o efluente gerado pela população recebe o correto tratamento em Estações de Tratamento de Esgotos (ETE), sendo o restante lançado diretamente nos corpos aquáticos (CETESB, 2008). Os principais recursos hídricos que recebem carga orgânica são o rio Preto, o Córrego Piedade, o Ribeirão Jataí e o rio Turvo, dos municípios de São José do Rio Preto, Mirassol, Tanabi e Catanduva, respectivamente. A região apresenta investimentos em diversos setores; como da indústria alimentícia de origem agrícola e animal e bebidas, indústrias sucroalcooleira, de borracha, de couro, de calçados, de móveis, de jóias e de máquinas e

equipamentos (Pesquisa da Atividade Paulista, 2009). O monitoramento de contaminantes na área de estudo é realizado pela CETESB em 10 pontos de amostragem, sendo que 5 destes estão localizados no Ribeirão da Onça e no Rio São Domingos (Catanduva) e os demais estão distribuídos ao longo dos Rio Preto, Turvo e Grande.

4. Parte Experimental

4.1 Materiais e Equipamentos

Os seguintes equipamentos e materiais foram necessários para o desenvolvimento do estudo proposto:

A) Sistema de produção de água deionizada (Millipore, Direct-Q), B) Vidrarias (Laborglas), C) Espectrômetro de Absorção Atômica com Atomização por Forno de Grafite com aquecimento longitudinal e corretor Zeeman transversal (GFAAS), (Varian, AA280Z), D) Espectrômetro de Absorção Atômica com Atomização por Chama (FAAS), (Varian, AA240FS), E) Chapa Aquecedora (Biomixer, DB-IV AC), F) Balança analítica (Shimadzu, AX200), G) Micropipetas (Eppendorfs, Research), H) Destilador de Ácido Sub-Boiling (Marconi), I) Sala limpa com Capela de Fluxo Laminar (Marconi), J) Espectrofotômetro de UV-Vis (Femto, 700 Plus), L) Espectrofluorímetro (Varian, Cary Eclipse), M) Medidor Multiparâmetro pH/Cond/TDS/Temp (Hanna, HI991300), N) Medidor de Oxigênio Dissolvido (Hanna, HI9146-04), O) Analisador de Carbono Orgânico Total (Shimadzu, TOC-VCSN), P) Bomba peristáltica (Ismatec, IPC931C).

4.2 Limpeza de vidrarias

Todas as vidrarias (balão volumétrico, erlenmeyers e pipetas) e recipientes plásticos (frascos de coleta, frascos de armazenamento de soluções) empregadas neste trabalho foram lavados exaustivamente com água e mantidos em um banho ácido de HCl 10% (v/v) por no mínimo 24 horas. Antes do uso, os materiais foram lavados pelo menos três vezes com água deionizada e, se necessário, embaladas em sacos plásticos previamente ao uso.

4.3 Soluções e reagentes

Os padrões comerciais de metais bem como os reagentes utilizados no preparo dos modificadores químicos foram de elevado grau de pureza (Fluka, Sigma-Aldrich). Os ácidos empregados foram destilados em destilador sub-boiling anterior ao seu emprego.

4.4 Locais de amostragens

Foram realizadas um total de 12 coletas de amostras de águas superficiais em 13 pontos de amostragem ao longo dos rios Preto, Turvo e Grande na Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande no período de Julho/2007 a Novembro/2008 com periodicidade de 30 a 45 dias entre as coletas, completando um ciclo hidrológico (Figura 5). Na Tabela 1 estão apresentadas as identificações dos 13 locais de amostragem, juntamente com uma descrição de sua localização e as coordenadas geográficas de cada local.

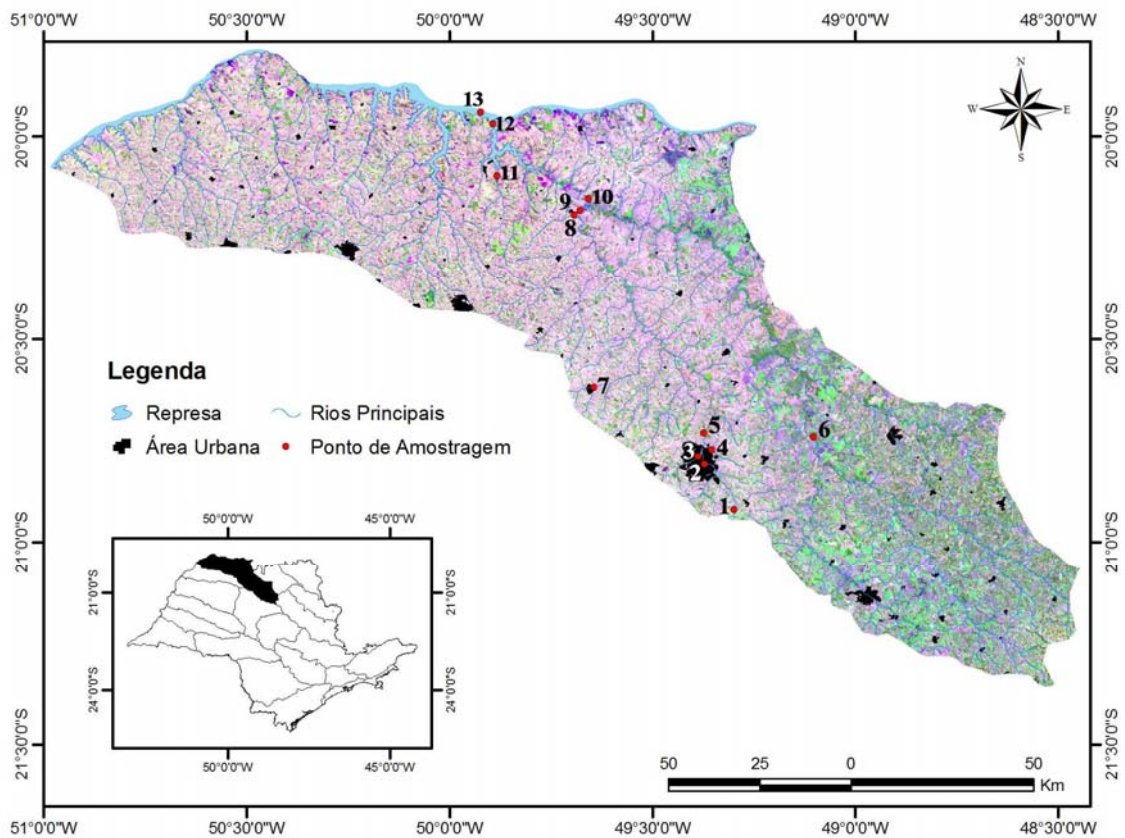


Figura 5. Mapa esquemático contendo os principais corpos aquáticos, bem como a localização dos pontos de amostragem de água (1 a 13) representados por pontos em vermelho, ao longo dos principais rios da Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande.

Tabela 1. Descrição dos locais de amostragem ao longo dos rios pertencentes à Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande.

Locais de amostragens	Siglas	Corpo Hídrico	Município	Coordenadas Geográficas
1. Nascente do Rio Preto	NRP	Rio Preto	Cedral	S20°55'11,3" W049°17'59,9"
2. Captação do Rio Preto	CAPRP	Rio Preto	São José do Rio Preto	S20°48'29,2" W049°22'24,1"
3. Córrego Piedade	CORP	Afluente do Rio Preto	Mirassol	S20°47'19,3" W049°23'18,2"
4. Córrego Felicidade	CORFE	Afluente do Rio Preto	São José do Rio Preto	S20°46'24,0" W049°21'16,9"
5. Após Estação de Tratamento de Efluentes	ETERP	Rio Preto	São José do Rio Preto	S20°43'51,5" W049°22'29,6"
6. Ponte na rodovia que liga SJRP à Olímpia	PORTUR	Rio Turvo	Olímpia	S20°44'31,8" W049°06'11,4"
7. Ribeirão Jataí	RBJAT	Afluente do Rio Preto	Tanabí	S20°37'13,9" W049°38'40,6"
8. Córrego Botelho	CORBOT	Afluente do Rio Preto	Pontes Gestal	S20°11'39,0" W049°41'34,2"
9. Rio Preto antes do Rio Turvo	RPARTUR	Rio Preto	Pontes Gestal	S20°10'53,4" W049°40'41,9"
10. Ponte na rodovia que liga Pontes Gestal a Riolândia	PRTURAPRP	Rio Turvo	Pontes Gestal	S20°09'13,1" W049°39'30,5"
11. Ribeirão Tomazão	RIBTOM	Afluente do Rio Turvo	Cardoso	S20°05'48,8" W049°53'00,4"
12. Rio Turvo antes de desaguar no Rio Grande	RTURARG	Rio Turvo	Cardoso	S19°58'09,8" W049°53'37,1"
13. Rio Grande após receber água dos Rios Preto e Turvo	RGRANDE	Rio Grande	Cardoso	S19°56'28,7" W049°55'23,1"

4.5 Procedimentos de amostragens e preservação de amostras

Os procedimentos de amostragem e preservação das amostras seguiram as recomendações propostas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 9898 (Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1987), Método 200.2 da Agência de Proteção

Ambiental (EPA) (Environmental Protection Agency of United States, 1994), Métodos padrão para avaliação de água e efluentes (Clesceri *et alii*, 1998) e Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS).

Para a caracterização dos metais e semi-metais em águas, as amostras foram coletadas em garrafas de polietilenotereftalato (PET) previamente limpa empregadas para os envase de água mineral. Um volume de 510 mL foi amostrado para cada ponto de coleta, lavando no mínimo três vezes o recipiente de coleta com a água do local antes de preenchê-los. As coletas foram realizadas a cerca de 30 cm da superfície da água. Todas as amostras foram preservadas em campo com aproximadamente 5 mL de HNO_3 2,0 mol L^{-1} para obter um pH menor que 2 e mantidas sob refrigeração até a chegada ao laboratório, onde posteriormente, foram armazenadas em freezer a -18°C até o momento da quantificação.

Para a extração de SHA, as amostras de água do Rio Preto foram coletadas em galões de 50 L previamente limpos e lavados com água do próprio corpo aquático, totalizando cerca de 200 L de amostra coletada. Em seguida, as amostras foram levadas ao laboratório, filtradas em papel qualitativo para a remoção de sólidos e partículas suspensas, sendo em seguida acidificadas com HCl 6,0 mol L^{-1} até um pH próximo a 2.

Para a quantificação de carbono orgânico total (COT), a amostra foi coletada em frascos de vidro com tampa e mantidas em geladeira até o momento da análise.

4.6 Desenvolvimento experimental

Os parâmetros pH, temperatura, condutividade elétrica, sólidos totais dissolvidos e oxigênio dissolvido foram quantificados em campo em todos os locais de amostragem e em todas as coletas realizadas utilizando-se de medidores portáteis previamente calibrados em laboratório e em campo quando necessário.

4.6.1 Decomposição das amostras de água superficial para quantificação de metais e semi-metais

O procedimento utilizado para a decomposição das amostras seguiu as recomendações do Método 200.2 da EPA (Environmental Protection Agency of United States, 1994). Este método consiste de uma decomposição por via úmida utilizando ácido clorídrico e ácido nítrico com aquecimento da amostra a fim de mineralizar a matéria orgânica presente.

Foi transferida uma alíquota de 100 mL da amostra preservada para um erlenmeyer. Em seguida foi adicionado ao mesmo 2,0 mL de HNO_3 1:1 (v/v) e 1,0 mL de HCl 1:1 (v/v) e este, coberto parcialmente com filme plástico, foi levado a uma chapa aquecedora para

evaporação da solução. A solução foi mantida a 80°C, por um período de duas horas e meia até a diminuição do volume para cerca de 20 mL. Em seguida, desligou-se a chapa e após a amostra resfriar, a mesma foi transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 100,0 mL, completando-se o volume com água deionizada. O mesmo procedimento foi realizado em triplicata tanto para as amostras quanto para os padrões e branco.

4.6.2 Quantificação de metais e semi-metais por GFAAS

Para a quantificação dos metais e semi-metais Al, As, Sb, Ba, Cd, Cu, Pb, Cr, Ni e Zn foram empregadas as condições instrumentais sugeridas pelo fabricante e por outros autores, como mostrado na Tabela 2 (Pereira *et alii*, 2004; Arain *et alii*, 2008). Para a quantificação dos elementos Cu, Cd, Pb, Cr, As, Sb e Ni usou-se como modificador químico uma solução contendo 1500,0 mg L⁻¹ de Pd e 1000,0 mg L⁻¹ de Mg(NO₃)₂ (Welz *et alii*, 1988). O volume de amostra injetado foi de 10 µL.

Tabela 2. Condições instrumentais para a determinação de alumínio, arsênio, bário, cádmio, cromo, cobre, níquel, chumbo, antimônio e zinco em amostras de águas superficiais empregando GFAAS.

Parâmetros	Metais									
	Al	As	Ba	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Sb	Zn
Corrente Lâmpada/ mA	10	10	20	4	7	4	7	10	7	5
Comprimento de onda/ nm	396,2	193,7	553,6	228,8	357,9	324,7	232,0	283,3	217,6	213,9
Abertura da Fenda/ nm	0,5	0,5	0,5	0,5	0,2	0,5	0,2	1,0	0,5	1,0
Temperatura de Pirólise/ °C	1000	1400	1000	250	1000	800	800	400	700	300
Temperatura de Atomização/ °C	2500	2600	2600	1800	2600	2300	2400	2100	2000	1900

Estudos de adição e recuperação dos 10 elementos monitorados neste trabalho foram realizados nas amostras dos vários corpos aquáticos a fim de verificar a exatidão do método. Além disso, o Laboratório de Estudos em Ciências Ambientais (LECA), no qual este trabalho foi desenvolvido, participou de dois Ensaio de Proficiência durante o ano de 2009. Um deles foi promovido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e consistiu na quantificação dos metais cobre, zinco e potássio em amostras de tecido vegetal. O outro foi promovido pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) para análise de bário em amostra de água. O ensaio de proficiência realizado

pela EMBRAPA consistiu de 4 rodadas, onde cada uma continha 3 amostras de tecido vegetal. As amostras foram decompostas empregando o Método 3050B da EPA (Environmental Protection Agency of United States, 1996) e os metais potássio, cobre e zinco foram determinados por Espectrofotometria de Absorção Atômica com Atomização por Chama ou por Forno de Grafite. O ensaio de proficiência do INMETRO foi feito para uma amostra de água e o metal bário foi determinado por Espectrofotometria Absorção Atômica com Atomização por Forno de Grafite.

4.6.3 Análise exploratória dos dados

A Análise de Componentes Principais (PCA) dos 16 parâmetros monitorados durante 12 coletas em 13 locais de amostragem foi realizada com a ajuda do Prof. Dr. Edénir Rodrigues Pereira Filho, da Universidade Federal de São Carlos. O tipo de pré processamento da matriz de dados (141:16) foi o autoescalamento. Utilizou-se do programa computacional Pirouette 4.0 rev. 2 (Infometrix, Bothell, E.U.A.) para o cálculo da PCA.

4.6.4 Extração de substâncias húmicas utilizando resina XAD 7

O procedimento de extração das SHA das amostras de água do Rio Preto foi feito de acordo com o método recomendado pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS). Este consistiu em colocar a resina Amberlite XAD 7 (Sigma) em contato com HCl 0,1 mol L⁻¹ por 24 horas com agitações suaves de tempos em tempos. Em seguida a resina foi lavada com água destilada para a remoção da solução ácida permanecendo depois em contato com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ por 24 horas. Por fim, a resina foi lavada com água destilada seguida da adição de metanol. Três colunas de vidro foram empacotadas com a resina XAD 7. Em seguida um volume de 200 L da amostra de água do Rio Preto previamente filtrada em papel qualitativo e já com o pH ajustado com HCl 6,0 mol L⁻¹ (pH 2) foi percolado pelas colunas empacotadas a uma vazão de 4 mL min⁻¹. A saturação da resina foi verificada pela coloração escura da mesma. A eluição das substâncias húmicas foi feita com a percolação de 10 mL de uma solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ pela resina, seguida de uma solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ com uma vazão de 1,2 mL min⁻¹ com o auxílio de uma bomba peristáltica. O volume final de substância húmica extraída foi de 500 mL, sendo o pH deste ajustado para o pH inicial da amostra de 6,8.

4.6.4.1 Estudo da eficiência da resina XAD 7 na extração de SHA

A eficiência de extração da resina XAD 7 foi avaliada preparando-se soluções de

substâncias húmicas (10 mg para 1,0 L) a partir de uma amostra sólida de SHA fornecida pelo Laboratório de Espectrometria, Emissão Atômica - Plasma sob responsabilidade do Prof. Dr. Julio César Rocha, do Instituto de Química da UNESP – Araraquara, que continha SHA extraída do Lago Iara (Rio Negro)/Amazonas. A caracterização destas SHA a partir de análises de Ressonância Magnética Nuclear ^{13}C demonstrou que 84% destas é composta de estruturas alifáticas (Rodríguez-Zuniga *et alii*, 2008).

4.6.5 Caracterização das substâncias húmicas aquáticas

A caracterização das SHA foi feita empregando espectrofotometria de UV/Vis e fluorescência molecular. Na espectrofotometria de UV/Vis foram feitos espectros de varreduras nos comprimentos de onda de 200 a 800 nm da amostra de SHA contendo $133,4 \text{ mg L}^{-1}$ e pH 6,8 (pH do rio). A aromaticidade das substâncias húmicas foi avaliada por meio da correlação E_4/E_6 (absorbâncias em 465 nm e 665 nm), correlação E_2/E_3 (absorbâncias em 254 nm e 365 nm) e correlação E_3/E_4 (absorbâncias em 300 nm e 400 nm).

Na fluorescência molecular foram obtidos espectros em três modos: modo emissão, modo sincronizado e modo matriz excitação-emissão (MEE - nesta modalidade obtêm-se um espectro tridimensional). No modo emissão foi feita a varredura de 350 a 650 nm com um comprimento de onda de excitação fixo em 332 nm. No modo sincronizado foram obtidos espectros de 240 a 700 nm empregando um $\Delta\lambda$ de 18 nm (Peuravuori *et alii*, 2002). No modo MEE foram utilizados os comprimentos de onda de 400-600 nm emissão e 300-500 nm excitação (Provenzano *et alii*, 2004). Todos os espectros foram obtidos com abertura de fenda de 10 nm.

4.6.5.1 Quantificação de carbono orgânico total (COT)

A quantificação de carbono orgânico total foi feita empregando-se um Analisador de Carbono Orgânico Total (Shimadzu, TOC-VCSN).

4.6.6 Determinação da capacidade de complexação SHA-Metal e da constante de estabilidade condicional

4.6.6.1 Determinação do tempo de complexação

Para um volume de 50,0 mL de solução de SHA extraída das águas do Rio Preto contendo $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de COT foi adicionado $50,0 \text{ mg L}^{-1}$ de alumínio. As soluções foram mantidas sob agitação magnética e em intervalos de tempo pré-definidos espectros de fluorescência no modo emissão e sincronizado foram obtidos. Estudos semelhantes foram

realizados para os metais cromo (VI), cromo (III) e níquel.

