

IRAMAIA CORRÊA BELLIN

***“Interações entre íons Hg(II) e substâncias
húmicas extraídas de diferentes solos da Bacia
do Médio Rio Negro, Amazônia”***

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

Orientador: Prof. Dr. André Henrique Rosa

Co-orientador: Prof. Dr. Julio Cesar Rocha

ARARAQUARA
2006

Curriculum Vitae

IRAMAIA CORRÊA BELLIN

Dados pessoais

Nome Iramaia Corrêa Bellin
Sexo Feminino
Endereço Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto profissional de Química de Araraquara, Departamento de Química Analítica. Av. Francisco Degni s/n Quitandinha 14800-160 - Araraquara, SP.

Formação acadêmica/Titulação

2002 Doutorado em Química [Araraquara].
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP.
Título: Interações entre íons Hg(II) e substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro, Amazônia.
Orientador: Prof. Dr. André Henrique Rosa.
Bolsista: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES.
1997 Graduação em Licenciatura em Química. Universidade Estadual
2001 Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP.

Prêmios e títulos

2002 Co-autora do trabalho Competition between humic substances and alfa-aminoacids by metal species:possible application, premiado dentre os dez melhores trabalhos do mundo concorridos a Travel Bursary no XI International Meeting of the IHSS (Boston-EUA), International Humic Substances Society (IHSS).

Produção bibliográfica

Artigos publicados em periódicos

- 1 ROSA, André Henrique; GOVEIA, Danielle; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); TONELLO, Paulo Sérgio; ANTUNES, Maria Lúcia Pereira; RODRIGUES FILHO, Ubirajara Pereira. Estudo da labilidade de Cu(II), Cd(II), Mn(II) e Ni(II) em substâncias húmicas aquáticas utilizando-se membranas celulósicas organomodificadas. (Aceito). Química Nova, 2006.
- 2 ROSA, André Henrique; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); GOVEIA, Danielle; LOURENÇO, Roberto Wagner; DIAS FILHO, Newton Luiz; BURBA, Peter. Development of a new analytical approach based on cellulose membrane and chelator for differentiation of labile and inert metal species in aquatics systems. Analytica Chimica Acta, v. 567, p. 152-159, 2006.
- 3 ROSA, André Henrique; OLIVEIRA, Luciana Camargo de; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); ROCHA, Julio Cesar; ROMÃO, Luciane Pimenta Cruz; DIAS FILHO, Newton Luiz. Influence of alkaline extraction on the characteristics of humic substances in Brazilian soils. Thermochemica Acta, v. 433, p. 77-82, 2005.
- 4 SANTOS, Ademir dos; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); Corbi Pedro Paulo; CUIN, Alexandre; ROSA, André Henrique; RESENDE, Maria Olímpia de Oliveira; ROCHA, Julio Cesar. Competition between humic substances and alfa-amino acids by metal species: possible therapeutical applications. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 15, n. 3, p. 437-440, 2004.

Trabalhos em eventos (Completo)

- 1 ROSA, André Henrique; ROCHA, Julio Cesar; SANTOS, Ademir dos; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); OLIVEIRA, Luciana Camargo de; BURBA, Peter. Labile complexes of trace metals in aquatic organic matter: on site investigation by means of an ion exchange-based flow procedure. In: XIII - Euroanalysis European Conference Analytical Chemistry, 2004, Salamanca. The role of analytical chemistry in the protection of the citizens, 2004. p. 227.
- 2 SANTOS, Ademir dos; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); Corbi Pedro Paulo; CUIN, Alexandre; ROSA, André Henrique; RESENDE, Maria Olímpia de Oliveira; ROCHA, Julio Cesar; MELINIKOV, Petr. Complexation of metal ions by humic substances and alfa-amino acids. A comparative study. In: 11th International Meeting of the International Humic Substances Society. In: 11th International Meeting of the International Humic Substances Society, 2002, Boston. Proceedings of the 11th International Meeting of the International Humic Substances Society., 2002. p. 271-273.