4.6.6.2 Capacidade de complexação

Um volume de 50,0 mL de SHA contendo 10 mg L⁻¹ de COT foi transferido para um béquer mantendo-se sob agitação magnética. Em seguida alíquotas de uma solução de níquel 1000,0 mg L⁻¹ foram adicionadas ao béquer a cada 20 minutos, e no tempo zero (sem adição do metal) e a cada 20 minutos espectros de fluorescência desta solução nos modos emissão e sincronizado foram obtidos. As adições foram realizadas até que não fosse verificada alteração da intensidade de fluorescência equivalendo a uma concentração de 661,0 mg L⁻¹ de níquel.

O mesmo procedimento adotado para o metal níquel foi feito para os experimentos com os metais alumínio, cromo (VI) e cromo (III) diferindo apenas no tempo de complexação do alumínio que foi de 30 minutos. As concentrações finais de alumínio, cromo (VI) e cromo (III) adicionados foram de 102,0 mg L⁻¹, 98,0 mg L⁻¹ e 44,0 mg L⁻¹. As constantes de estabilidade condicional foram calculadas segundo a Equação 3 apresentada no item 3.3.2.

4.6.6.3 Efeito da radiação solar na capacidade de complexação dos metais alumínio, cromo (VI), cromo (III) e níquel com as SHA do rio Preto

4.6.6.3.1 Experimento 1

O efeito da radiação solar na capacidade de complexação dos metais alumínio, cromo (VI) e níquel foi avaliado com experimentos em microcosmos em garrafas PET expostas *in situ* na água da represa do Rio Preto (Figura 6). Cabe esclarecer que as garrafas submersas não são passíveis de serem visualizadas na Figura 6, apenas as garrafas vazias utilizadas para que as amostras do experimento fossem mantidas a 30 cm de profundidade. Para isto, amostras de SHA extraídas das águas do Rio Preto contendo 5,0 mg L⁻¹ de COT foram preparadas e transferidas para as garrafas PET, sem headspace, contendo quantidades conhecidas de metais.

As soluções estoques dos metais alumínio, níquel e cromo (VI) foram preparadas a partir dos respectivos sais de cloreto de alumínio hexahidratado (Synth), cloreto de níquel hexahidratado (Synth) e dicromato de potássio (Synth).

Para o metal alumínio trabalhou-se com as concentrações de 0,4 mg L⁻¹, 1,6 mg L⁻¹ e 5,9 mg L⁻¹, enquanto que para o cromo (VI) foi de 5,9 mg L⁻¹, 43,7 mg L⁻¹ e 98,0 mg L⁻¹ e para o níquel de 0,5 mg L⁻¹, 17,7 mg L⁻¹ e 377,4 mg L⁻¹. Um total de 33 garrafas foram levadas para o campo e mantidas amarradas em uma corda, e submersas a 30 cm da superfície

das águas do Rio Preto. Um grupo foi empregado como controle (amostras contendo apenas SHA $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de COT) no claro e no escuro (envolta em papel alumínio) e um segundo grupo contendo os metais alumínio, cromo (VI) e níquel e SHA na mesma concentração, no claro e no escuro. Um terceiro grupo permaneceu no laboratório. Nos tempos zero (8:00), cinco (13:05) e dez (18:15) horas, amostras de cada grupo foram coletadas em campo e transportadas para o laboratório acondicionadas em isopor com gelo, seguida da obtenção de espectros de fluorescência nos modos emissão e sincronizado.

Um espectro de varredura de UV/Vis nos comprimentos de onda de 200 nm a 800 nm do material da garrafa PET foi obtido. Dados de intensidade de radiação ultravioleta (IUV) foram obtidos junto ao Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPTEC). A temperatura da água foi monitorada com o auxílio de um termômetro.



Figura 6. Foto das garrafas PET empregadas para manter as amostras utilizadas no experimento em microcosmo submersas no Rio Preto, para estudo do efeito da radiação solar na capacidade de complexação dos metais alumínio, cromo (VI) e níquel.

4.6.6.3.2 Experimento 2

De maneira semelhante ao experimento 1, foi realizado o experimento 2 com o metal cromo (III). A solução estoque de cromo foi preparada a partir do sal de cloreto de cromo (III) (Vetec). Trabalhou-se com as concentrações de cromo (III) de $5,9 \text{ mg L}^{-1}$, $13,7 \text{ mg L}^{-1}$ e $43,7 \text{ mg L}^{-1}$. Um total de 9 garrafas foram levadas para o campo e mantidas submersas nas águas do Rio Preto. Um grupo foi empregado como controle (amostras contendo apenas SHA $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de COT) no claro e no escuro (envolta em papel alumínio) e um segundo grupo contendo o metal cromo (III) e SHA na mesma concentração, no claro e no escuro. Um terceiro grupo permaneceu no laboratório. Nos tempos zero (8:00) e dez (18:05) horas,

amostras de cada grupo foram coletadas em campo e transportadas para o laboratório acondicionadas em isopor com gelo, seguida da obtenção de espectros de fluorescência nos modos emissão e sincronizado.

5. Resultados e Discussão

5.1 Adaptação dos métodos analíticos para quantificação de metais e semi-metais por GFAAS

As figuras de mérito avaliadas na adaptação dos métodos aplicados para a quantificação de metais em amostras de água foram limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e exatidão. A Tabela 3 apresenta a equação da reta, regressão linear, faixa linear, limite de detecção, limite de quantificação e recuperações obtidas para os elementos alumínio, antimônio, arsênio, bário, cádmio, cromo, cobre, chumbo, níquel e zinco.

Tabela 3. Equação da reta, regressão linear, faixa linear, limite de detecção, limite de quantificação e valores de recuperações para os metais e semi-metais alumínio, antimônio, arsênio, bário, cádmio, cobre, chumbo, cromo, níquel e zinco para amostras de águas superficiais empregando GFAAS.

Metal	Equação da reta	Faixa linear $\mu\text{g L}^{-1}$	Regressão linear	LD/ $\mu\text{g L}^{-1}$	LQ/ $\mu\text{g L}^{-1}$	Adição/ $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperação/ %
Alumínio	$Y = 0,0048 + 0,0017x$	0,0-60,0	0,9955	1,31	4,35	15,00	95,2 a 111,0
Antimônio	$Y = 0,0020 + 3,962,10^{-4}x$	0,0-100,0	0,9956	4,70	14,58	45,00	94,3 a 113,1
Arsênio	$Y = 0,0014 + 0,0014x$	0,0-90,0	0,9999	3,13	10,49	25,00	105,8 a 127,6
Bário	$Y = 0,0039 + 6,120,10^{-4}x$	0,0-100,0	0,9865	1,00	3,34	30,00	96,7 a 108,2
Cádmio	$Y = 0,0121 + 0,0992x$	0,0-2,0	0,9941	0,05	0,15	0,40	103,4 a 121,5
Cobre	$Y = 0,0330 + 0,0057x$	0,0-75,0	0,9917	1,25	4,18	15,00	98,9 a 102,1
Chumbo	$Y = 0,0048 + 0,0037x$	0,0-60,0	0,9985	1,41	4,59	20,00	86,1 a 91,8
Cromo	$Y = 0,0134 + 0,0056x$	0,0-45,0	0,9871	0,20	0,59	7,50	94,1 a 97,5
Níquel	$Y = 0,0090 + 0,0037x$	0,0-75,0	0,9998	0,64	2,11	20,00	78,2 a 99,8
Zinco	$Y = 0,1906 + 0,0369x$	0,0-1,5	0,9838	0,03	0,13	0,50	110,0 a 154,0

Os valores de coeficientes de regressão linear podem ser considerados bons, pois são superiores a 0,98 como mostrado na Tabela 3 (Miller e Miller, 2002). De acordo com a Scientific Association Dedicated to Analytical Excellence® (AOAC International, 2000) valores de recuperações aceitos para concentrações em unidades de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ estão entre 60-115% e para concentrações em unidades de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ entre 40-120%.

Os resultados obtidos nos ensaios de proficiência realizados pela EMBRAPA e INMETRO (ANEXO 1) foram considerados satisfatórios ($z \leq 2$), o que permite inferir que os métodos empregados para a quantificação dos metais bário, cobre e zinco apresentam boa

exatidão.

5.2 Caracterização das amostras de águas superficiais

A caracterização das águas superficiais dos corpos aquáticos em estudo, feita por meio da determinação de parâmetros como pH, temperatura, condutividade elétrica (CE), sólidos totais dissolvidos (STD), oxigênio dissolvido (OD), carbono orgânico total (COT) e os elementos alumínio, antimônio, arsênio, bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo, níquel e zinco, forneceram informações importantes quanto à qualidade das águas dos rios da BHTG. Nas Tabelas de 4 a 6 estão mostrados os resultados dos valores mínimos e máximos dos parâmetros acima citados durante o período de amostragem realizado, bem como os valores máximos permitidos pela Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente 357 de 17 de março de 2005 (Resolução CONAMA 357/05), legislação brasileira vigente para águas superficiais. Cabe ressaltar que os valores apresentados para a Resolução CONAMA 357/05 são referentes aos corpos aquáticos enquadrados pelo Decreto Estadual 10.755 de 17 de novembro de 1977 como classe 2. Os corpos aquáticos monitorados neste trabalho foram classificados na classe 2, exceto o Ribeirão Jataí que pertence à classe 3 e o Córrego Piedade e o Rio Preto no trecho após a Estação de Tratamento de Efluentes (ETERP) que são pertencentes à classe 4.

O valor de OD esteve abaixo de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ para os pontos de amostragem NRP, ETERP, CORFE, CORP e RBJAT, concentração esta considerada mínima necessária para manter a qualidade da vida aquática, segundo a EPA (Agência de Proteção Ambiental, 1986). A principal causa de baixas concentrações de oxigênio em ambientes aquáticos é o lançamento de efluentes domésticos que contém alta carga de matéria orgânica a qual é degradada por bactérias aeróbias fazendo assim com que a concentração de oxigênio diminua (Baird, 2005). Concentrações de OD próximas a zero também foram encontradas em diversos estudos (Debels *et alli*, 2005; Jordão *et alli*, 2007) onde o lançamento de efluentes domésticos é o responsável por tal fato. Como pode ser observada na Tabela 4 os locais RBJAT, CORP, CORFE e ETERP foram os corpos aquáticos que apresentaram as maiores concentrações de COT. Ressalta-se que estes locais são corpos aquáticos receptores de efluentes domésticos gerados pelas cidades vizinhas. Porém é importante observar que os locais CAPRP, RTURARG e RGRANDE apresentaram valores de OD acima das concentrações de saturação de oxigênio teóricas ($7,94 \text{ mg L}^{-1}$, $7,84 \text{ mg L}^{-1}$ e $8,97 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente) em função das temperaturas encontradas. Este comportamento é indicativo de eutrofização, processo no qual ocorre um crescimento significativo de algas devido às concentrações de nutrientes.

Tabela 4. Valores mínimo e máximo dos parâmetros físico-químicos encontrados para os rios ao longo da Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande no período de Junho/2007 a Novembro/2008.

Locais de Amostragens	pH	CE/ $\mu\text{S cm}^{-1}$	OD/ mg L^{-1}	STD/ mg L^{-1}	COT/ mg L^{-1}	Temperatura/ $^{\circ}\text{C}$
Resolução CONAMA 357/05	6,0-9,0	*	5,0	500,0	*	*
NRP	5,10 - 6,40	12 - 135	0,38 - 4,50	7 - 78	0,5 - 10,9	16,0 - 26,3
CAPRP	6,30 - 8,20	40 - 165	4,02 - 13,30	19 - 97	2,3 - 13,1	21,5 - 30,2
ETERP	6,44 - 8,12	110 - 484	0,00 - 1,45	55 - 284	2,9 - 225,8	23,8 - 31,2
CORFE	6,12 - 7,25	42 - 167	0,70 - 6,10	20 - 103	1,8 - 15,3	20,3 - 28,7
CORP	6,44 - 7,47	80 - 533	0,00 - 5,81	47 - 315	3,1 - 40,9	21,3 - 32,8
RBJAT	6,52 - 7,07	40 - 146	0,27 - 4,10	21 - 69	2,2 - 13,6	21,1 - 31,7
CORBOT	6,05 - 7,06	20 - 103	3,70 - 7,30	9 - 61	1,3 - 4,2	16,5 - 28,2
RPARTUR	6,11 - 6,92	38 - 153	4,30 - 7,52	21 - 99	1,1 - 9,0	18,1 - 28,5
PORTUR	6,32 - 7,14	48 - 191	4,17 - 7,60	28 - 114	2,2 - 14,0	16,7 - 28,9
PRTURAPRP	6,07 - 7,13	34 - 140	4,49 - 7,30	20 - 82	1,3 - 7,2	20,5 - 28,9
RIBTOM	6,30 - 7,55	18 - 92	4,05 - 6,80	5 - 51	1,2 - 11,1	23,8 - 32,0
RTURARG	6,45 - 8,24	15 - 73	6,80 - 10,00	7 - 31	0,3 - 8,6	23,2 - 31,7
RGRANDE	6,07 - 7,88	13 - 49	6,24 - 9,52	7 - 28	0,2 - 5,4	24,4 - 29,4

* valor não legislável

Os resultados apresentados na Tabela 5 mostram que as concentrações máximas de alumínio ultrapassaram os valores legislados pela Resolução CONAMA 357/05 para a maioria dos locais de amostragens, com exceção apenas da NRP e RTURARG. Na Tabela 6 também pode ser observado que as concentrações máximas dos metais chumbo, cobre, cromo e níquel estiveram acima dos valores legislados para o local de amostragem ETERP; e para o local de amostragem CORP concentrações de cobre, cromo e níquel também ultrapassaram os valores legislados.

Tabela 5. Valores mínimo e máximo dos parâmetros físico-químicos encontrados para os rios ao longo da Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande no período de Junho/2007 a Novembro/2008.

Locais de Amostragens	Alumínio/ $\mu\text{g L}^{-1}$	Antimônio/ $\mu\text{g L}^{-1}$	Arsênio/ $\mu\text{g L}^{-1}$	Bário/ $\mu\text{g L}^{-1}$	Cádmio/ $\mu\text{g L}^{-1}$
Resolução CONAMA 357/05	100,0	5,0	10,0	700,0	1,0
NRP	1,31 - 47,02	4,70 - 7,89	3,13 - 3,59	34,20 - 190,00	< 0,05
CAPRP	29,79 - 545,1	4,70 - 6,34	3,13 - 4,33	69,80 - 110,85	< 0,05
ETERP	1,31 - 1.597	4,70 - 6,54	3,13 - 3,39	51,00 - 143,99	0,05 - 0,80
CORFE	1,31 - 707,9	4,70 - 5,06	3,13 - 3,39	90,20 - 169,14	< 0,05
CORP	4,35 - 1.584	< 4,70	< 3,13	37,30 - 127,24	< 0,05
RBJAT	4,35 - 419,2	4,70 - 6,85	3,13 - 3,43	41,40 - 106,16	< 0,05
CORBOT	4,35 - 413,6	4,70 - 6,76	3,13 - 4,46	1,00 - 97,24	< 0,05
RPARTUR	4,35 - 473,6	4,70 - 6,09	3,13 - 3,62	14,30 - 99,74	< 0,05
PORTUR	4,35 - 1.627	4,70 - 8,68	3,13 - 3,41	33,80 - 124,70	< 0,05
PRTURAPRP	4,35 - 563,5	4,70 - 7,67	3,13 - 3,65	51,40 - 96,82	< 0,05
RIBTOM	4,35 - 404,1	4,70 - 4,89	< 3,13	26,60 - 80,90	< 0,05
RTURARG	4,35 - 72,22	4,70 - 5,61	3,13 - 3,87	13,30 - 55,76	< 0,05
RGRANDE	4,35 - 181,7	< 4,70	3,13 - 3,68	18,54 - 40,70	< 0,05

Tabela 6. Valores mínimo e máximo dos parâmetros físico-químicos encontrados para os rios ao longo da Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande no período de Junho/2007 a Novembro/2008.

Locais de Amostragens	Chumbo/ $\mu\text{g L}^{-1}$	Cobre/ $\mu\text{g L}^{-1}$	Cromo/ $\mu\text{g L}^{-1}$	Níquel/ $\mu\text{g L}^{-1}$	Zinco/ $\mu\text{g L}^{-1}$
Resolução CONAMA 357/05	10,0	9,0	50,0	25,0	180,0
NRP	< 1,41	1,25 - 1,74	< 0,59	< 2,11	0,13 - 2,61
CAPRP	< 4,59	1,25 - 3,68	0,59 - 7,08	< 2,11	0,13 - 3,71
ETERP	1,41 - 16,54	1,25 - 94,44	0,59 - 149,1	2,11 - 73,01	0,50 - 26,67
CORFE	< 4,59	1,25 - 3,28	0,59 - 3,58	0,64 - 6,51	0,13 - 3,06
CORP	< 4,59	1,25 - 22,01	0,59 - 228,6	0,64 - 9,69	0,54 - 7,23
RBJAT	< 1,41	1,25 - 8,99	0,59 - 3,71	< 2,11	0,13 - 27,05
CORBOT	< 1,41	1,25 - 2,40	0,59 - 2,06	< 2,11	0,13 - 1,09
RPARTUR	< 1,41	1,25 - 1,65	0,20 - 2,43	< 2,11	0,13 - 1,61
PORTUR	< 1,41	1,25 - 1,75	< 0,59	< 2,11	0,13 - 4,66
PRTURAPRP	< 1,41	1,25 - 1,65	< 0,59	< 2,11	0,13 - 0,89
RIBTOM	< 1,41	1,25 - 3,43	< 0,59	< 2,11	0,13 - 1,44
RTURARG	< 1,41	1,25 - 2,12	< 0,59	< 2,11	0,13 - 0,98
RGRANDE	< 4,59	1,25 - 3,42	< 0,59	< 2,11	0,03 - 1,63

Uma interpretação quanto à variabilidade sazonal da concentração dos metais cromo, cobre, níquel e alumínio nas águas podem ser visualizados na Figura 7. Para o metal cromo, concentrações acima de $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$ foram observadas para o local ETERP nas coletas

realizadas em Junho/08 e Outubro/08, porém nas coletas de Julho/08, Agosto/08 e Novembro/08 as concentrações estiveram próximas a este valor. O mesmo ocorreu para o local CORP onde para as coletas de Junho/08 e Novembro/08 as concentrações foram superiores a $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e para a coleta no mês de Outubro/08 estiveram próximas ao valor legislado pela Resolução CONAMA 357/05 (Figura 7a). Cabe observar que estes pontos são pertencentes à rios classe 4 e, portanto, não há valor máximo permitido para o metal cromo. Assim, a discussão feita acima, e as próximas que ocorrerão no desenvolver deste trabalho, foram feitas com base em concentrações máximas permitidas para rios de classe 3. Yaymtas *et alii* (2007) encontraram valores de cromo de $229 \mu\text{g L}^{-1}$ no Córrego Kocabas, Turquia, tendo atribuído tais valores às indústrias de couros localizadas próximas ao córrego. Gowd e Govil (2008) encontraram valores de cromo de $247,2 \mu\text{g L}^{-1}$, os quais foram relacionados aos curtumes próximos à área industrial de Ranipet, Índia. Gallo *et alii* (2006) ao quantificarem cromo em diversos pontos do rio Salado, Argentina, observaram concentrações que variaram de 10 a $30 \mu\text{g L}^{-1}$, sendo que as menores concentrações foram quantificadas mais a jusante da fonte, em função do aporte de efluentes provenientes de indústrias de couro, bem como ao efeito de diluição. O local de amostragem CORP apresentou concentração máxima de cromo de $228,6 \mu\text{g L}^{-1}$ enquanto que o local ETERP (a jusante do CORP) apresentou concentração máxima de $149,1 \mu\text{g L}^{-1}$. Cabe ressaltar que uma investigação mais detalhada mereceria ser feita em estudo futuro na região quanto à origem do cromo, se natural (proveniente do solo) ou originário dos curtumes e/ou outras atividades industriais presentes na região.