Trabalhos em eventos (Resumo)

- 1 GOVEIA, Danielle; ROSA, André Henrique; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); OLIVEIRA, Luciana Camargo de; VAZ, Samuel da Silva. Desenvolvimento de metodologia para caracterização "*in situ*" da labilidade de Cu(II), Mn(II), Ni(II) e Cd(II) em sistema aquáticos: utilização de membranas celulósicas organomodificadas. In: III Encontro Nacional de Química Ambiental, 2006, Cabo Frio. III Encontro Nacional de Química Ambiental. "Química Ambiental: um caminho encantado entre a Química e a Biologia", 2006.
- 2 [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); ROSA, André Henrique; GOVEIA, Danielle; OLIVEIRA, Guilherme Silva; SÁ, Suzan Lessa de; ANTUNES, Felipe Maldonado. Desenvolvimento de metodologia para diferenciação "*in situ*" de espécies metálicas lábeis e inertes em sistemas aquáticos: utilização de saquinhos celulósicos contendo trocador iônico. In: III Encontro Nacional de Química Ambiental, 2006, Cabo Frio. III Encontro Nacional de Química Ambiental. "Química Ambiental: um caminho encantado entre a Química e a Biologia", 2006.
- 3 [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); MENDONÇA, André Gustavo Ribeiro; BOTERO, Wander Gustavo; SARGENTINI JÚNIOR, Ézio; SANTOS, Ademir dos; ROSA, André Henrique; ROCHA, Julio Cesar. Determinação de constantes de troca entre íons Hg(II) e espécies metálicas originalmente complexadas por substâncias húmicas. In: XXVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005, Poços de Caldas. XXVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005. p. AB-02.
- 4 ROSA, André Henrique; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); ANTUNES, Felipe Maldonado; GOVEIA, Danielle. Avaliação da labilidade relativa de espécies metálicas (Fe, Al, Cr e Ni) ao longo do Rio Sorocaba. In: XXVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005, Poços de Caldas. XXVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005. p. AB-40.
- 5 OLIVEIRA, Guilherme Silva; VAZ, Samuel da Silva; ANTUNES, Felipe Maldonado; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); GOVEIA, Danielle; ROSA, André Henrique. Avaliação da concentração e labilidade relativa de metais em amostras de água coletadas ao longo do curso do Rio Sorocaba. In: IV Simpósio De Engenharia Ambiental, 2005, Ribeirão Preto. IV Simpósio De Engenharia Ambiental, 2005. p. 42-42.
- 6 ROSA, André Henrique; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); ANTUNES, Felipe Maldonado; GOVEIA, Danielle. Avaliação da labilidade relativa de espécies metálicas (Fe, Al, Cr e Ni) ao longo do Rio Sorocaba. In: XXVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005, Poços de Caldas. XXVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005.

- 7 BELLIN, Iramaia Corrêa; OLIVEIRA, Luciana Camargo de; GUINESI, Luciana S.; SILVA, Heliandro Cordovil; ROSA, André Henrique; ROCHA, Julio Cesar. Análise térmica de substâncias húmicas extraídas de solos de regiões alagáveis e não alagáveis da Bacia do Médio Rio Negro-AM. In: XXVI Congresso Latino Americano de Química e 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2004, Salvador-BA. Livro de resumos-XXVI Congresso Latino Americano de Química e 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2004. p. AB87.
- 8 BOTERO, Wander Gustav ; BELLIN, Iramaia Corrêa; MENDONÇA, André Gustavo Ribeiro; SANTOS, Ademir dos; ROSA, André Henrique ; SERUDO, Ricardo Lima; ROCHA, Julio Cesar. Interações entre espécies metálicas e substâncias húmicas de solos da bacia de drenagem do reservatório Anhumas, Araraquara-SP. In: XXVI Congresso Latino Americano de Química e 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2004, Salvador-BA. Livro de resumos - XXVI Congresso Latino Americano de Química e 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2004. p. AB86.
- 9 PESCARA, Igor Cardoso ; RACHID, Luciano C.; BELLIN, Iramaia Corrêa; LEHMKUHL, Arilson ; ZARA, Luiz Frabício. Automação do sistema de determinação de mercúrio com etapa de pré-concentração acoplado a geração de vapor frio. In: XXVI Congresso Latino Americano de Química e 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2004, Salvador-BA. Livro de resumos - XXVI Congresso Latino Americano de Química e 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2004. p. QA20.
- 10 ANTUNES, Felipe Maldonado; ROSA, André Henrique; OLIVEIRA, Guilherme Silva; VAZ, Samuel da Silva; BELLIN, Iramaia Corrêa. Avaliação e diagnóstico da qualidade da água ao longo do percurso do Rio Sorocaba. In: XXVI Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2004, Ilha Solteira, 2004.
- 11 BELLIN, Iramaia Corrêa; ROMÃO, Luciane Pimenta Cruz; ROSA, André Henrique; SANTOS, Ademir dos; ROCHA, Julio Cesar. Caracterização potenciométrica da capacidade de complexação de substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da bacia do médio Rio Negro-AM. In: 25a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2003, Poços de Caldas. 25a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2003.
- 12 MENDONÇA, André Gustavo Ribeiro; ROMÃO, Luciane Pimenta Cruz; CASTRO, Gustavo Rocha; BELLIN, Iramaia Corrêa; ROSA, André Henrique; ROCHA, Julio Cesar. Determinação das constantes de troca entre íons Cu(II) e Ni. Al. Fe originalmente complexados por substâncias

húmicas. In: V Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, 2003, Curitiba-PR. V Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, 2003.

- 13 ROCHA, Julio Cesar; SANTOS, Ademir dos; MASCARELLI, Robson L.; MENDONÇA, André Gustavo Ribeiro ; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); GARCIA JUNIOR, Oswaldo; MENEZES, V. A. N. ; RESENDE, Maria Olímpia de Oliveira. Inventário de parâmetros indicadores da qualidade das águas nos córregos Mulada, Muladinha e Maringá, localizadas no pólo industrial, aeronáutico espacial de Gavião Peixoto-SP. In: 2º Congresso de Extensão Universitária da UNESP, 2002, bauru. 2º Congresso De Extensão Universitária da UNESP, 2002.

Trabalhos em eventos (Resumo Expandido)

- 1 ANTUNES, Felipe Maldonado; ROSA, André Henrique; OLIVEIRA, Guilherme Silva; VAZ, Samuel da Silva; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); GOVEIA, Danielle. Avaliação da labilidade relativa de espécies metálicas (Fe, Al, Cr e Ni) ao longo do Rio Sorocaba. In: XVII Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2005, Rio Claro, 2005.
- 2 VAZ, Samuel da Silva; ROSA, André Henrique; OLIVEIRA, Guilherme Silva; ANTUNES, Felipe Maldonado; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); GOVEIA, Danielle. Avaliação por termogravimetria e análise térmica diferencial da influencia da extração alcalina nas características da matéria orgânica presente em solos. In: XVII Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2005, Rio Claro, 2005.
- 3 GOVEIA, Danielle; ROSA, André Henrique; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); OLIVEIRA, Luciana Camargo de; VAZ, Samuel da Silva; OLIVEIRA, Guilherme Silva; ANTUNES, Felipe Maldonado. Desenvolvimento de metodologia utilizando filtro de papel organomodificado para caracterização in-situ da labilidade relativa de metais ocomplexados em matéria orgânica natural (MON). In: VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, 2005, Rio de Janeiro. VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, 2005.
- 4 SANTOS, Ademir dos; [BELLIN, Iramaia Corrêa](#); Corbi Pedro Paulo; CUIN, Alexandre ; RESENDE, Maria Olímpia Oliveira; ROCHA, Julio Cesar. Competição de ligantes por espécies metálicas: substâncias húmicas versus aminoácidos. In: 4º Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, 2001, Viçosa. 4º encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, 2001. p. 39-41

Dedico este trabalho

À minha mãe, **Mara**, pela paciência, incentivo, confiança e
amor;

Aos meus irmãos **Mara Paula**,
Ricardo e **Rafael**;

À minha avó, **Malvina**, com muita saudade.
(*in memoriam*)

Morremos um pouco cada vez que perdemos um ente querido.

(Publilius Syrius)

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. André Henrique Rosa**, pela orientação, amizade e confiança, e também pela paciência;

Ao **Prof. Dr. Julio Cesar Rocha**, pela orientação, otimismo, ajuda e momentos de descontração;

Ao amigo **Dr. Ademir dos Santos**, pela amizade, incentivo, confiança e ensinamentos;

Ao **Ricardo**, por sua paciência, companhia e por seu amor.