Quanto ao metal cobre, as concentrações encontradas foram superiores a $13,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para o local ETERP nas coletas realizadas em Setembro/07, Maio/08, Junho/08, Agosto/08, Outubro/08 e Novembro/08 (Figura 7b). A presença de indústrias metalúrgicas que lançam seus efluentes industriais em rios ou não possuem nenhum controle das emissões gasosas são potenciais poluidoras de cobre no ambiente (Douay *et alii*, 2008). Concentrações mais elevadas de cobre são comumente encontradas no período de chuva (Majagi *et alii*, 2008), mas em período de seca Farag *et alii* (2007) encontraram concentrações de até $140 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre em águas do rio Jack Creek, Estados Unidos. Concentrações máximas de $94,44 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre foram observadas para o local de amostragem ETERP.

Na Figura 7c pode ser observado que as concentrações de níquel foram superiores a $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para o ponto ETERP nas coletas feitas em Setembro/07, Maio/08, Junho/08, Julho/08, Outubro/08 e Novembro/08. Assim é possível verificar que os metais cromo, cobre e níquel estão em concentrações elevadas para os pontos ETERP e CORP principalmente no período de seca, indicando a presença de fontes pontuais para estes metais. Indústrias

metalúrgicas e/ou mineradoras empregam o metal níquel comumente nos processos industriais, onde concentrações de até $742 \mu\text{g L}^{-1}$ podem ser encontradas em águas de rios próximos a mineradoras (Nieto *et alii*, 2007). O local de amostragem ETERP apresentou concentrações máximas de níquel de $73,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

Um ponto importante a destacar é que os parâmetros CE, STD e COT (dados não apresentados) variaram em função da sazonalidade para os pontos ETERP e CORP, sendo encontrado em concentrações maiores nos períodos de seca, indicando que o aporte destes contaminantes são oriundos de fontes pontuais.

Nas coletas de Julho/07 a Dezembro/07 os valores das concentrações de alumínio para os pontos amostrados estiveram em conformidade com o valor legislado, $200 \mu\text{g L}^{-1}$ (Figura 7d). Já para as coletas realizadas em Fevereiro/08, Maio/08 e Junho/08, a maioria das amostras apresentaram concentrações superiores a permitida por lei, com exceção dos locais de amostragem como o RGRANDE 5, NRP 5, CAPRP 5, ETERP 7, RTURGRA 7, NRP 7, RGRANDE 8, PORTUR 8, RTURGRA 8, NRP 8 e CORBOT 8. Os resultados da Figura 9d indicaram que no mês de maior pluviosidade (Fevereiro/08 – 203,1 mm de pluviosidade) foi obtida a maior concentração de alumínio, sugerindo que este metal é proveniente de fontes difusas (escoamento superficial da BHTG). Alguns autores têm atribuído a presença de alumínio e outros metais a fontes difusas. Okonkwo *et alii* (2005) observaram em trabalhos de monitoramento realizado nos rios Madanzhe, Mvudi e Dzindi, África do Sul, que as concentrações de metais como Al, Cd, Cu, Pb e Zn são maiores em período de chuva quando comparado com o de seca. Já Jordão *et alii* (2007) e Macdonald (2007) atribuíram um aumento da concentração de alumínio em águas de regiões onde os solos são caracteristicamente ácidos ($\text{pH} < 4$), ao carreamento destes por meio das águas das chuvas.

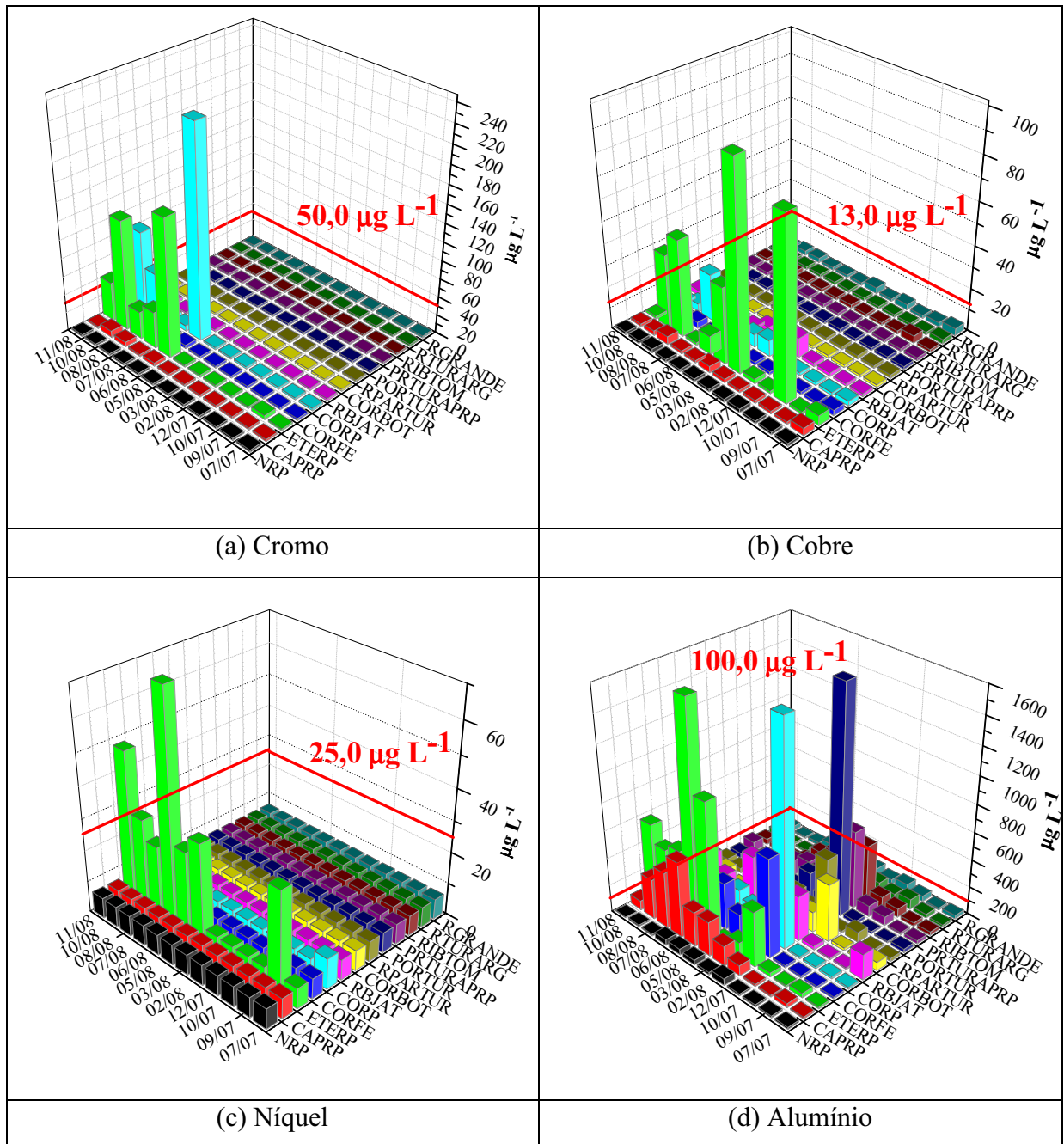


Figura 7. Gráficos da variação da concentração dos metais em função dos meses de coleta, para os 13 locais de amostragem, no período de Junho/2007 a Novembro/2008, para os metais (a) cromo, (b) cobre, (c) níquel e (d) alumínio. Concentrações em $\mu\text{g L}^{-1}$ e linha vermelha destacando a concentração máxima permitida pela Resolução CONAMA 357/2005.

5.3 Análise de Componentes Principais

Tendo em vista a quantidade de dados gerados (13 locais de amostragem em 12 meses diferentes e 16 parâmetros físico-químicos) foi empregada a ferramenta estatística Análise de Componentes Principais (PCA) para melhor visualização e interpretação dos resultados. A escolha do número das Componentes Principais (CP) foi feita observando os autovalores e as

porcentagens de variância onde há a maior variação possível, evitando assim informações desnecessárias.

A CP1 correspondeu a 33,9% da variância dos dados e a CP2 corresponde a 11,7%, totalizando 45,6% da variância dos resultados (Figura 8). As variáveis (parâmetros) mais significativas foram escolhidas tomando-se por base valores em módulo superiores a 0,25.

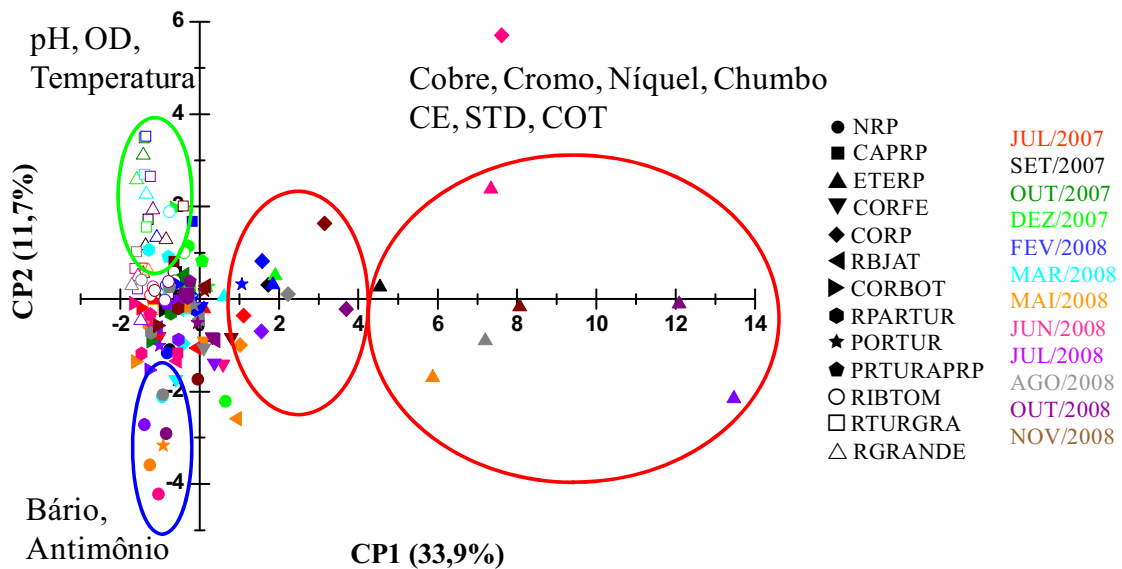


Figura 8. Gráfico dos escores para a Componente Principal 1 (CP1) e para a Componente Principal 2 (CP2).

Na Figura 8 são observados quatro grupos separados em função dos locais de amostragem e período de coleta. Dois grupos estão localizados na CP1 (destacados em vermelho), deslocados para o lado positivo e correspondem aos locais ETERP e CORP, para as coletas realizadas no período de Maio/08 a Novembro/08. Estes grupos são influenciados pelos parâmetros cobre, cromo, níquel, chumbo, CE, STD e COT. Ambos os pontos citados são corpos aquáticos receptores de efluentes domésticos, como já dito anteriormente, e, também, de efluentes industriais, comprovando tal fato pela presença dos metais cobre, cromo e níquel.

Um outro grupo destacado em verde pode ser visto na Figura 8, sendo deslocado para o lado positivo da CP2 e corresponde aos locais de amostragens RTURARG e RGRANDE os quais são influenciados pelos parâmetros OD, temperatura e pH para as coletas realizadas no período de Dezembro/07 a Março/08, período este referente a época chuvosa. Como dito anteriormente, concentrações de OD acima da concentração de saturação foram observadas para estes locais.

Na Figura 8 ainda é possível verificar um quarto grupo destacado em azul (deslocado para o lado negativo da CP2) o qual corresponde ao local de amostragem NRP sendo este

influenciado por antimônio e bário para as coletas realizadas nos períodos de seca (Maio/08 a Outubro/08). Este comportamento parece ser atípico uma vez que uma possível fonte de antimônio no ambiente é proveniente do escoamento superficial agrícola, conforme apontado por Wagner *et alii* (2003).

5.4 Extração das substâncias húmicas aquáticas

5.4.1 Eficiência da resina XAD 7

De acordo com o método oficial recomendado pela IHSS deve-se empregar resina XAD 8, a qual teve seu uso descontinuado, não sendo mais comercializada quando do início do trabalho. Desta maneira, antes da utilização da resina XAD 7 fez-se um estudo da eficiência da mesma na extração das SHA.

As soluções de SHA preparadas foram identificadas como A1, A2 e A3 (triplicata) seguido do valor de pH. Na eluição das SHA da resina foi obtido cerca de 100 mL de cada solução. Assim, tendo em vista que foi passado um volume de 800 mL, houve uma concentração de 8 vezes. Os valores de COT para as soluções iniciais (antes de passar pela resina), para o líquido de descarte (resíduo que sai da resina) e para as soluções eluídas estão mostrados na Tabela 7, bem como os valores esperados considerando a concentração de 8 vezes das soluções, e as recuperações obtidas correspondentes. A média das três recuperações foi de 97,3%, mostrando que a resina XAD 7 pode ser empregada para extração de SHA no lugar da resina XAD 8. Estes resultados corroboram com os obtidos por Aiken *et alii* (1979), onde estes encontraram eficiência de eluição de ácidos fúlvicos de 98% para as resinas XAD 7 e 8.

Tabela 7. Valores de COT medidos para as soluções de SHA eluídas, bem como valores de COT esperados e porcentagens de recuperações correspondentes para as três soluções de SHA.

Amostras	Valores do COT medidos (mg L ⁻¹)	Valores de COT esperados (mg L ⁻¹)	Recuperações (%)
A1pH6,1	26,50	31,04	85
A2pH6,6	33,86	32,40	95
A3pH5,6	36,59	37,68	97

5.5 Caracterização das substâncias húmicas aquáticas

A caracterização das SHA extraídas das águas do Rio Preto foi feita por meio de espectros de UV/Vis e espectros de fluorescência molecular. Na Figura 9 está apresentado o espectro de UV/Vis para a amostra de SHA extraídas das águas do Rio Preto.

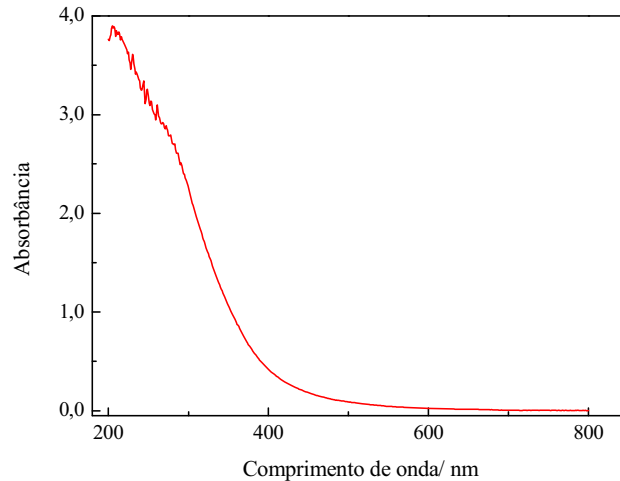


Figura 9. Espectro de varredura de 200 a 800 nm obtidos empregando-se espectrofotômetro de UV/Vis para a amostra de SHA extraídas das águas do Rio Preto.

As razões E_2/E_3 , E_3/E_4 e E_4/E_6 foram calculadas utilizando-se dos valores de absorvâncias nos comprimentos de onda de 254, 365, 300, 400, 465 e 665 nm a fim de se avaliar a estrutura molecular das SHA. Uma vez que compostos de maior massa molecular (característica de estruturas contendo grupos aromáticos) absorvem radiação eletromagnética em comprimentos de onda maiores, quanto maior forem os valores encontrados para as razões, menor será o grau de condensação molecular (anéis aromáticos) e, portanto, menor a conformação condensada das SHA (Zara *et alii*, 2006; Abaté, 1998). Cabe ressaltar que a estrutura molecular das SHA se altera em função do pH e outros fatores como força iônica e concentração de SHA (Zara *et alii*, 2006). A razão E_4/E_6 calculada foi de 11,9. Valores acima de 5,0 encontrados na razão E_4/E_6 podem ser atribuídos à presença de compostos orgânicos com grupos alifáticos em evidência (Azevedo e Nozaki, 2008). Os valores das razões E_2/E_3 e E_3/E_4 calculadas foram de 3,8 e 5,4, respectivamente. Quanto à estas razões, valores maiores que 3,0 estão também associados a um menor grau de condensação molecular, indicando a presença de compostos alifáticos (Sloboda 2007). Vale ressaltar que os ácidos fúlvicos são compostos de cadeias menores, com estruturas predominantemente alifáticas, com teores de oxigênio maiores e, portanto, com grupos funcionais carboxilas (COO^-) e hidroxilas (OH^-). Portanto, para as SHA extraídas das águas do Rio Preto pode se concluir, com base na caracterização por UV/Vis, que são constituídas principalmente de compostos com grupos predominantemente alifáticos.

Os espectros de fluorescência molecular são utilizados para acompanhar diferentes estruturas orgânicas presentes nas SHA. Na Figura 10 estão apresentados os espectros de

fluorescência molecular no modo emissão (Figura 10a) e no modo sincronizado (Figura 10b). De acordo com a Figura 10a apresentada é possível verificar um sinal máximo de fluorescência em 436 nm, o qual corresponde à estrutura de ácidos fúlvicos.

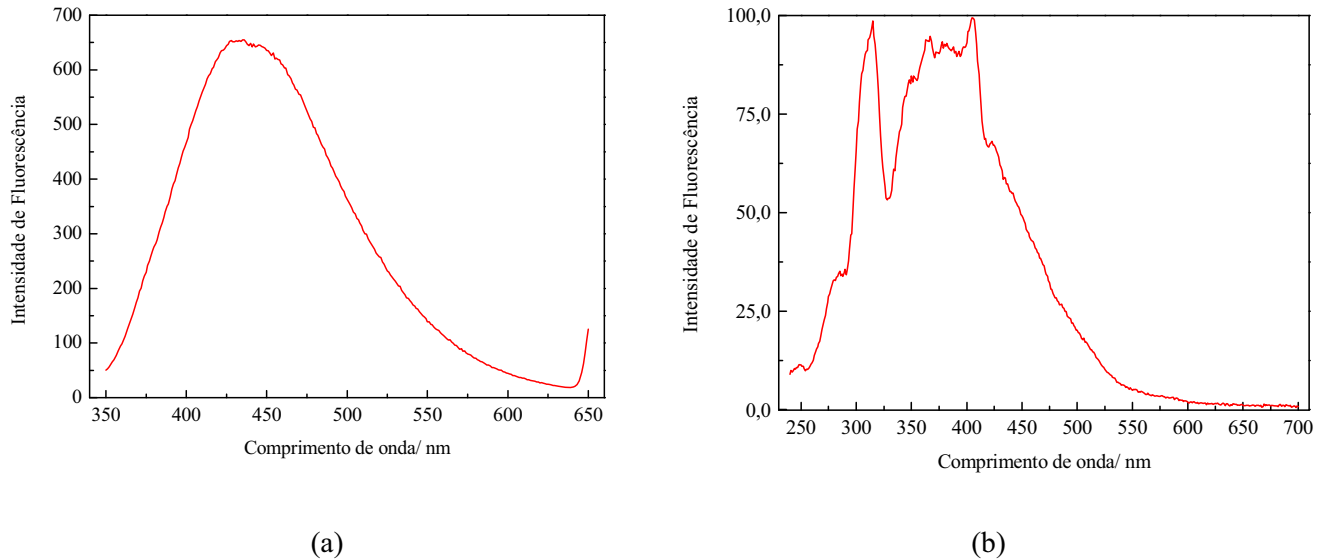


Figura 10. a) Espectros de fluorescência molecular no modo emissão (350-650, λ_{exc} 332 nm) e b) no modo sincronizado (240-700, $\Delta\lambda$ 18 nm), para as SHA extraídas do Rio Preto.