Aos amigos do Laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química de Araraquara, **Luciana, Andrézinho, Wander e Felipe** sem vocês este trabalho não seria o mesmo;

Aos amigos **Gustavo, Luciane, Fernando, Ricardo, Heliandro, Adriana, Robson e Ricardinho**, que também foram muito importantes para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos da Unidade Diferenciada Sorocaba/Iperó **Danielle, Suzan, Cláudio, Felipe, Samuel e Guilherme**.

À grande amiga, minha irmã, **Crisla** pelo seu exemplo de perseverança e dedicação, por sua luz, alegria e momentos de descontração;

A **EMBRAPA–CNPDI**, em especial ao Prof. Dr. Ladislau Martin Neto e Dr. Marcelo Luiz Simões, pelas análises realizadas (EPR e RMN de ^{13}C).

Ao **Dr. Arnaldo Carneiro**, pela colaboração na classificação pedológica das amostras de solos utilizadas neste trabalho;

Aos **funcionários da Biblioteca** do IQ pela condução competente dos serviços bibliográficos;

Às **funcionárias da Seção de Pós Graduação**, Sandra, Célia e Patrícia, pelo atendimento;

A todos os **docentes e funcionários** do Instituto de Química de Araraquara, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho;

À **FAPESP e CNPq** pelo apoio financeiro;

À **CAPES** pela bolsa concedida.

Tente Outra Vez

Raul Seixas

Veja

Não diga que a canção está perdida

Tenha em fé em Deus, tenha fé na vida

Tente ou...tra vez

Beba

Pois a água viva ainda está na fonte

Você tem dois pés para cruzar a ponte

Nada aca...bou, não não não não

Tente

Levante sua mão sedenta e recomece a andar

Não pense que a cabeça agüenta se você parar,

**Há uma voz que canta, uma voz que dança, uma voz que
gira**

Bailando no ar

Queira

Basta ser sincero e desejar profundo

Você será capaz de sacudir o mundo, vai

Tente ou...tra vez

Tente

E não diga que a vitória está perdida

Se é de batalhas que se vive a vida

RESUMO

Neste trabalho caracterizaram-se amostras de solo e substâncias húmicas (SH) extraídas de diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro e também determinaram-se a capacidade de complexação de íons Hg(II) por SH e constantes de troca entre espécies metálicas originalmente complexadas às SH por íons Hg(II). As amostras de solos foram caracterizadas através do teor de matéria orgânica, análises elementar e granulométrica. Os resultados mostraram que os teores de matéria orgânica para as amostras de solo diminuíram com a profundidade. Com base nos resultados de análise granulométrica feita nas amostras de solos, caracterizou-se o aumento dos teores de argila em função da profundidade com a conseqüente diminuição dos teores de areia e silte. As substâncias húmicas extraídas de amostras de solos coletados na Bacia do Médio Rio Negro-AM foram caracterizados por análise elementar, ressonância paramagnética eletrônica e ressonância magnética nuclear. Os resultados mostraram que, em função da profundidade, os valores das razões atômicas C/N foram praticamente constantes ao contrário das razões C/O e C/H, as quais diminuíram. As concentrações de radicais livres do tipo semi-quinona das substâncias húmicas variaram de $0,08$ a $5,38 \times 10^{18}$ spins g^{-1} de carbono, indicando diferença entre os níveis de humificação das SH extraídas de solos amazônicos. As SH extraídas de solos de regiões alagáveis apresentaram maiores concentrações de spins em relação às SH extraídas de regiões não alagáveis, indicando influência da umidade no processo de humificação. Os dados de RMN de ^{13}C das SH mostraram seqüência decrescente de porcentagens de diferentes tipos de carbono: alifático > éteres/hidroxilas > carboxilas/ésteres/amidas > alifáticos > fenóis $\equiv$ carbonilas de aldeídos e cetonas para as amostras de SH extraídas

dos diferentes perfis dos solos amazônicos estudados. Procedimento de ultrafiltração com fluxo tangencial e membrana celulósica com porosidade 1 kDa, foi utilizado para a determinação da capacidade de complexação (CC) de íons Hg(II) por SH e constantes de troca entre espécies metálicas originalmente complexadas pelas SH por íons Hg(II) adicionados. As amostras de SH de Carvoeiro 3 e Araçá 1 apresentaram valores da capacidade de complexação mais elevados (3,75 e 2,33 mmol Hg(II) g⁻¹ COT, respectivamente) em relação as outras amostras de SH analisadas. Verificaram-se também variações na CC de íons Hg(II) pelas SH extraídas de solos de Carvoeiro 1 (região não alagável) e Carvoeiro 3 (região alagável) em função da profundidade. Os resultados obtidos foram contextualizados às diferentes áreas da Bacia estudada e utilizou-se análise quimiométrica para verificar a influência das características estruturais das substâncias húmicas e suas interações/capacidade de complexação de íons Hg(II).