No espectro apresentado na Figura 10b existem intensidades de fluorescência máxima na faixa de 300-330 nm e 350-430 nm, os quais estão associados à naftalenos e seus derivados e a presença de compostos contendo predominantemente hidrocarbonetos policíclicos aromáticos com 5 anéis conjugados. Porém cabe salientar que alguns substituintes, como carbonilas, tendem a deslocar a fluorescência para comprimentos de onda maiores (Peuravuori, 2002). Peuravuori *et alii* (2002) e Ferrari e Mingazzini (1995) empregaram fluorescência sincronizada para avaliar diferentes estruturas orgânicas em frações diferentes de substâncias húmicas aquáticas separando regiões espectrais as quais evidenciam cada uma a presença de determinados compostos orgânicos. Na Tabela 8 estão mostrados as faixas de comprimentos de onda e os constituintes orgânicos correspondentes observados pelos autores citados anteriormente e obtidas neste trabalho.

Tabela 8. Faixas de comprimentos de onda e respectivos constituintes orgânicos observados por Peuravuori *et alii* (2002), Ferrari e Mingazzini (1995) e este trabalho para espectros de fluorescência no modo sincronizado.

Comprimentos de onda	Compostos orgânicos	Referência
260 a 302 nm	Aminoácidos aromáticos e Ácidos voláteis	Peuravuori <i>et alii</i> , 2002
302 a 340 nm	Naftalenos e seus derivados	Peuravuori <i>et alii</i> , 2002
340 a 370 nm	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos com 3 ou 4 anéis conjugados	Peuravuori <i>et alii</i> , 2002
370 a 420 nm	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos com 5 anéis conjugados	Peuravuori <i>et alii</i> , 2002
438 a 487 nm	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos com 7 anéis conjugados	Peuravuori <i>et alii</i> , 2002
370 a 400 nm	Ácidos Fúlvicos	Ferrari e Mingazzini, 1995
Acima de 470 nm	Ácidos Húmicos	Ferrari e Mingazzini, 1995
300 a 330 nm	Naftalenos e derivados	Este trabalho
350 a 430 nm	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos com 5 anéis conjugados	Este trabalho

A caracterização de substâncias húmicas aquáticas também podem ser feitas empregando espectros de fluorescência na modalidade matriz excitação-emissão (MEE) (Provenzano, 2004; Plaza, 2006; Azevedo e Nozaki, 2008; Trubetskoj, 2009). Trubetskoj *et alii* (2009) observaram dois sinais de fluorescência máximas típicos de SHA sendo um em $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 230/440 nm e outro em $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 330/440 nm. Mounier *et alii* (1999) caracterizaram as SHA do Rio Amazonas utilizando espectros de fluorescência modo MEE e diferenciaram intensidades de fluorescência correspondentes aos ácidos húmicos ($\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ = 330/445 nm) e aos ácidos fúlvicos ($\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ = 260/445 nm), porém como a estrutura das SHA varia de acordo com as características ambientais de cada região ainda não há uma definição quanto a estes sinais de fluorescência. Sierra *et alii* (2005) avaliaram espectros de ácidos fúlvicos e húmicos de referência fornecidos pela IHSS (Suwannee River) e associaram as intensidades de fluorescência máximas em $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 320/450 nm e em $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 255/455 nm aos ácidos fúlvicos e em $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 330/470 nm e em $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 260/485 nm aos ácidos húmicos.

Observando a Figura 11 é possível identificar uma intensidade máxima de fluorescência em $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 250/425 nm e em $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 340/430 nm, os quais corresponderiam aos ácidos fúlvicos e ácidos húmicos, respectivamente. Ressalta-se que a intensidade máxima de fluorescência em $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 250/425 nm pode ser atribuída aos ácidos fúlvicos que apresentaram maior intensidade de fluorescência que os ácidos húmicos.

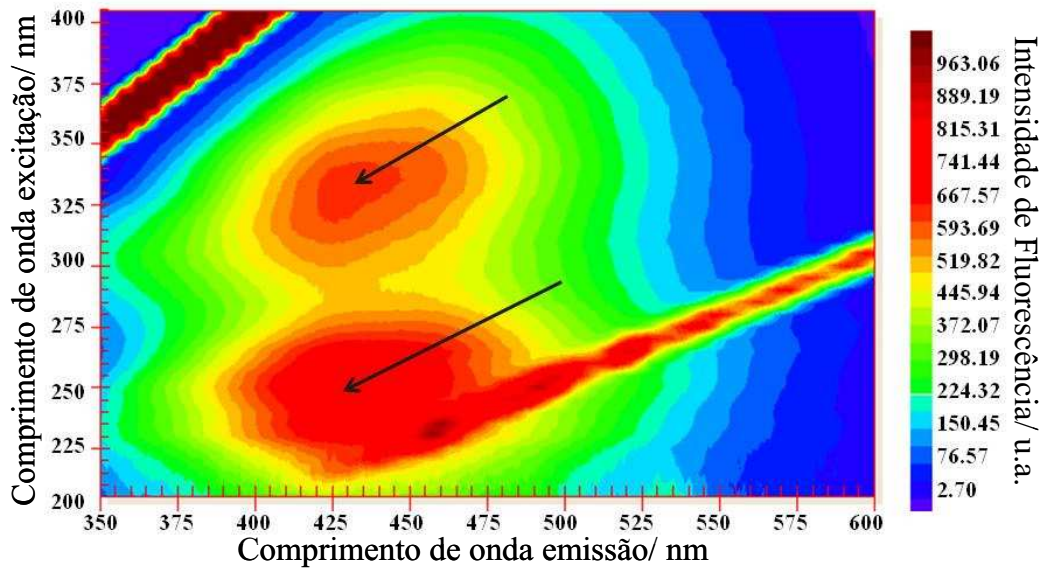


Figura 11. Espectro de fluorescência no modo Matriz Emissão-Excitação (MEE) para as SHA extraídas das águas do Rio Preto.

5.6 Estudos de capacidade de complexação dos metais alumínio, cromo (VI), cromo (III) e níquel com SHA do Rio Preto.

5.6.1 Tempo de complexação

Em estudos de capacidade de complexação, o tempo é um fator determinante, pois atua diretamente no tempo de equilíbrio da complexação entre as SHA e os metais. Sendo assim, foram feitos experimentos para avaliar o tempo necessário para a estabilização do complexo SHA-Metal. Para isto espectros de fluorescência no modo emissão e no modo sincronizado foram obtidos de tempos em tempos até a intensidade de fluorescência ficar estável. Na Figura 12 estão apresentados os comportamentos obtidos para os metais alumínio, cromo e níquel. Observa-se que a intensidade de fluorescência começa a estabilizar a partir de 30 minutos de agitação para o complexo SHA-Alumínio. O mesmo tempo de agitação é necessário no modo sincronizado para o complexo SHA-Níquel, porém para o modo emissão um tempo de agitação de 20 minutos seria suficiente. Para o complexo SHA-Cromo a estabilização da intensidade de fluorescência aconteceu para um tempo de agitação de 20 minutos. Desta maneira, nos estudos realizados foram empregados os tempos de 30 minutos para o complexo SHA-Alumínio e 20 minutos para os complexos SHA-Cromo e SHA-Níquel.

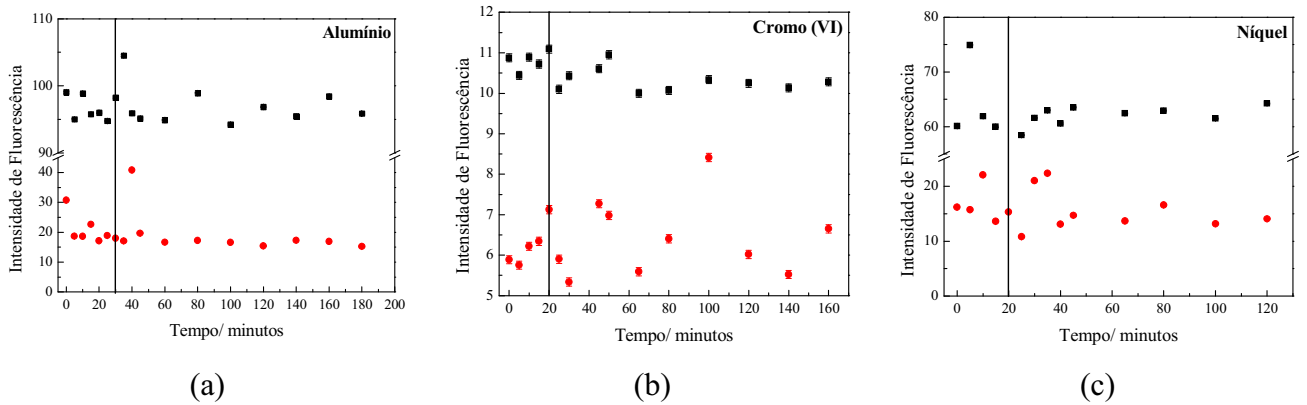


Figura 12. Determinação do tempo de complexação necessário para estabilizar o sinal de emissão de fluorescência correspondente aos complexos (a) SHA-Alumínio, (b) SHA-Cromo (VI) e (c) SHA-Níquel.

5.6.2 Capacidade de complexação SHA-Alumínio

As SHA são compostos que possuem a capacidade de emitir fluorescência quando excitados pela radiação eletromagnética devido a sua composição orgânica com anéis aromáticos conjugados. A interação das SHA com metais provoca, na maioria das vezes, a diminuição/supressão da intensidade de fluorescência inicial. Para alguns metais esta interação pode também promover um acréscimo na fluorescência, como no caso do metal alumínio (Sharpless *et alii*, 1999).

Espectros de fluorescência no modo emissão e sincronizado foram avaliados nos estudos de capacidade de complexação. Na Figura 13 estão apresentados os espectros no modo emissão (a) e sincronizado (b) para os estudos de capacidade de complexação das SHA-Alumínio, com as respectivas concentrações de metal adicionadas.

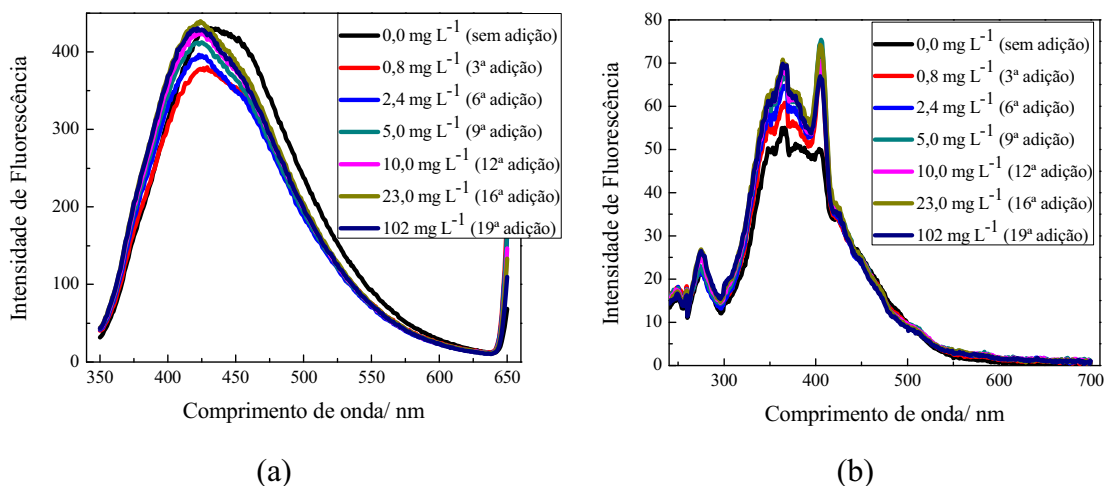


Figura 13. Espectros de fluorescência nos modos emissão (a) e sincronizado (b) obtidos na titulação de alumínio com SHA.

O primeiro fato que cabe observar é que nas primeiras adições feitas de alumínio a intensidade de fluorescência no modo emissão diminuiu (Figura 13a). Em seguida, ao adicionar mais alíquotas de alumínio o sinal de fluorescência aumentou até se estabilizar e não mais se alterar com adições do metal (Figura 13a). Comportamento semelhante quanto ao aumento da fluorescência foi observado nos espectros obtidos no modo sincronizado (Figura 13b). Sharpless *et alii* (1999) encontraram comportamento semelhante quando avaliaram a capacidade de complexação do alumínio com substâncias húmicas de origem aquática. Segundo estes mesmo autores a diminuição da intensidade do sinal de fluorescência com a adição de metal é comum quando as substâncias húmicas tem origem terrestre. Outro ponto que vale ser notado é o fato do sinal de fluorescência máxima de emissão (431 nm para as SHA sem adição de metal) ser um pouco deslocado para comprimentos de onda menores (422 nm) no espectro de emissão. Elkins *et alii* (2001) observaram um aumento de 142% na intensidade de fluorescência de emissão quando Al^{+3} foi adicionado ao ácido fúlvico extraído de águas de rio. Estes mesmos autores também evidenciaram um deslocamento do comprimento de onda de emissão de 440 para 424 nm, da mesma forma que também observaram um deslocamento do comprimento de onda de excitação de 324 para 344 nm. Estes deslocamentos foram associados a uma forte interação do alumínio e devido sua alta densidade de carga o que acaba por alterar significativamente a estrutura eletrônica do ácido fúlvico. Já no espectro sincronizado as intensidades de fluorescência máxima foram observadas nos comprimentos de onda de 366 nm e 406 nm, onde compostos com 5 anéis aromáticos estão presentes.

As intensidades máximas de fluorescência em função das concentrações de alumínio para os modos emissão e sincronizado estão apresentados na Figura 14. Pode-se observar que ocorre um acréscimo no sinal de fluorescência com a adição de alumínio. A estabilidade do complexo SHA-Alumínio é alcançada quando cerca de 23 mg L^{-1} do metal foi adicionado.

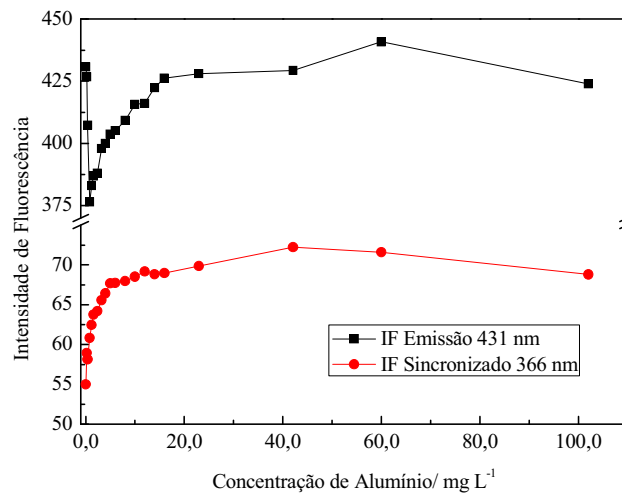


Figura 14. Curva das intensidades máximas de fluorescência obtidas nos modos emissão e sincronizado para o complexo SHA-Alumínio.

O cálculo da constante de estabilidade condicional (K_C) não pode ser aplicado para o complexo SHA-Alumínio, pois o modelo de Stern-Volmer somente é aplicável quando há supressão do sinal de fluorescência. O conhecimento da constante de estabilidade condicional está intimamente relacionado com a estabilidade de formação do complexo SHA-Metal e conseqüentemente, ao seu importante papel no seqüestro e manutenção da disponibilidade do metal. Elkins *et alii* (2001) encontraram valores de K_C de $4,67 \cdot 10^4$ para amostras de ácidos fúlvicos do rio Suwannee para pH 4,0, sendo este valor considerado elevado.

5.6.3 Capacidade de complexação SHA-Cromo (VI)

Os espectros de fluorescência no modo emissão e sincronizado obtidos neste experimento estão mostrados na Figura 15a,b, bem como as concentrações de cromo (VI) adicionadas. Em ambos os espectros houve supressão do sinal de fluorescência com o aumento da adição do metal. No espectro de emissão o sinal de fluorescência máximo foi obtido em 429 nm (Figura 15a), não havendo nenhum deslocamento para comprimento de onda menores ou maiores. Já no espectro sincronizado três sinais máximos de fluorescência apareceram em 280 nm, 368 nm e 406 nm (Figura 15b). Cabe ressaltar que as intensidades máximas de fluorescência em 280 nm e 368 nm, diminuiriam gradativamente com a adição de metal, sugerindo que o cromo (VI) deve interagir primeiro com os compostos do tipo aminoácidos aromáticos e ácidos voláteis de estrutura alifática (280 nm), seguido daqueles com grupos cromóforos que contém de 3 a 4 anéis aromáticos conjugados (368 nm). Cabe esclarecer que o pH da solução foi mantido em torno de 6,8 para garantir que não houvesse a

redução do cromo (VI) para o cromo (III), uma vez que é conhecido que as SHA são redutoras de cromo (VI) em pH ácidos (Romão *et alii*, 2002).

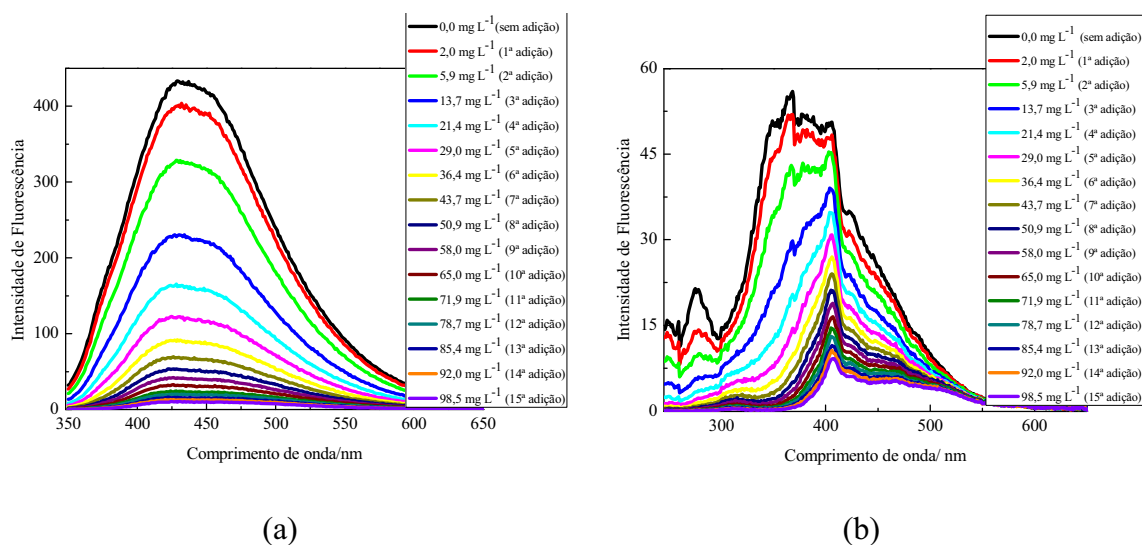


Figura 15. Espectros de fluorescência nos modos emissão (a) e sincronizado (b) obtidos na titulação de cromo (VI) com SHA.