PALAVRAS CHAVES: substâncias húmicas, capacidade de complexação, mercúrio

ABSTRACT

In this research were characterized humic substances (HS) and soil samples extracted from Rio Negro-AM Medium Basin and capacity of complexation (CC) of Hg(II) by HS and constants of exchange between metallic species originally complexed in the HS by Hg(II) had also been determined. The soil samples were characterized through organic material composition, elemental and granulometry analysis. The results showed decreasing of the organic material composition with the depth. According to the results taken, was characterized an increasing in the composition of clay with the depth, but in the other hand, a reduction in silt and sand composition. The humic substances extracted of soil samples from Rio Negro-AM Medium Basin were characterized by elemental analysis, electronic paramagnetic resonance and nuclear magnetic resonance. The results had shown that, in function of the depth, the atomic ratio values C/N were constants, while the atomic ratio C/O and C/H decreased. The concentrations of free radicals of the humic substances were 0.08 to 5.38×10^{18} spins g^{-1} of carbon, indicating difference in the humification levels of HS extracted from Amazonian soils. The HS extracted in flooded regions showed bigger spins concentrations comparing to ones extracted in unflooded regions, showing that the humidity influences in the process of humification. The NMR of ^{13}C dates showed the sequence of percentage of kind of carbon: aliphatic > ethers/hydroxyls > carboxyls/esters/amides > aromatics > phenols $\cong$ carbonyls of aldehydes and ketones for HS samples extracted of the differences profiles of the Amazonian soils studied. Procedure of ultrafiltration with tangential flow and cellulose membrane with porosity 1 kDa , was used for the determination of the capacity of complexation of Hg(II) by HS and constants of exchange between metallic species originally complexed in the HS by Hg(II) added. The samples of HS of Carvoeiro 3 and Araçá 1 presented values of the capacity of complexation

higher (3.75 and 2.33 mmol Hg(II) g⁻¹ TOC, respectively) in relation the other samples of HS analyzed. One also verified variations in the CC of Hg(II) for the extracted HS of soils of Carvoeiro 1 (unflooded region) and Carvoeiro 3 (flooded region) in function of the depth. The gotten results had been surpassed to the different areas of the studied Basin and used chemometric analysis to verify the influence of the structural characteristics of humic substances and its interactions/capacity of complexation of Hg(II).

KEYS WORDS: humic substances, capacity of complexation, mercury

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura proposta para o ácido húmico (SCHULTEN, 1995)	25
Figura 2	Modelo estrutural proposto para o ácido húmico (SEIN <i>et al.</i> , 1999)	25
Figura 3	Exemplos de grupos funcionais disponíveis nas substâncias húmicas para reações de complexação	30
Figura 4	Esquema do procedimento analítico utilizado para determinação da capacidade de complexação e troca entre espécies metálicas originalmente complexadas em substâncias húmicas extraídas de diferentes amostras de solo da bacia do Médio Rio Negro-AM. Condições: sistema de ultrafiltração (Sartorius Ultrasart X), equipado com membrana de porosidade de 1 kDa e 47 mm de diâmetro (cellulose, Gelman Pall-Filtron OMEGA)	37
Figura 5	Mapa da Bacia do Rio Negro (em destaque, os pontos de coleta das amostras)	45
Figura 6	Esquema do procedimento utilizado na coleta das amostras de solos	47
Figura 7	Sistema utilizado na extração das substâncias húmicas de solo por procedimento em batelada	50
Figura 8	Sistema utilizado para determinação de Hg(II) por CVAAS. Condições: solução de SnCl ₂ 20%, fluxo de 2,5 mL min ⁻¹ ; fluxo de gás carregador (N ₂) de 0,3 L min ⁻¹ . 1) fluxômetro (entrada de N ₂); 2) solução de SnCl ₂ ; 3) bomba peristáltica; 4) cela de reação; 5) cela de quantificação	53
Figura 9	Porcentagens de matéria orgânica em amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM em função da profundidade	58
Figura 10	Razões atômicas C/N das amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM em função da profundidade	60
Figura 11	Razões atômicas C/N das substâncias húmicas extraídas de amostras de solos coletados da bacia do Médio Rio Negro-	63

AM, em diferentes profundidades

- Figura 12** Razões atômicas C/O das substâncias húmicas extraídas de amostras de solos coletados da bacia do Médio Rio Negro-AM, em diferentes profundidades 64
- Figura 13** Razões atômicas C/H das substâncias húmicas extraídas de amostras de solos coletados na bacia do Médio Rio Negro-AM, em diferentes profundidades 64
- Figura 14** Espectros de spin eletrônico de substâncias húmicas extraídas de solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM na profundidade 0-10 cm 66
- Figura 15** Concentração de spins de substâncias húmicas extraídas dos solos de Ramada e Iara em diferentes profundidades (0-10, 10-20, 20-40, 40-60 cm) 68
- Figura 16** Concentração de spins de substâncias húmicas extraídas de Tucandera (Tu), Araçá₁ (A1), Carvoeiro₁ (C1) e Carvoeiro₃ (C3) em diferentes profundidades (0-10, 10-20, 20-40, 40-60 cm) 68
- Figura 17** Espectros de RMN de ¹³C no estado sólido de amostras de substâncias húmicas extraídas de solos coletados à profundidade de 0-10 cm na Bacia do Médio Rio Negro-AM 71
- Figura 18** Comparação entre as porcentagens de diferentes tipos de carbono nas amostras de substâncias húmicas extraídas de solos coletados à profundidade de 0-10 cm na Bacia do Médio Rio Negro-AM 72
- Figura 19** Porcentagens dos diferentes tipos de carbono presentes nas substâncias húmicas extraídas de amostras de solos de Araçá₁ na Bacia do Médio Rio Negro-AM, coletados em diferentes profundidades 0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm 73
- Figura 20** Curva típica de determinação da capacidade de complexação de substâncias húmicas extraídas de solos da região da bacia do Médio Rio Negro – AM por Hg(II). Condições: concentração de SH 100 mg L⁻¹; pH = 5,0 75
- Figura 21** Dendrograma obtido a partir de determinações das razões atômicas C/N, C/H e C/O; capacidade de complexação; 78

carbono orgânico total; porcentagens dos diferentes tipos de carbono e concentração de spins

- Figura 22** Dendrograma para as amostras de substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da bacia do Médio Rio Negro obtido a partir das determinações de razões atômicas C/N, C/H e C/O; capacidade de complexação; carbono orgânico total; porcentagens dos diferentes tipos de carbono e concentração de spins 79
- Figura 23** Constantes de troca entre Hg(II) e metais originalmente complexados por substâncias húmicas extraídas de amostras de solo de [Carvoeiro 1](#) (região não alagável). Condições: 0,1 mg mL⁻¹; pH = 5,0 82
- Figura 24** Constantes de troca entre Hg(II) e metais originalmente complexados por substâncias húmicas extraídas de amostras de solo de [Carvoeiro 3](#) (região alagável). Condições: 0,1 mg mL⁻¹; pH = 5,0 82
- Figura 25** Correlações entre as porcentagens de matéria orgânica e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM 86
- Figura 26** Correlações entre as porcentagens de carbono total e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM 86
- Figura 27** Correlações entre as porcentagens de argila e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM 87
- Figura 28** Correlações entre razões atômicas C/N e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM 87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição elementar média de substâncias húmicas extraídas de solos	26
Tabela 2	Fatores que influenciam as determinações de parâmetros de complexação de SH-Metal	34
Tabela 3	Classificação pedológica, localização e características das regiões de coleta das amostras de solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM	46
Tabela 4	Resultados dos teores de matéria orgânica, pH, razões atômicas C/N e porcentagens de argila, silte e areia das amostras de solo coletadas na bacia do Médio Rio Negro-AM	57
Tabela 5	Resultados das razões atômicas (C/H, C/N e C/O) e concentração de spins para substâncias húmicas extraídas de solos da bacia do Médio Rio Negro-AM em diferentes profundidades	62
Tabela 6	Porcentagens dos diferentes tipos de carbono presentes nas substâncias húmicas extraídas de solos coletados à profundidade de 0-10 cm na Bacia do Médio Rio Negro-AM	72
Tabela 7	Capacidade de complexação (CC) e concentrações de spins (spins g ⁻¹ de C) de substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da bacia do Médio Rio Negro-AM	75
Tabela 8	Capacidade de complexação (CC) de substâncias húmicas extraídas em diferentes profundidades de solos da bacia do Médio Rio Negro-AM	77
Tabela 9	Resultados de densidade do solo, teores de matéria orgânica, teores de substâncias húmicas, mercúrio original e capacidade de complexação de substâncias húmicas por íons Hg(II) em amostras coletados na bacia do Médio Rio Negro-AM	84
Tabela 10	Área aproximada dos pontos de coletas, volume, massa e quantidade de Hg(II) complexado em solos da bacia do Médio Rio Negro – AM na profundidade 0-10 cm	89