As curvas de supressão da intensidade do sinal de fluorescência estão ilustradas na Figura 16, onde pode se comprovar o decréscimo gradativo nas intensidades de fluorescência até a estabilização do sinal.

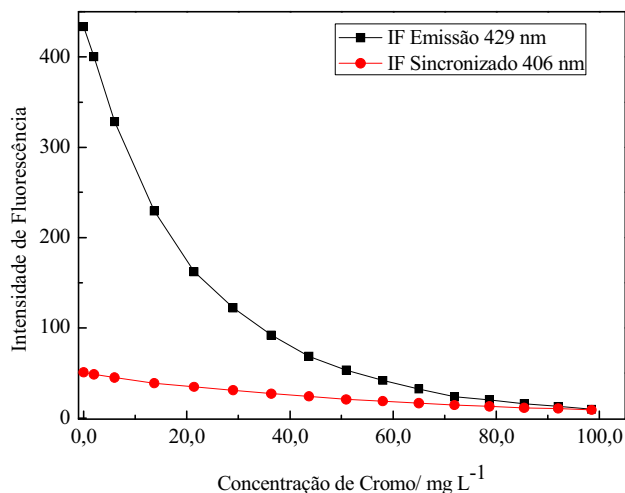


Figura 16. Curvas de supressão de fluorescência nas modalidades emissão e sincronizado para o complexo SHA-Cromo (VI).

A constante de estabilidade condicional K_C foi calculada aplicando o modelo de Stern-Volmer (Lakowicz, 1999). Assim um gráfico de $1/[\text{Cromo (VI)}]$ versus $I_0/(I_0-I)$ foi construído para os resultados obtidos nos espectros de emissão e sincronizado (Figura 17). A

partir da linearização foi possível encontrar o valor de K_C . O valor de K_C para o complexo SHA-Cromo (VI) foi de $2,6 \cdot 10^{-2}$ tanto no modo emissão quanto no modo sincronizado.

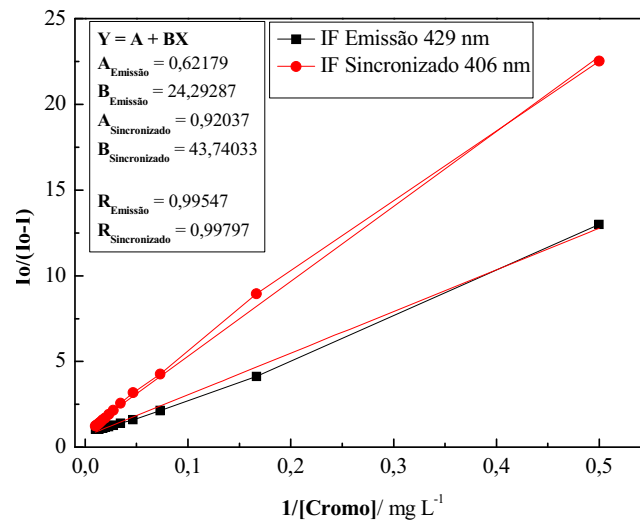


Figura 17. Curvas de linearização das intensidades de fluorescência nos modos emissão e sincronizado para o cálculo de K_C utilizando o modelo Stern-Volmer (Lakowicz, 1999).

5.6.4 Capacidade de complexação SHA-Cromo (III)

Os espectros de fluorescência nos modos emissão e sincronizado obtidos neste experimento estão mostrados na Figura 18a,b, bem como as concentrações de cromo (III) adicionadas. No modo emissão (Figura 18a) houve inicialmente um aumento na intensidade de fluorescência com as primeiras adições do metal, em seguida, conforme mais metal foi sendo adicionado, a intensidade de fluorescência foi suprimida até sua estabilização. Já no modo sincronizado (Figura 18b) houve um acréscimo na intensidade de fluorescência desde as primeiras adições do metal cromo (III) até a estabilização da mesma. As intensidades máximas de fluorescência ocorreram no comprimento de onda de 429 nm e 406 nm para os modos emissão e sincronizado, respectivamente. Sargentini *et alii* (2001) ao estudarem a complexação de SHA extraídas do Rio Negro (Brasil) com íons metálicos observaram que após a adição dos metais ocorre um rearranjo inter e/ou intramolecular responsável pela estabilização do complexo em função do tempo. Em um primeiro momento, o metal é complexado com grupos mais externos da molécula de substâncias húmicas e com o aumento do tempo de complexação, o metal tende a se complexar em estruturas mais internas da molécula, sendo mais difícil a disponibilização dos metais para as águas.

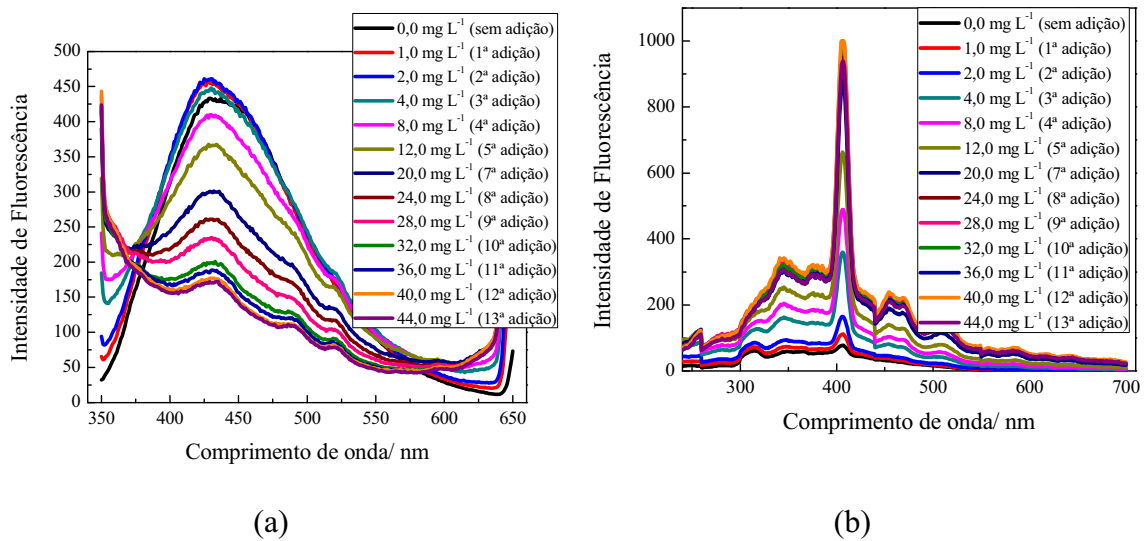


Figura 18. Espectros de fluorescência nos modos emissão (a) e sincronizado (b) obtidos na titulação de cromo (III) com SHA.

As curvas de supressão da intensidade do sinal de fluorescência estão ilustradas na Figura 19, onde pode se observar comportamentos distintos para o modo emissão e para o modo sincronizado.

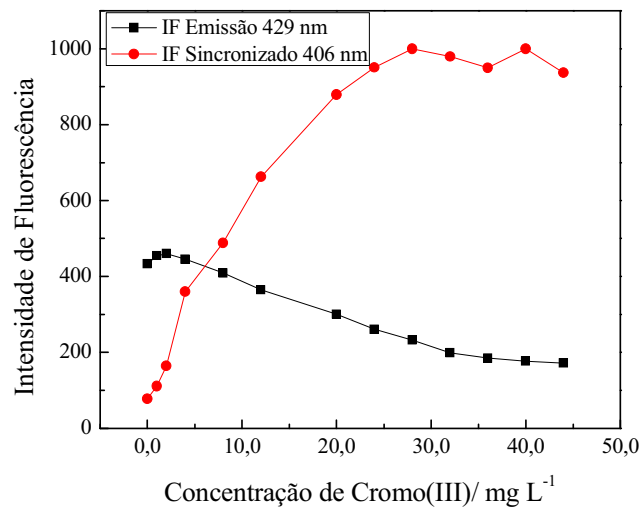


Figura 19. Curvas de supressão de fluorescência nas modalidades emissão e sincronizado para o complexo SHA-Cromo (III).

A constante de estabilidade condicional K_C foi calculada aplicando o modelo de Stern-Volmer (Lakowicz, 1999). Assim um gráfico de $1/[Cromo (III)]$ versus $I_0/(I_0-I)$ foi construído para os resultados obtidos apenas no espectro de emissão, uma vez que o espectro no modo sincronizado não houve a supressão do sinal de fluorescência e sim um acréscimo (Figura 20). A partir da linearização foi possível encontrar o valor de K_C . O valor de K_C para

o complexo SHA-Cromo (III) foi de $5,8 \cdot 10^{-3}$. Vale ressaltar que o valor de K_C para as SHA do rio Preto com a espécie cromo (VI) foi de $2,6 \cdot 10^{-2}$.

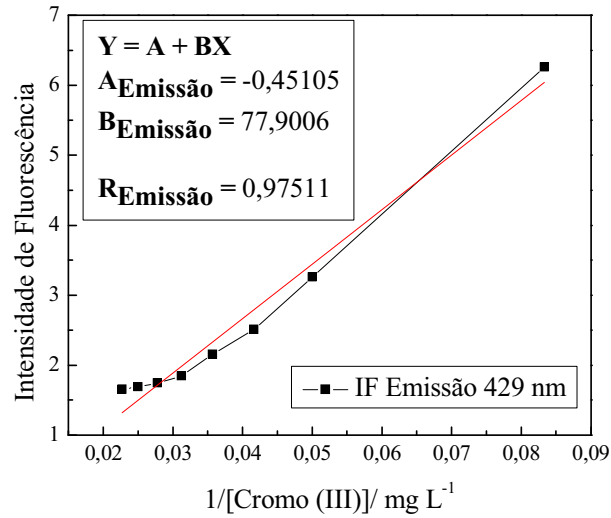


Figura 20. Curva de linearização da intensidade de fluorescência no modo emissão para o cálculo de K_C utilizando o modelo Stern-Volmer (Lakowicz, 1999).

5.6.5 Capacidade de complexação SHA-Níquel

No espectro de emissão (Figura 21a) o sinal de fluorescência máximo ocorreu em 430 nm. Não houve nenhum deslocamento de sinal conforme o metal foi sendo adicionado. No espectro sincronizado (Figura 21b) três sinais de fluorescência máximos podem ser visualizados, (280, 364 e 405 nm). Como já discutido anteriormente, o sinal de fluorescência em 364 nm está na região onde estruturas contendo de 3 a 4 anéis aromáticos estão presentes e o sinal em 405 nm corresponde a estruturas com 5 anéis aromáticos (Peuravuori *et alii*, 2002). Cabe observar que de modo semelhante ao cromo o sinal de fluorescência em 280 nm foi suprimido com a adição do metal.

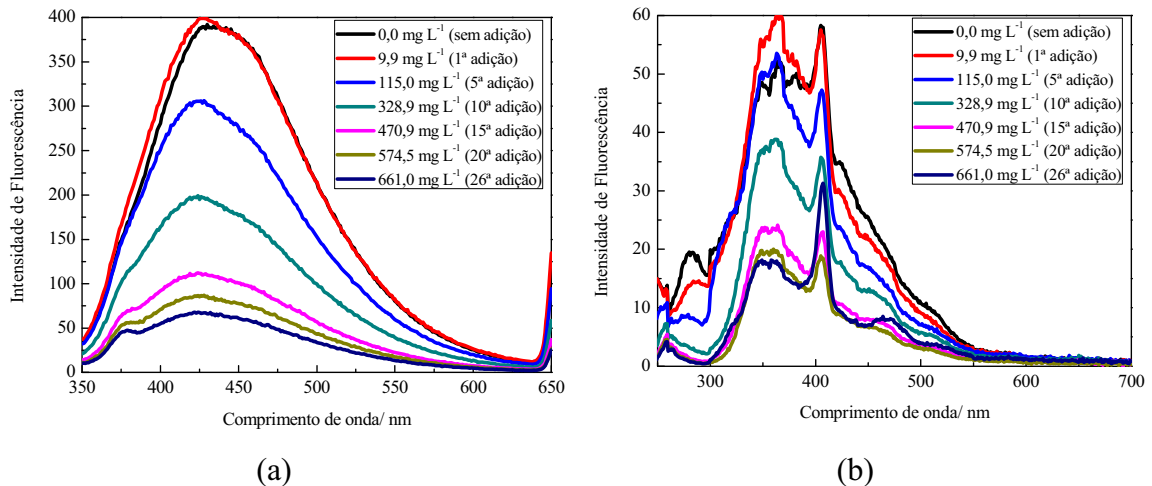


Figura 21. Espectros de fluorescência nos modos emissão (a) e sincronizado (b) obtidos na titulação

de níquel com SHA extraídas do Rio Preto.

As curvas de supressão de fluorescência para os modos de emissão e sincronizado na titulação de níquel estão mostradas na Figura 22, onde pode se verificar a diminuição da intensidade de fluorescência conforme a adição do metal. No gráfico é possível evidenciar a diferença na complexação das SHA com o cromo (VI) (Figura 16), uma vez que as curvas do níquel são menos acentuadas.

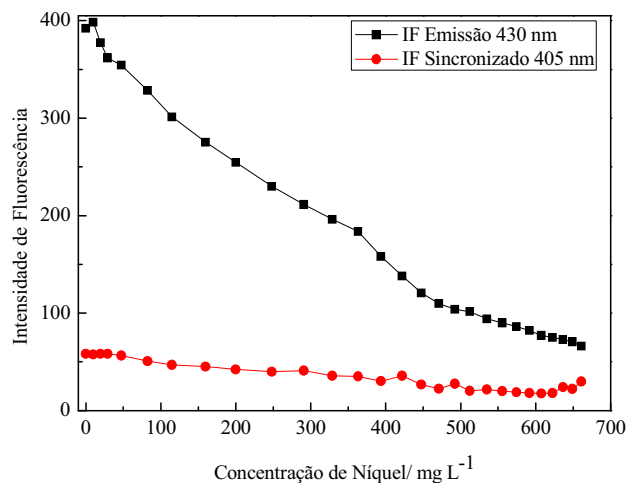


Figura 22. Curvas de supressão de fluorescência nas modalidades emissão e sincronizado para o complexo SHA-Níquel.

O valor da constante de estabilidade condicional foi calculado segundo o modelo de Stern-Volmer (Lakowicz, 1999). Assim a linearização do gráfico de $1/[Níquel]$ versus $I_0/(I_0 - I)$ forneceu valores de coeficientes angular e intersecção os quais foram utilizados para o cálculo de K_c (Figura 23). Os valores de K_c para o complexo SHA-Níquel foi de $1,1 \cdot 10^{-5}$ ($\log K_c = 4,95$) para o modo emissão e de $7,1 \cdot 10^{-4}$ ($\log K_c = 3,15$) para o modo sincronizado. Silva *et alii* (1998) ao estudarem a complexação de níquel em SH extraídas de folhas encontraram valores de $\log K_c$ de 4,09.

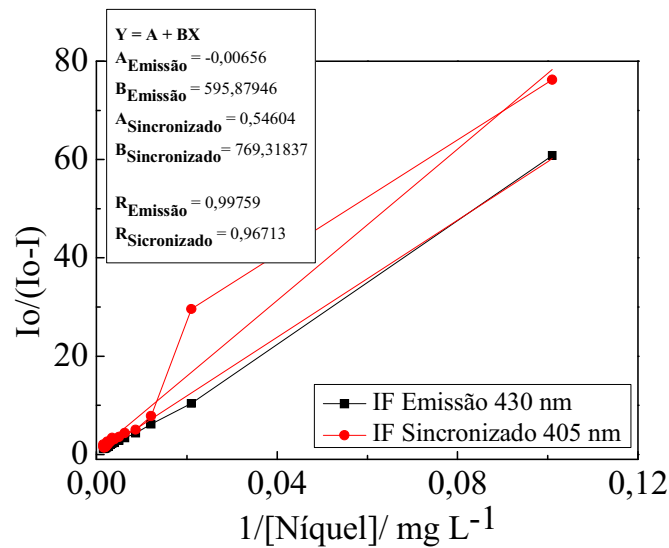


Figura 23. Curvas de linearização das intensidades de fluorescência nos modos emissão e sincronizado para o cálculo de K_C utilizando o modelo Stern-Volmer.

5.7 Experimentos em microcosmos para avaliar o efeito da radiação solar na capacidade de complexação das SHA com os metais alumínio, cromo (VI), cromo (III) e níquel

Alguns estudos já demonstraram que a radiação solar é capaz de degradar a matéria orgânica natural (Tzortziou *et alii*, 2007; Gonsior *et alii*, 2009) e interferir na interação destas com metais. Porém estudos com a mesma temática com as SHA são pouco abordados na literatura. Os experimentos realizados neste trabalho foram conduzidos de maneira a simular as condições ambientais que um corpo aquático sofre durante o dia, como exposição à radiação solar, temperatura, movimentação das águas, entre outros. Desta maneira, as garrafas PET contendo as SHA e os metais foram levadas em campo onde foram mantidas a 30 cm de profundidade nas águas do Rio Preto de maneira a garantir que as amostras estivessem expostas as mesmas condições de temperatura e radiação solar que o corpo aquático em questão. A Figura 24 ilustra um espectro de absorvância do material da garrafa PET onde pode ser observado que este material absorve em comprimentos de onda abaixo de 330 nm, permitindo a passagem da radiação na região do visível.

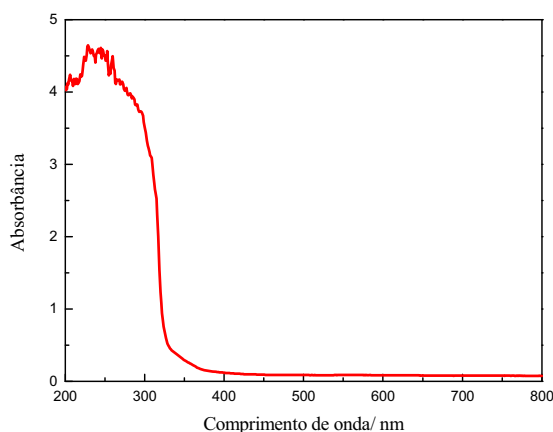


Figura 24. Espectro de varredura de 200 a 800 nm obtido do material das garrafas PET utilizando um espectrofotômetro UV-Vis.

Durante os experimentos dados como a temperatura da água e intensidade de radiação ultravioleta (IUV) foram monitorados. A temperatura da água para o Experimento 1 foi medida logo às 8:30 (24°C) da manhã quando as garrafas foram colocadas. Em seguida, a temperatura foi novamente medida às 12:30 (29°C) quando foi retirado uma parte das garrafas e às 18:00 (30°C) quando o restante das garrafas foi retirado. A temperatura da água para o Experimento 2 foi de 20°C às 8:00 e 28°C às 18:05. Os dados de IUV para os dois experimentos acessados por meio do site do CPTEC, o qual não realiza o monitoramento de hora em hora, estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Dados de intensidades de radiação ultravioleta obtidos junto ao CPTEC no dia 14 de novembro de 2009 (Experimento 1) e no dia 7 de maio de 2010 (Experimento 2) para a cidade de São José do Rio Preto.