LISTA DE ABREVIATURAS

SH	Substâncias húmicas
MO	Matéria orgânica
EIS	Eletrodo íon seletivo
UF	Ultrafiltração
UF-FT	Ultrafiltração com fluxo tangencial
CVAAS	Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio
GFAAS	Espectrometria de absorção atômica com atomização por forno de grafite
EPR	Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica
RMN de ^{13}C	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono 13
AHA	Análise hierárquica de agrupamento
CC	Capacidade de complexação
COT	Carbono orgânico total

SUMÁRIO

CURRICULUM VITAE

DEDICATÓRIA

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

INTRODUÇÃO	23
1 SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	24
1.1 Definição, formação e estrutura das substâncias húmicas	25
1.2 Importância das substâncias húmicas no ambiente	27
1.3 Interações entre substâncias húmicas e espécies metálicas	28
1.3.1 Interações entre substâncias húmicas e mercúrio	30
1.3.2 Modelos de interpretação da complexação	31
1.3.3 Técnicas empregadas no estudo de complexação	33
1.3.3.1 Técnicas de não separação	34
1.3.3.2 Técnicas de separação	36
RELEVÂNCIA E OBJETIVOS	39

EXPERIMENTAL	42
1 Equipamentos	43
2 Reagentes e materiais	44
3 Purificação da água	44
4 Limpeza das vidrarias	44
5 Amostragem	45
6 Coleta das amostras	47
7 Preparo das amostras	47
8 Caracterizações dos solos	47
8.1 Determinação do teor de matéria orgânica e inorgânica	47
8.2 Análise elementar	48
8.3 Análise granulométrica das amostras de solo	48
8.4 Digestão das amostras de solo e determinações de mercúrio	49
9 Extração das substâncias húmicas	49
10 Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica	50
11 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{13}C	51
12 Carbono orgânico total	51
13 Capacidade de complexação íons Hg(II) e troca com espécies metálicas (Cu, Cd, Mg, Zn e Fe) originalmente complexadas	51
14 Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor de mercúrio a frio (CVAAS)	52
15. Espectrometria de absorção atômica com atomização por forno de grafite	53
16 Análise exploratória de dados	53
17 Descarte de resíduos	54

RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
1 Determinação do teor de matéria orgânica e análise elementar dos solos	56
2 Caracterização das substâncias húmicas extraídas	60
2.1 Razões atômicas C/H, C/N, C/O e concentração de spins	60
2.2 Ressonância magnética nuclear de ^{13}C	69
3 Capacidade de complexação das amostras de substâncias húmicas por íons Hg(II)	73
3.1 Tratamento multivariado de dados para amostras de substâncias húmicas	77
4 Determinação de constantes de troca de mercúrio por espécies metálicas originalmente complexadas às substâncias húmicas	80
5 Distribuição e complexação de mercúrio em solos da bacia do Médio Rio Negro	83
CONCLUSÕES	92
REFERÊNCIAS	95

Iramaia Corrêa Bellin. "Interações entre íons Hg(II) e substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro, Amazônia"

INTRODUÇÃO

1 SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

1.1 Definição, formação e estrutura das substâncias húmicas

A matéria orgânica presente nos solos, turfas e sedimentos consiste em uma mistura de produtos, em vários estágios de decomposição, resultantes da degradação química e biológica de resíduos vegetais e animais, e da atividade de microorganismos (ROSA, ROCHA, FURLAN, 2000). Essa matéria é chamada de húmus, substâncias húmicas (SH), e substâncias não húmicas. A base da diferenciação é que as substâncias não húmicas são de natureza definida, como por exemplo, aminoácidos, carboidratos, proteínas e ácidos orgânicos, enquanto as substâncias húmicas são de estrutura química complexa compondo um grupo de compostos heterogêneos (STEVENSON, 1982; ROSA *et al.*, 2005a).