Experimento	IUV	Categoria do nível de IUV
1	1-10	Muito leve – Muito alto
2	1-6	Muito leve - Alto

Um controle para cada experimento foi mantido no laboratório para fins comparativos. As SHA sem adição de metal foram expostas em campo com e sem radiação, bem como foi feito um controle de laboratório. Na Figura 25a,b estão apresentados os espectros de fluorescência nos modos emissão e sincronizado mostrando o comportamento para as SHA para o Experimento 1. Pode ser observado que para as amostras contendo apenas SHA expostas à radiação solar houve uma diminuição na intensidade de fluorescência de 13% após 10 horas de exposição. Comportamento não observado para as mesmas amostras mantidas no

escuro (Figura 25a), o que reforça o papel da radiação solar na capacidade de complexação das SHA com metais. No modo sincronizado (Figura 25b) o mesmo comportamento foi observado com diminuição de 16%.

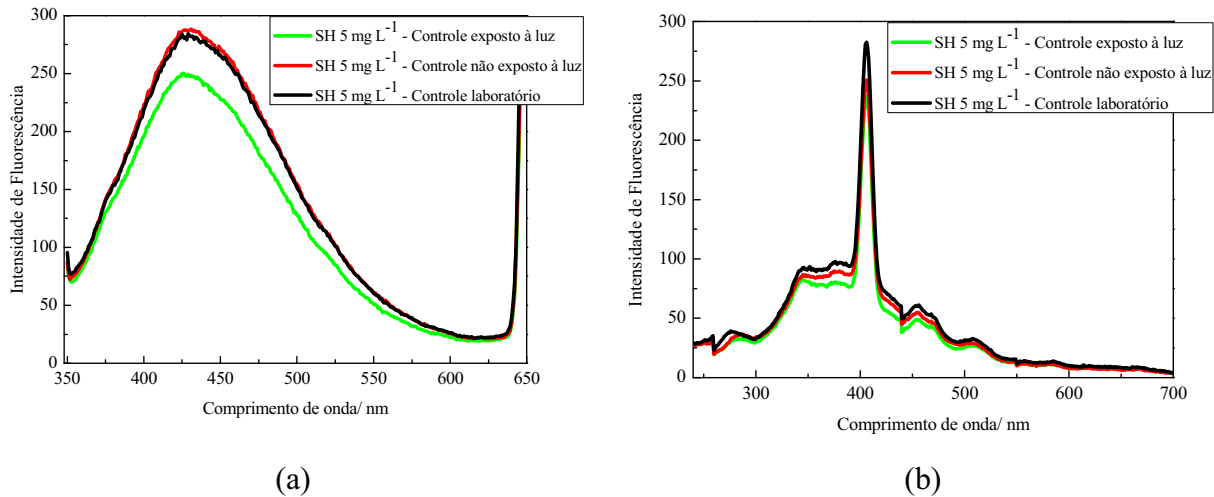


Figura 25. Espectros de fluorescência nos modos emissão (a) e sincronizado (b) para as SHA controle, exposta a radiação solar e não exposta a radiação solar.

Perdas na intensidade de fluorescência devido à exposição à radiação, seja natural ou artificial, foram observadas por outros autores para a matéria orgânica dissolvida (Winter *et alii*, 2007; Rodrigues-Zuniga *et alii*, 2008; Gonsior *et alii*, 2009). Gonsior *et alii* (2009) verificaram uma diminuição de 24% na intensidade de fluorescência para as águas do Rio Preto, na Califórnia, e constataram maior degradação em compostos que contêm grupos cromóforos fluorescentes. Também observaram que a concentração de carbono orgânico dissolvido permaneceu constante durante a irradiação. Já Rodrigues-Zuniga *et alii* (2008) em experimento em laboratório com radiação artificial constataram que a concentração de carbono orgânico total diminuiu cerca de 70% para SHA extraídas das águas do rio Amazonas. Um fato interessante apresentado por estes autores é que nas SHA contendo maior conteúdo de aromáticas há uma maior perda de sinal, que pode ser atribuído a geração de radicais livres serem maiores; enquanto que para as SHA com características alifáticas a degradação é menor, porém é mais rápida.

5.7.1 Alumínio

Na Figura 26a,b estão apresentados o espectro de fluorescência no modo emissão e o comportamento obtido em função do tempo e da intensidade máxima de fluorescência (429 nm) para as três concentrações de alumínio trabalhadas. A primeira observação a ser feita é

que houve para as três concentrações estudadas uma diminuição da intensidade de fluorescência com o aumento do tempo de exposição à radiação solar. Esta diminuição foi de 14%, 2% e 9% para as concentrações de $0,4 \text{ mg L}^{-1}$, $1,6 \text{ mg L}^{-1}$ e $5,9 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente.

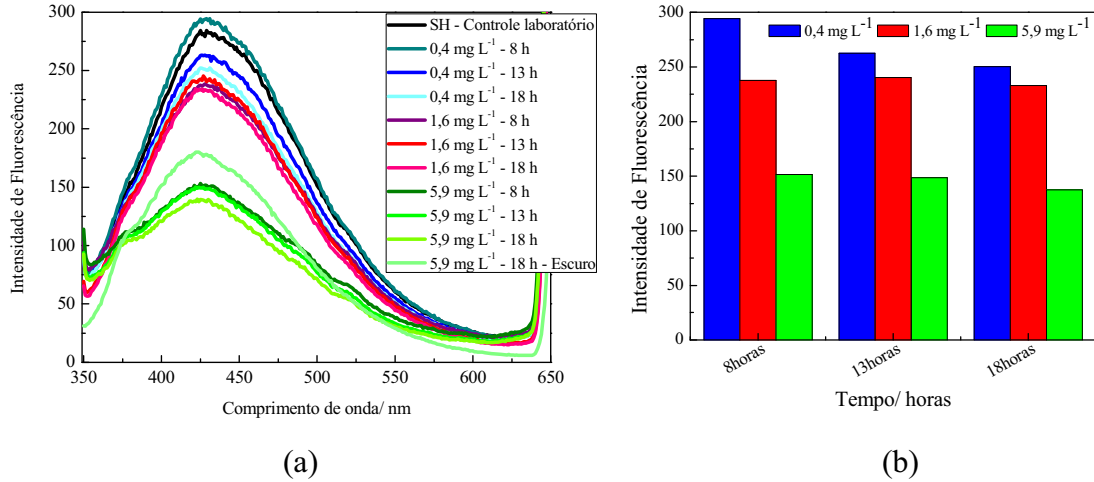


Figura 26. Espectro de fluorescência no modo emissão para o experimento em microcosmo de SHA-Alumínio exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).

Comportamento semelhante foi observado nos espectros de fluorescência sincronizada (Figura 27a,b). Cabe observar que não houveram deslocamentos de comprimentos de onda, somente a supressão do sinal de fluorescência máximo.

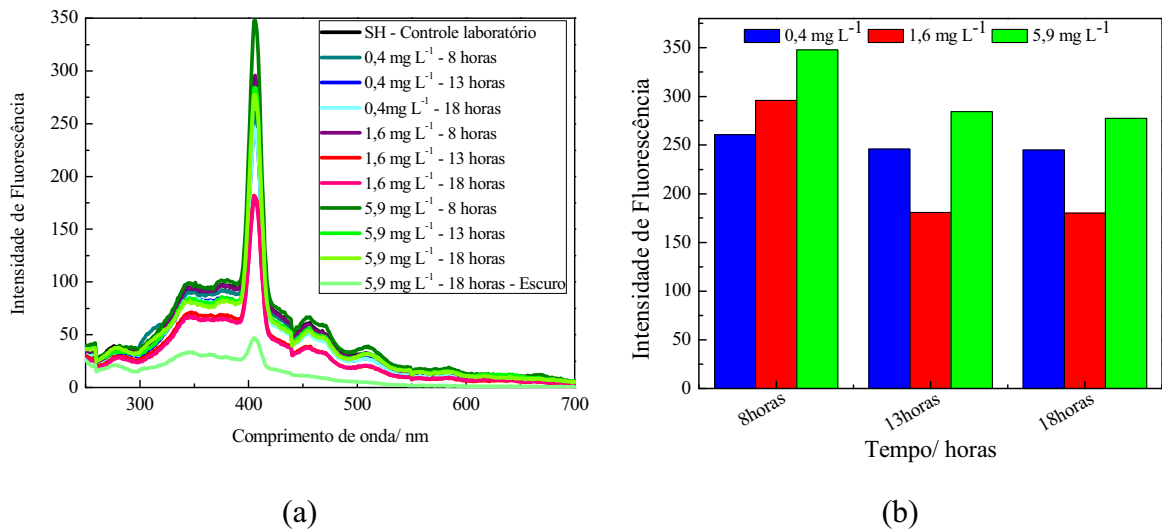


Figura 27. Espectro de fluorescência no modo sincronizado para o experimento em microcosmo de SHA-Alumínio exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).

5.7.2 Cromo

Na Figura 28a,b estão apresentados os espectros de emissão e o respectivo comportamento em função do tempo e da intensidade de fluorescência máxima (430 nm) para o experimento com cromo (VI). Observa-se que com o aumento do tempo de exposição à radiação solar houve um decréscimo da intensidade de fluorescência. Este decréscimo foi mais expressivo para as concentrações de cromo de $5,9 \text{ mg L}^{-1}$ e de $43,7 \text{ mg L}^{-1}$. Para a concentração de $98,0 \text{ mg L}^{-1}$ houve um decréscimo menos acentuado (5%) o que pode ser atribuído ao fato da elevada quantidade de metal adicionada.

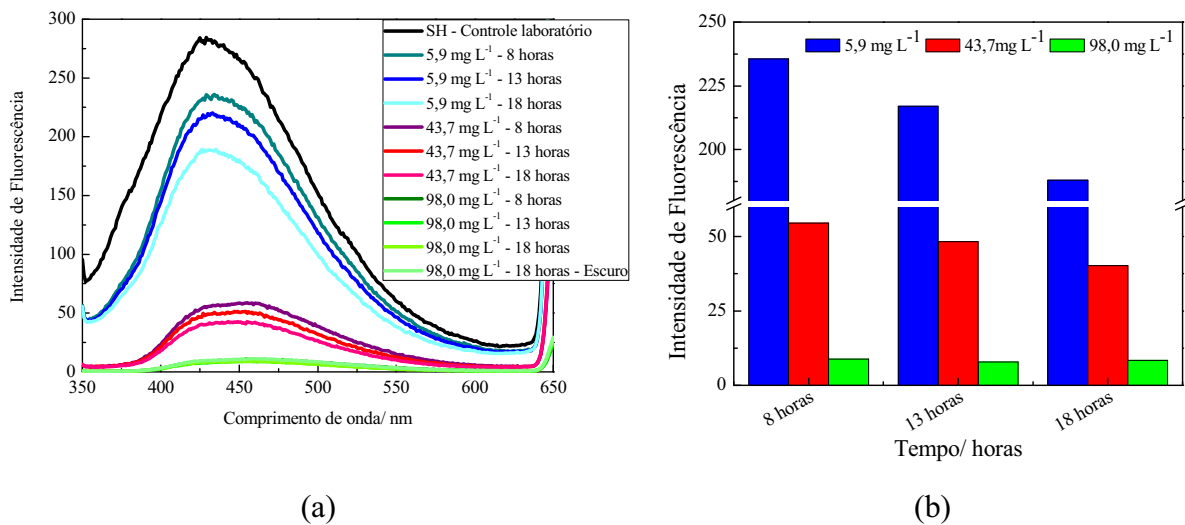


Figura 28. Espectro de fluorescência no modo emissão para o experimento em microcosmo de SHA-Cromo (VI) exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).

Na Figura 29a,b estão apresentados os espectros de emissão e o respectivo comportamento em função do tempo e da intensidade de fluorescência máxima (430 nm) para o experimento com cromo (III). Comportamento semelhante ao experimento com o cromo (VI) foi observado para o cromo (III), porém com porcentagens de decréscimo da intensidade de fluorescência maiores (6,9% para a concentração de $5,9 \text{ mg L}^{-1}$, 75% para $13,7 \text{ mg L}^{-1}$ e 34% para $43,7 \text{ mg L}^{-1}$), indicando uma maior influência da radiação solar na capacidade de complexação das SHA com o metal cromo (III). Jerzykiewicz et alii (2002) observaram que com a adição de metal ocorre uma diminuição na concentração de radicais semiquinonas e que esta diminuição é mais expressiva para metais como o Ni (II) e Cu (II). Em contra partida metais como o Zn (II), Cd (II) e outros íons diamagnéticos aumentam o efeito de coordenação do metal na concentração de radicais semiquinonas. Assim as diferenças entre uma espécie e outra de um determinado metal altera a estrutura das SHA e conseqüentemente a concentração

dos radicais semiquinonas, observando comportamentos distintos.

A radiação UV/Vis também mostrou alterar a concentração de radicais semiquinonas, aumentando a concentração destes quando as SHA são expostas à radiação (Paul *et alii*, 2006). Um aumento na concentração dos radicais semiquinonas e hidroquinonas faz com que ocorra um deslocamento de íons metálicos da estrutura das substâncias húmicas, devido a maior formação de radicais oxigênio que são espécies reativas na estrutura. Assim, diminuições nas intensidades de fluorescência são esperadas uma vez que ocorre uma maior formação de radicais semiquinonas devido à intensidade de radiação solar e este aumento de radicais semiquinonas favorece espécies reativas de oxigênio que atuam na estrutura das SHA, consequentemente na capacidade de complexação destas com metais.

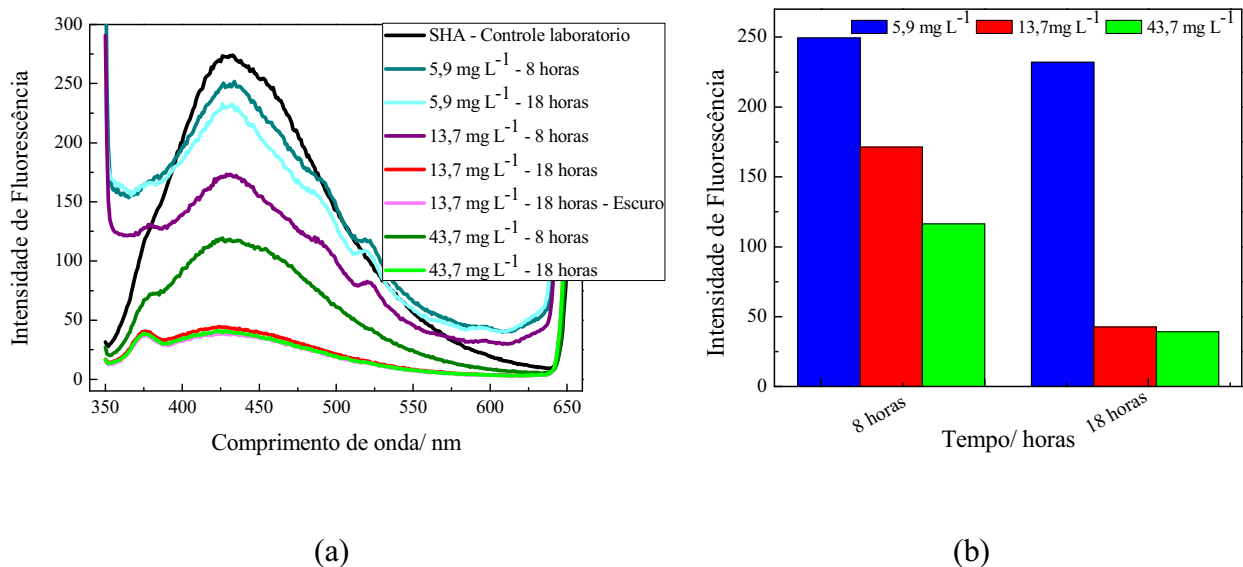


Figura 29. Espectro de fluorescência no modo emissão para o experimento em microcosmo de SHA-Cromo (III) exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).

Quanto ao espectro sincronizado é possível verificar que não houveram diferenças significativas nas intensidades de fluorescência com o aumento do tempo de exposição à radiação solar para a concentração de 98,0 mg L⁻¹ de cromo (VI) (Figura 30a,b). Já na Figura 31, a partir do espectro sincronizado para o experimento 2 com cromo (III) é possível verificar um decréscimo na intensidade de fluorescência para as três concentrações avaliadas de até 55%, indicando a maior influência da radiação solar no complexo SHA-Cromo (III).

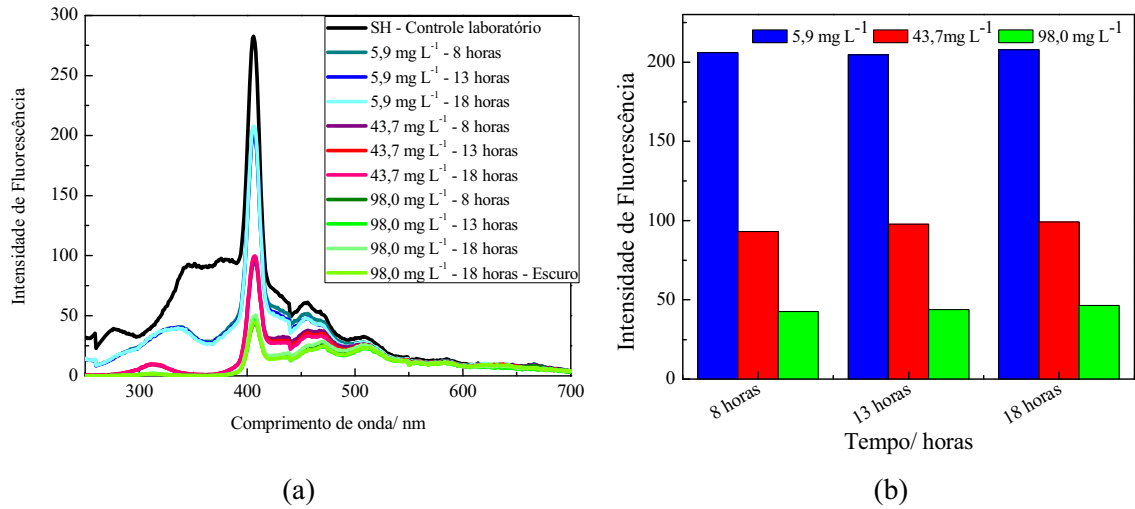


Figura 30. Espectro de fluorescência no modo sincronizado para o experimento em microcosmo de SHA-Cromo (VI) exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).

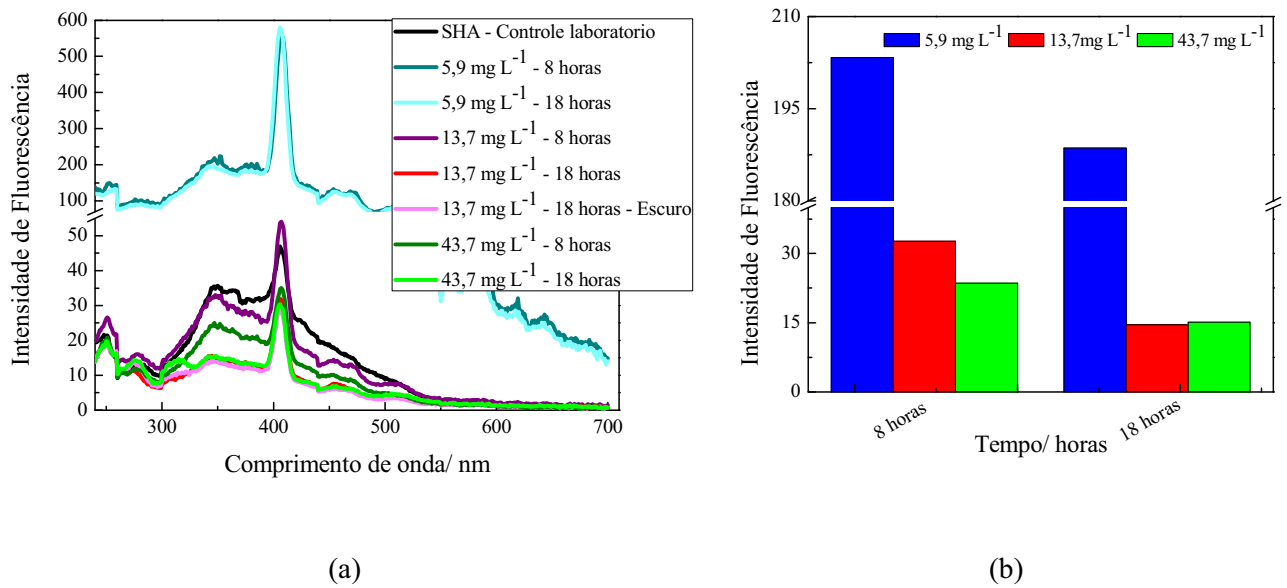


Figura 31. Espectro de fluorescência no modo sincronizado para o experimento em microcosmo de SHA-Cromo (III) exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).

5.7.3 Níquel

O espectro de emissão e o comportamento obtido em função do tempo de exposição e intensidades máximas de fluorescência (430 nm) estão mostrados na Figura 32a,b. Observa-se que diminuições em cerca de 15%, 51% e 32% ocorreram para as concentrações de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$, $17,7 \text{ mg L}^{-1}$ e $377,4 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente.

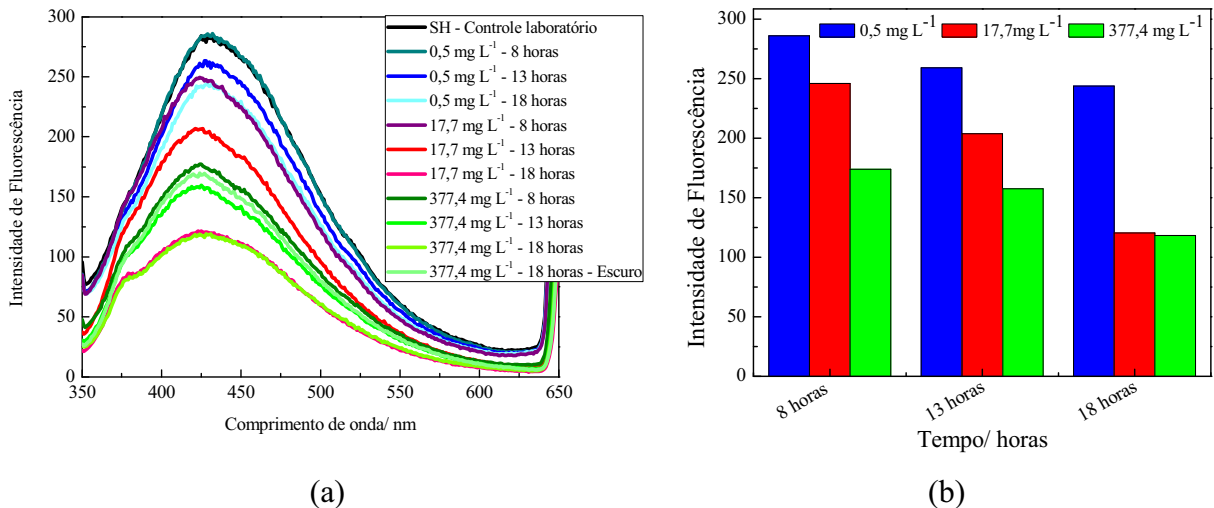


Figura 32. Espectro de fluorescência no modo emissão para o experimento em microcosmo de SHA-Níquel exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).

Já no modo sincronizado (Figura 33a,b) a diminuição da intensidade de fluorescência foi de 5%, 88% e 61% para as concentrações de 0,5 mg L⁻¹, 17,7 mg L⁻¹ e 377,4 mg L⁻¹, respectivamente.

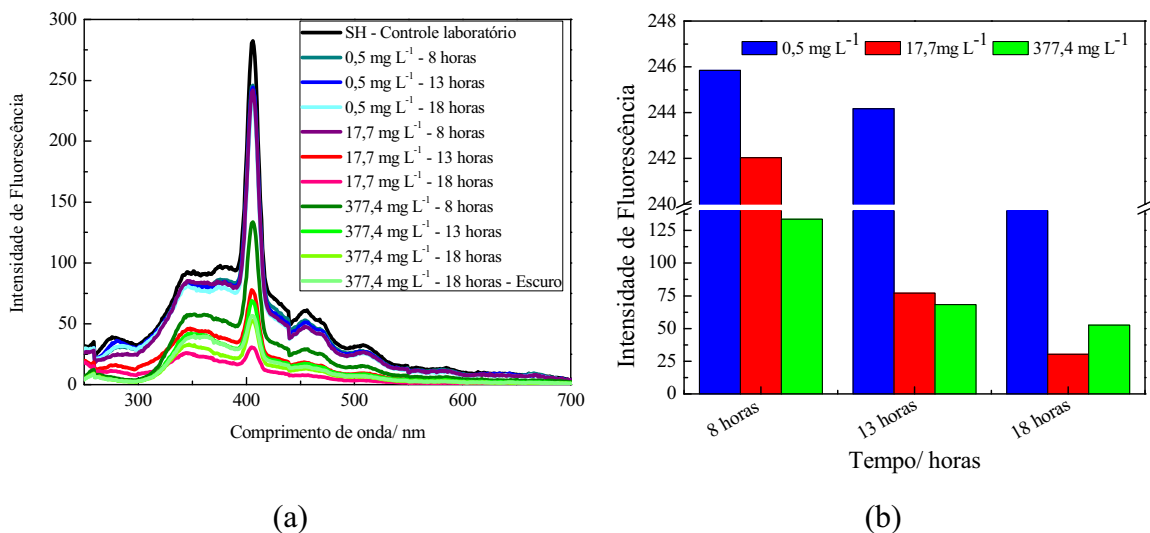


Figura 33. Espectro de fluorescência no modo sincronizado para o experimento em microcosmo de SHA-Níquel exposto à radiação solar (a) e comportamento em função do tempo das intensidades máximas de fluorescência (b).

Para os três metais estudados pode se concluir que a radiação solar diminui a capacidade de complexação SHA-Metal, tornando os metais mais disponíveis para serem transportados no ambiente. Também é importante ressaltar que o complexo SHA-Níquel mostrou-se o menos estável quando comparado aos complexos SHA com os metais cromo e

alumínio, comportamento este comprovado pela maior diminuição da intensidade de fluorescência (51% para o níquel, 27% para o cromo e 15% para o alumínio), facilitando assim a liberação destes para o ambiente. Para o alumínio foi observado menores variações devido à radiação solar. Assim a ordem de diminuição da capacidade de complexação foi Ni>Cr>Al.

6. Conclusão

Os resultados obtidos mostraram que:

- A Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande é principalmente impactada por efluentes domésticos e industriais, sendo os locais Córrego Piedade, Córrego Felicidade, Ribeirão Jataí e Rio Preto os mais degradados devido a presença da alta concentração de carbono orgânico total e conseqüente menor concentração de oxigênio dissolvido e também devido a presença de metais como alumínio, cobre, cromo e níquel.

- Pode ainda se concluir que os poluentes responsáveis pelo aumento de COT, STD, CE em períodos chuvosos podem estar associados a fontes difusas (escoamento urbano e/ou deposição atmosféricas) na BHTG, sendo que os metais cobre, cromo e níquel parecem ser provenientes de fontes pontuais uma vez que estes apresentaram concentrações maiores em período de seca.

- A resina XAD 7 apresentou uma boa eficiência para a extração de SHA podendo ser empregada em substituição a resina XAD 8.

- As constantes de estabilidade condicional calculadas utilizando fluorescência molecular para os complexos SHA-Cromo (III), SHA-Cromo (VI) e SHA-Níquel foram de $5,9 \cdot 10^{-3}$, $2,0 \cdot 10^{-2}$ e $1,1 \cdot 10^{-5}$.

- A estabilidade dos complexos formados entre as SHA extraídas das águas do Rio Preto com os metais alumínio, cromo (III), cromo (VI) e níquel mostrou-se baixa em comparação com outros trabalhos, indicando assim um baixo grau de humificação das SHA e a predominância de compostos orgânicos alifáticos.

- A radiação solar exerce um papel primordial na capacidade de complexação das SHA com os metais alumínio, cromo (III), cromo (VI) e níquel, diminuindo esta na seguinte ordem Cr (III) > Ni > Cr (VI) > Al, alterando assim a disponibilidade destes metais nos ambientes aquáticos estudados.

7. ANEXO 1

Ensaio de Proficiência do LECA para quantificação de metais

O laboratório LECA participou de dois ensaios de proficiência para quantificação de alguns metais. O primeiro ensaio foi realizado pela EMBRAPA Pecuária Sudeste o qual enviou para o laboratório um total de 12 amostras de tecido vegetal para quantificação dos metais cobre e zinco. Cerca de 13 laboratórios participaram deste ensaio. Os resultados foram apresentados pela EMBRAPA em relatórios onde constava o valor do Índice Z obtido para as amostras 02, 03, 04, 05, 07, 09, 11 e 12. O Índice Z é interpretado da seguinte maneira:

$|z| \leq 2$ = satisfatório

$2 < |z| < 3$ = questionável

$|z| \geq 3$ = insatisfatório

Os resultados obtidos para as análises de cobre e zinco para as amostras de tecido vegetal realizadas no LECA estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 10. Valores do Índice Z obtidos para as análises de cobre e zinco para as amostras de tecido vegetal.

Amostras	Índice Z	
	Cobre	Zinco
02	0,0	1,3
03	-1,1	0,9
04	-0,1	-1,0
05	-0,4	-1,3
07	0,0	-1,8
09	-0,6	-0,8
11	-1,0	-2,5
12	-2,2	-0,6

O ensaio de proficiência realizado pelo INMETRO consistiu de apenas uma única amostra enviada para a quantificação do metal bário. O resultado apresentado em relatório pelo INMETRO mostrava o Índice Z obtido para a amostra, sendo este índice interpretado da mesma maneira que a EMBRAPA. O valor do Índice Z obtido foi de 1,6, considerado satisfatório.

8. Referências bibliográficas

- Abaté, G. **Isolamento, purificação e estudos de complexação de substâncias húmicas**. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química da Universidade de São Paulo, 1998.
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 9898: preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores**. Rio de Janeiro, 1987.
- Aiken, G.R. Thurman, E.M.; Malcolm, R.L. Comparison of XAD macroporous resins for the concentration of fulvic acid from aqueous solution. **Analytical Chemistry**, v. 51, p. 1799-1803, 1979.
- Andrade, J. M. F. **Construção e Implementação de um Índice de Sustentabilidade Ambiental [ISAAC] para a Agroindústria Paulista da cana-de-açúcar**. Dissertação de Mestrado. Fundação Getúlio Vargas – Escola de Economia de São Paulo – EESP, 2009.
- Antunes, S.C.; Figueiredo, D.R.; Marques, S.M.; Castro, B.B.; Pereira R.; Gonçalves, F. Evaluation of water column and sediment toxicity from an abandoned uranium mine using a battery of bioassays. **Science of the Total Environment**, v. 374, p. 252–259, 2007.
- Arain, M.B.; Kazi, T.G.; Jamali, M.K.; Jalbani, N.; Alfridi, H.I.; Shah, A. Total dissolved and bioavailable elements in water and sediment samples and their accumulation in *Oreochromis mossambicus* of polluted Manchar Lake. **Chemosphere**, v. 70, p. 1845–1856, 2008.
- Azevedo, J.C.R.; Nozaki, J. Análise de fluorescência de substâncias húmicas extraídas da água, solo e sedimento da Lagoa dos Patos – MS. **Química Nova**, v. 31, p. 1324-1329, 2008.
- Baird, C. **Environmental Chemistry**. New York: W.H. Ferman and Company, 1995.
- Baker, A.; Genty, D. Fluorescence wavelength and intensity variations of cave waters. **Journal of Hydrology**, v. 217, p. 19–34, 1999.

Beaumont, J.J.; Sedman, R.M.; Reynolds, S.D.; Sherman, C.D.; Li, L.H.; Howd, R.A.; Sandy, M.S., Zeise, L.; Alexeeff, G.V. Cancer mortality in a Chinese population exposed to hexavalent chromium in drinking water. **Epidemiology**, v. 19, p. 12-23, 2008.

Bertolo, R.A.; Marcolan, L.N.O.; Bourotte, C.L.M. Relações Água-Rocha e Hidrogeoquímica do cromo na água subterrânea de poços de monitoramento multiníveis de Urânia, SP, Brasil. **Geologia USP**, v. 9, p. 47-62, 2009.

Blais, J.M.; Duff, K.E.; Laing, T.E.; Smol, J.P. Regional contamination in lakes from the Noril'sk region in Siberia, Russia. **Water Air and Soil Pollution**, v. 110, p. 389-404, 1999.

Brooks, M.L.; Meyer, J.S.; McKnight, D.M. Photooxidation of wetland and riverine dissolved organic matter: altered copper complexation and organic composition. **Hydrobiologia**, v. 579, p. 95-113, 2007.

Brooks, S.J.; Bolam, T.; Tolhurst, L.; Bassett, J.; Roche, J.L.; Waldock, M.; Barry, J.; Thomas, K.V. Dissolved organic carbon reduces the toxicity of copper to germlings of the macroalgae, *Fucus vesiculosus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 70, p. 88–98, 2008.

Buffle, J. Les substances humiques et leurs interactions avec les ions minéraux. In: Conference Proceedings de la Commission d'Hydrologie Appliquée de l'A.G.H.T.M. L'Université d'Orsay 1970.

Cancès, B.; Juillot, F.; Morin, G.; Laperche, V.; Alvarez, L.; Proux, O.; XAS evidence of As(V) association with iron oxyhydroxides in a contaminated soil at a former arsenical pesticide processing plant. **Environmental Science and Technology**, v. 39, p. 398–405, 2005.

Cao, J.; Lam, K.C.; Dawson, R.W.; Liu, W.X.; Tao, S. The effect of pH, ion strength and reactant content on the complexation of Cu²⁺ by various natural organic ligands from water and soil in Hong Kong. **Chemosphere**, v. 54, p. 507-514, 2004.

Carvalho, E.R.; Martin-Neto, L.; Milori, D.M.B.P.; Rocha, J.C.; Rosa, A.H. Interactions of

chlorine with tropicals aquatic fulvic acids and formation of intermediates observed by Fluorescence Spectroscopy. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 15, p. 421-426, 2004.

Centro de Previsão do Tempo e Estudos Climáticos. Disponível em: <<http://tempo1.cptec.inpe.br/>>. Acesso em: Nov. 2009.

Christl, I.; Knicker, H.; Kogel-Knabner, I.; Kretzschmar, R. Chemical heterogeneity of humic substances: characterization of size fractions obtained by hoow-fibre ultrafiltration. **European Journal of Soil Science**, v. 51, p. 617-625, 2000.

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

Cocker, J.; Morton, J.; Warren, N.; Wheller, J.P.; Garrod, A.N.I. Biomonitoring for Chromium and Arsenic in Timber Treatment Plant Workers Exposed to CCA Wood Preservatives. **Annals Occupational Hygiene**, v. 50, p. 517-527, 2006.

Das, A.; Krishnaswami, S. Barium in Deccan Basalt Rivers: Its Abundance, Relative Mobility and Flux. **Aquatic Geochemistry**, v. 12, p. 221-238, 2006.

Debels, P.; Figueroa, R.; Urrutia, R.; Barra, R.; Niell, X.; Evaluation of water quality in the Chilla'm River (Central Chile) using physicochemical parameters and a modified water quality index. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 110, p. 301-322, 2005.

Dias, V.M.C.; Satte, M.S.S. Determinação de As em amostras orgânicas de interesse ambiental por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica após combustão em bomba de O₂. **Química Nova**, v. 26, p. 661-664, 2003.

Douay, F.; Pruvot, C.; Roussel, H.; Ciesielski, H.; Fourier, H.; Proix, N.; Waterlot, C. Contamination of Urban Soils in an Area of Northern France Polluted by Dust Emissions of Two Smelters. **Water Air Soil Pollution**, v. 188, p. 247-260, 2008.

Edgell, K. **Method 3050.B (Acid Digestion of sediments, sludges and soils. Environmental Protection Agency)**, Revision 2, United States, 1996.

Elkins, K.M.; Nelson, D.J. Fluorescence and FT-IR spectroscopic studies of Suwannee river fulvic acid complexation with aluminum, terbium and calcium. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 87, p. 81-96, 2001.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <<https://eplna.cnpq.br/>>. Acesso em: Jan. 2009.

Farag, A.M.; Nimick, D.A.; Kimball, B.A.; Church, S.E.; Harper, D.D.; Brumbaugh, W.G. Concentrations of metals in water, sediment, biofilm, benthic macroinvertebrates, and fish in the Boulder River Watershed, Montana, and the role of colloids in metal uptake. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 52, p. 397-409, 2007.

Ferrari, G.M.; Minazzini, M. Synchronous fluorescence spectra of dissolved organic matter (DOM) of algal origin in marine coastal waters. **Marine Ecology Progress Series**, v. 125, p. 305-315, 1995.

Fianko, J.R.; Osae, S.; Adomako, D.; Adotey, D.K.; Serfor-Armah, Y. Assessment of Heavy Metal Pollution of the Itire Estuary in the Central Region of Ghana. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 131, p. 467-473, 2007.

Flaig, W.; Comparative chemical investigations on natural humic compounds and their model substances. **Science Process Royal Dublin Society**, v. 4, p. 149-162, 1960.

Franciskovic-Bilinski, S. Barium anomaly in Kupa River drainage basin. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 88, p. 106– 109, 2006.

Frimmel, F.H.; Christman, R.F. **Humic substances and their role in the environment**. 1ª Edição, Chichester, John Wiley, 1988.

Gagneten, A.M.; Gervasio, S.; Paggi, J.C. Heavy Metal Pollution and Eutrophication in the Lower Salado River Basin (Argentina). **Water Air Soil Pollutants**, v. 178, p. 335–349, 2007.

Gallo, M.; Trento, A.; Alvarez, A.; Beldoménico, H.; Campagnoli, D. Dissolved and particulate heavy metals in the Salado River (Santa Fe, Argentina). **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 174, p. 367–384, 2006.

Gazaryan, I.G.; Krasinskaya, I.P.; Kristal, B.S.; Brown, A.M. Zinc Irreversibly Damages Major Enzymes of Energy Production and Antioxidant Defense Prior to Mitochondrial Permeability Transition. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 282, p. 24373–24380, 2007.

Gondal, M.A.; Hussain, T. Determination of poisonous metals in wastewater collected from paint manufacturing plant using laser-induced breakdown spectroscopy. **Talanta**, v. 71, p. 73–80, 2007.

Gonsior, M.; Peake, B.M.; Cooper, W.T.; Podgorski, D.; Dádrilli, J.; Cooper, W.J. Photochemically induced changes in dissolved organic matter identified by ultrahigh resolution fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. **Environmental Science and Technology**, v. 43, p. 698-703, 2009.

Gowd, S.S.; Govil, P.K. Distribution of heavy metals in surface water of Ranipet industrial area in Tamil Nadu, India. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 136, p. 197-207, 2008.

Hernandes, A.; Megda, M.M.; Hernandez, F.B.T.; Altimare, A.; Zocoler, J.L. Uso da água na Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande/SP. In: Conird 2006. XVI Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem, 2006, Goiânia.

Instituto de Economia Agrícola – IEA, 2009. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/index.php>>. Acesso em: Out. 2009.

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br/metcientifica/profiAgua.asp>> Acesso em: Mar. 2009.

Internation Humic Substances Society (IHSS). Disponível em: <<http://ihss.gatech.edu/ihss2/>>

Acesso em: Jan. 2009.

Jardim, W. F. ; Bisinoti, M. C. ; Fadini, P. S. ; Silva, G. S. Mercury redox chemistry in the Negro River Basin, Amazon: the role of organic matter and solar light. **Aquatic Geochemistry**, v. 16, p. 219-230, 2010.

Jerzykiewicz, M.; Jezierski, A.; Czechawski, F.; Drozs, J. Influence of metal ions binding on free radical concentration in humic acids: A quantitative electron paramagnetic resonance study. **Organic Chemistry**, v. 33, p. 265-268, 2002.

Jimenez, B.; Asano, T. **Water reuse: An international survey of current practice, issues and needs**. London, IWA Publishing, 2008.

Jordão, C.P.; Ribeiro, P.R.S.; Matos, A.T.; Fernandes, R.B.A. Aquatic Contamination of the Turvo Limpo River Basin at the Minas Gerais State, Brazil. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 116-125, 2007.

Kazi, T.G.; Arain, M.B.; Jamali, M.K.; Jalbani, N.; Afridi, H.I.; Sarfraz, R.A.; Baig, J.A.; Shah, A.Q. Assessment of water quality of polluted lake using multivariate techniques: a case study. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 301-309, 2009.

Kononova, M.M.; **Soil organic matter**. Oxford, Pergamon Press, 1966.

Kopacek, J.; Maregová, M.; Nortn, S.A.; Porcal, P.; Vesely, J. Photochemical source of metals for sediments. **Environmental Science and Technology**, v. 40, p. 4455-4459, 2006.

Lakowicz, J.R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 2^a Edição, New York, Kluwer Academic/ Plenum Publisher, 1999.

Lam, K.F.; Yeung, K.L.; McKay, G. Efficient Approach for Cd²⁺ and Ni²⁺ Removal and Recovery Using Mesoporous Adsorbent with Tunable Selectivity. **Environmental Science and Technology**, v. 41, p. 3329-3334, 2007.

Lamelas, C.; Wilkinson, K.J.; Slaveykova, V.I. Influence of the composition of natural

organic matter on Pb bioavailability to microalgae. **Environmental Science and Technology**, v. 39, p. 6109-6116, 2005.

Lee, Y.; Lim, C. Physical Basis of Structural and Catalytic Zn-Binding Sites in Proteins. **Journal of Molecular Biology**, v. 379, p. 545–553, 2008.

Lei estadual de São Paulo 9.034 de 27 de dezembro de 1994. Disponível em: <<http://www.saneamento.sp.gov.br/Legislacao/LEI9034.html>>. Acesso em: Jan. 2009.

Lepsch, I.F. **Formação e Conservação dos solos**. 1ª Ed., São Paulo, Oficina de Textos, 2002.

López, F.F.; Cabrera, C.; Lorenzo, M.L.; López, M.C. Aluminium content of drinking waters, fruit juices and soft drinks: contribution to dietary intake. **The Science of the Total Environment**, v. 292, p. 205–213, 2002.

Lyra, M. R. C. C.; Rolim, M. M.; Silva, J A. A . Topossequencia de solos fertigados com vinhaça: contribuição para a qualidade das águas do lençol freático. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, p. 525-532, 2003.

Macdonald, B.C.T.; White, I.; Astrom, M.E.; Keene, A.F.; Melville, M.D.; Reynolds, J.K. Discharge of weathering products from acid sulfate soils after a rainfall event, Tweed River, eastern Australia. **Applied Geochemistry**, v. 22, p. 2695-2705, 2007.

Majagi, S.H.; Vijaykumar, K.; Vasanthkaumar, B. Concentrations of heavy metals in Karanja reservoir, Bidar district, Karnataka, India. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 138, p. 273-279, 2008.

McDonald, S.; Bishop, A.G.; Prenzler, P.D.; Robards, K. Analytical chemistry of freshwater humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 527, p. 105-124, 2004.

Miller, J.N.; Miller, J.C. **Estadística y quimiometría para Química Analítica**. 4ª Edição, Madrid, Prentice Hall, 2002.

Mobed, J.J.; Hemmingsen, S.L.; Autry, J.L.; McGown, L.B. Fluorescence characterization of

IHSS humic substances: total luminescence spectra with absorbance correction. **Environmental Science and Technology**, v. 30, p. 3061-3065, 1996.

Moreno, T.; Querol, X.; Alastue, A.; Minguillon, M.C.; Pey, J.; Rodriguez, S.; Miró, J.V.; Felis, C.; Gibbons, W. Recreational atmospheric pollution episodes: Inhalable metalliferous particles from firework displays. **Atmospheric Environment**, v. 41, p. 913–922, 2007.

Mounier, S.; Patel, N.; Quilici, L.; Benain, J.Y.; Benamou, C. Three-Dimensional fluorescence of the dissolved organic carbon in the Amazon River. **Water Research**, v. 33, p. 1523-1533, 1999.

Neves, M.A.; Pereira, S.Y.; Fowler, H.G. Impactos do sistema estadual de gerenciamento de recursos hídricos na Bacia do Rio Jundiáí [SP]. **Ambiente & Sociedade**, v. 2, p. 149-160, 2007.

Nieto, J.M.; Sarmiento, A.M.; Olías, M.; Canovas, C.R.; Riba, I.; Kalman, J.; Delvals, T.A. Acid mine drainage pollution in the Tinto and Odiel rivers (Iberian Pyrite Belt, SW Spain) and bioavailability of the transported metals to the Huelva Estuary. **Environment International**, v. 33, p. 445–455, 2007.

Nogueira, R.F.P.; Trocó, A.G.; Silva, M.R.A.; Villa, R.D.; Oliveira, M.C. Fundamentos e aplicações ambientais dos processos fenton e foto-fenton. **Química Nova**, v. 30, p. 400-408, 2007.

Nordberg, G.F.; Friberg, L.; Vouk, V.B. **Handbook on the toxicology of metals**. 3^a Edition, New York, Elsevier, 2007.

Norma Técnica P4.231 da CETESB. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Tecnologia/camaras/P4_231.pdf>. Acesso em: Nov. 2009.

Okonkwo, J.O.; Mothiba, M.; Awofolu, O.R.; Busari, O. Levels and Speciation of Heavy Metals in Some Rivers in South Africa. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 75, p. 1123–1130, 2005.

Paul, A.; Stosser, R.; Zehl, A.; Zwirnmann, E.; Vogt, R.D.; Steinberg, C.E.W. Nature and

abundance of organic radicals in natural organic matter: effect of pH and irradiation. **Environmental Science and Technology**, v. 40, p. 5897-5903, 2006.

Pereira, L.A.; Amorim, I.G.; Silva, J.B.B. Development of methodologies to determine aluminum, cadmium, chromium and lead in drinking water by ETAAS using permanent modifiers. **Talanta**, v. 64, p. 395–400, 2004.

Perfil Regional - Região Administrativa de São José do Rio Preto. Governo do Estado de São Paulo - Secretaria de Economia e Planejamento, 2007.

Pesquisa da Atividade Paulista. Disponível em: <<http://www.seade.gov.br/produtos/iprs/analises/RASJRiopreto.pdf>>. Acesso em: Nov. 2009.

Peuravuori, J.; Koivikko, R.; Pihlaja, K. Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy. **Water research**, v. 36, p. 4552-4562, 2002.

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

Piccolo, A. The supramolecular structure of humic substances: a novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. **Advances in Agronomy**, v. 75, p. 57-134, 2002.

Plaza, C.; Brunetti, G.; Senesi, N.; Polo, A. Fluorescence characterization of metal ion–humic acid interactions in soils amended with composted municipal solid wastes. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 386, p. 2133–2140, 2006.

Porcal, P.; Amirbahman, A.; Kopáček, J.; Novak, F.; Norton, S.A. Photochemical release of humic and fulvic acid-bound metals from simulated soil and streamwater. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 11, p. 1064-1071, 2009.

Provenzano, M.R.; Dórazio, V.; Jerzykiewicz, M.; Senesi, N. Fluorescence behaviour of Zn and Ni complexes of humic acids from different sources. **Chemosphere**, v. 55, p. 885-892,

2004.

Reck, B.K.; Muller, D.B.; Rostwoski, K.; Graedel, T.E. Anthropogenic Nickel Cycle: Insights into Use, Trade, and Recycling. **Environmental Science and Technology**, v. 42, p. 3394–3400, 2008.

Relatório da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo 2008 – CETESB. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios/publicacoes/relatorio_2008.asp>. Acesso em: Mar. 2009.

Remyła, S.R.; Ramesh, M.; Sajwan, K.S.; Kumar, K.S. Influence of zinc on cadmium induced haematological and biochemical responses in a freshwater teleost fish *Catla catla*. **Fish Physiology Biochemistry**, v. 34, p. 169–174, 2008.

Resolução Conselho Nacional do Meio Ambiente CONAMA 357 – Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: Nov. 2009.

Rocha, J.C.; Rosa, A.H. **Substâncias húmicas aquáticas: interações com espécies metálicas**. São Paulo, Ed. UNESP, 2003.

Rodriguez-Zuniga, U.F.; Milori, D.M.B.P.; Silva, W.T.L.; Martin-Neto, L.; Oliveira, L.C.; Rocha, J.C. Changes in optical properties caused by UV-Irradiation of Aquatic Humic Substances from the Amazon River Basin: Seasonal variability evaluation. **Environmental Science and Technology**, v. 42, p. 1948-1953, 2008.

Romão, L.P.C.; Araújo, A.B.; Rocha, J.C.; Rosa, A.H. Redução de crômio hexavalente por substâncias húmicas aquáticas imobilizadas em aminopropil sílica. **Eclética Química**, v. 27, p. 383-391, 2002.

Rouhomaki, K.; Vaisanen, P.; Metsamuuronen, S.; Kulovaara, M.; Nystrom, M. Characterization and removal of humic substances in ultra and nanofiltration. **Desalination**, v. 118, p. 273-283, 1998.

Ryan, D.K.; Weber, J.H. Fluorescence quenching titration for determination of complexing

capacities and stability constants of fulvic acid. **Analytical Chemistry**, v. 54, p. 986-990, 1982.

Sanchez-Marín, P.; Lorenzo, J.I.; Blust, R.; Beiras, R. Humic Acids Increase Dissolved Lead Bioavailability for Marine Invertebrates. **Environmental Science and Technology**, v. 41, p. 5579-5684, 2007.

Santos, A.; Bellin, I.C.; Corbi, P.P.; Cuin, A.; Rosa, A.H.; Rezende, M.O.O.; Rocha, J.C.; Melnikov, P. Competition Between Humic Substances and α -Amino Acids by Metal Species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, p. 437-440, 2004.

Santos, M.A.P.F.; Melão, M.G.G.; Lombardi, A.T. The effects of humic substances on copper toxicity to *Ceriodaphnia silvestrii* Daday (Crustacea, Cladocera). **Ecotoxicology**, v. 18, p. 449-454, 2008.

Sargentini Junior, E.; Rocha, J.C.; Rosa, A.H.; Zara, L.F.; Santos, A. Substâncias Húmicas Aquáticas: Fracionamento e caracterização de rearranjos internos após complexação com íons metálicos. **Química Nova**, v. 24, p. 339-344, 2001.

Schnitzer, M.; Khan, S.U.; **Soil Organic Matter**. New York, Elsevier Scientific, 1978.

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

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

Scientific Association Dedicated to Analytical Excellence (AOAC). Garfield, F.M. **Quality Assurance Principles for Analytical Laboratories**. 3ª Edição, AOAC International, 2000.

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

Senesi, N.; Miano, T.M.; Provenzano, M.R.; Brunetti, G. Characterization, Differentiation, and Classification of Humic Substances By Fluorescence Spectroscopy. **Soil Science**, v. 152, p. 259-271, 1991.

Shank, G.C.; Whitehead, R.F.; Smith, M.L.; Skrabal, S.A.; Kieber, R.J. Photodegradation of strong copper-complexing ligands in organic-rich estuarine waters. **Limnology and Oceanography**, v. 51, p. 884-892, 2006.

Sharpless, C.M.; McGown, L.B. Effects of Aluminum-Induced aggregation on the fluorescence of humic substances. **Environmental Science and Technology**, v. 33, p. 3264-3270, 1999.

Shinkai, Y.; True, D.V.; Sumi, D.; Canh, D.; Kumagai, Y. Arsenic and other metal contamination of groundwater in the Mekong River Delta, Vietnam. **Journal of Health Science**, v. 53, p. 344-346, 2007.

Shotyk, W.; Krachler, M.; Chen, Bin. Contamination of Canadian and European bottled waters with antimony from PET containers. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 8, p. 288-292, 2006.

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

Silva, G. S., Bisinoti, M. C., Fadini, P. S., Magarelli, G, Fostier, A. H., Jardim, W. F. Major Aspects of the Mercury Cycle in the Negro River Basin, Amazon. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, p. 1127–1134, 2009.

Silva, J.C.G.E.; Herrero, A.I.; Machado, A.A.S.C.; Barrado, E. Effect of the pH on the complexation of Cu(II), Ni(II) and Fe(III) ions by a vine leaf litter extract by fluorescence quenching. **Mikrochimica Acta**, v. 130, p. 63-69, 1998.

Silva, M. A. S.; Griebeler, N. P.; Borges, L. C. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, p.

108–114, 2007.

Skoog, D.A. **Analytical Chemistry**. 8ªEd., Austrália, Brooks/Cole, 2005.

Sloboda, E. **Influência do tamanho molecular aparente das substâncias húmicas aquáticas na eficiência da coagulação com sulfato de alumínio e cloreto férrico**. Dissertação de mestrado. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2007.

Speisky, H.; Gómez, G.; Carrasco-Pozo, C.; Pastene, E.; Lopez-Alarcón, C.; Olea-Azar, C. Cu(I)–Glutathione complex: A potential source of superoxide radicals generation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 6568–6574, 2008.

Steely, S., Amarasiriwardena, D., Xing, B. An investigation of inorganic antimony species and antimony associated with soil humic acid molar mass fractions in contaminated soils. **Environmental Pollution**, v. 148, p. 590-598, 2007.

Stevenson, I.L.; Schnitzer, M. Transmission electron-microscopy of extracted fulvic and humic acids. **Soil Science**, v. 133, p. 179-185, 1982.

Stumm, W. **Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters**. 3ª Edição, New York, John Wiley, 1995.

Sulzberger, B.; Durisch-Kaiser, E. Chemical characterization of dissolved organic matter (DOM): a prerequisite for understanding UV-induced changes of DOM absorption properties and bioavailability. **Aquatic Sciences**, v. 71, p. 104-126, 2009.

Tadini, A.M.; Campanha, M.B.; Bisinoti, M.C.; Trabuco, E. O efeito do emprego de algicidas na qualidade das águas de recreação de piscinas da cidade de São José do Rio Preto. In: 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza-CE, 2009.

Templeton, D. M.; Ariese, F.; Cronelis, R.; Danielsson, L. G.; Muntau, H.; Van Leeuwen, H. P. Lobinski, R. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of

elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches. **Pure and Applied Chemistry**, v. 72, p. 1453-1470, 2000.

Térres-Martos, C.; Navarro-Alarcón, M.; Martín-Lagos, F.; Giménez-Martínez, R.; López-García de la Serrana, H.; López-Martínez, M.C. Determination of zinc levels in waters from southeastern Spain by electrothermal atomic absorption spectrometry: relationship with industrial activity. **Water Research**, v. 36, p. 1912–1916, 2002.

Trubetskoj, O.A.; Trubetskaya, O.E.; Richard, C. Photochemical activity and fluorescence of electrophoretic fraction of aquatic humic matter. **Water Resources**, v. 36, p. 518-524, 2009.

Tzortziou, M.; Osburn, C.L.; Neale, P.J. Photobleaching of dissolved organic material from a Tidal Marsh-Estuarine System of the Chesapeake Bay. **Photochemistry and photobiology**, v. 83, p. 782-792, 2007.

Vanin, J.A. **Alquimistas e Químicos**. 1ª Ed., São Paulo, Editora Moderna, 1994.

Veado, M.A.R.V.; Arantes, I.A.; Oliveira, A.H.; Almeida, M.R.M.G.; Miguel, R.A.; Severo, M.I.; Cabaleiro, H.L. Metal pollution in the environment of Minas Gerais State – Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 117, p. 157–172, 2006.

Vicente-Sánchez, C.; Egido, J.; Sánchez-González, P.D.; Pérez-Barriocanal, F.; López-Novoa, J.M.; Morales, A.I. Effect of the flavonoid quercetin on cadmium-induced hepatotoxicity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 2279–2287, 2008.

Voelker, B.M.; Morel, F.M.M.; Sulzberger, B. Iron redox cycling in surface waters: effects of humic substances and light. **Environmental Science and Technology**, v. 31, p. 1004-1011, 1997.

Wagner, S.E.; Peryea, F.J.; Filby, R.A. Antimony impurity in lead arsenate insecticide enhances the antimony content of old Orchard soils. **Journal Environmental Quality**, v. 32, p. 736-738, 2003.

Welz, B.; Schlemmer, G.; Mudakavi, J.R. Palladium Nitrate – Magnesium nitrate modifier for

graphite furnace atomic absorption spectrometry Part 2. Determination of arsenic, cadmium, copper, manganese, lead, antimony, selenium and thallium in water. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 3, p. 695-701, 1988.

Wersahw, R.L. Model for humus in soil and sediment. **Environmental Science and Technology**, v. 27, p. 814-816, 1993.

Westerhoff, P.; Prapaipong, P.; Shock, E.; Hillaireau, A. Antimony leaching from polyethylene terephthalate (PET) plastic used for bottled drinking water. **Water Research**, v. 42, p. 551 – 556, 2008.

Winter, A.R.; Fish, T.A.E.; Playle, R.C.; Smith, D.S.; Curtis, P.J. Photodegradation of natural organic matter from diverse freshwater sources. **Aquatic Toxicology**, v. 84, p. 215-222, 2007.

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

Yaymtas, O.T.; Yilmaz, S.; Turkoglu, M.; Dilgin, Y. Determination of heavy metal pollution with environmental physicochemical parameters in waste water of Kocabas Stream (Biga, Canakkale, Turkey) by ICP-AES. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 127, p. 389-397, 2007.

Zara, L.F.; Rosa, A.H.; Toscano, I.A.S.; Rocha, J.C. A structural conformation study of aquatic humic acid. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 17, p. 1014-1019, 2006.

Zimmermann, C.M.; Guimarães, O.M.; Peralta-Zamora, P.G.; Avaliação da qualidade do corpo hídrico do rio Tibagi na região de Ponta Grossa utilizando análise de componentes principais (PCA). **Química Nova**, v. 31, p. 1727-1732, 2008.