Devido sua complexidade estrutural, após a extração alcalina as SH têm sido fracionadas em três principais frações. Os ácidos húmicos definidos operacionalmente como a fração das SH solúvel em meio alcalino diluído e que precipita pela acidificação do extrato alcalino. Os ácidos fúlvicos permanecem em solução quando o extrato alcalino é acidificado e a humina é a fração não extraída por ácido ou álcali diluído (HAYES, 1998).

Na literatura existem várias propostas estruturais para as SH, KONONOVA (1966); SCHNITZER & KHAN (1978); STEVENSON (1982), entretanto, de acordo com STEVENSON (1985) nenhuma parece ser inteiramente satisfatória. Provavelmente, isto ocorre não apenas devido à complexidade e heterogeneidade estrutural das SH, mas principalmente pela falta de uma identidade estrutural genérica a qual é fortemente influenciada pelo grau e mecanismo de decomposição. As Figuras 1 e 2 mostram modelos estruturais para o ácido húmico.

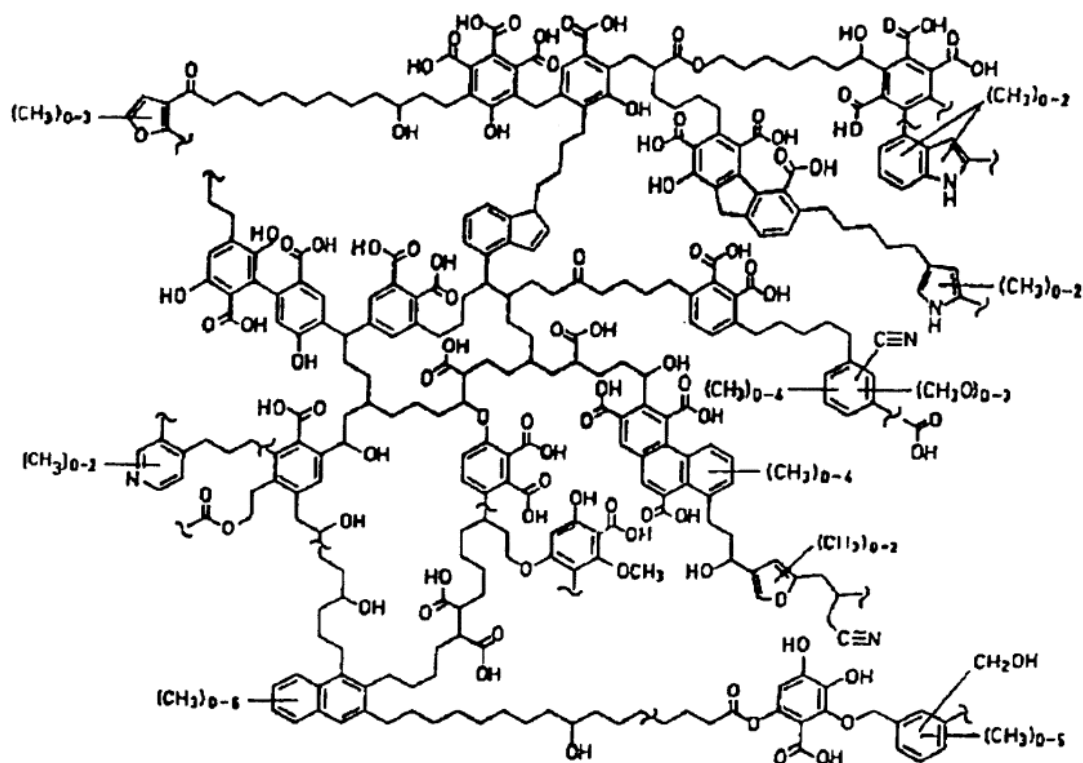


Figura 1 – Estrutura proposta para o ácido húmico (SCHULTEN, 1995).

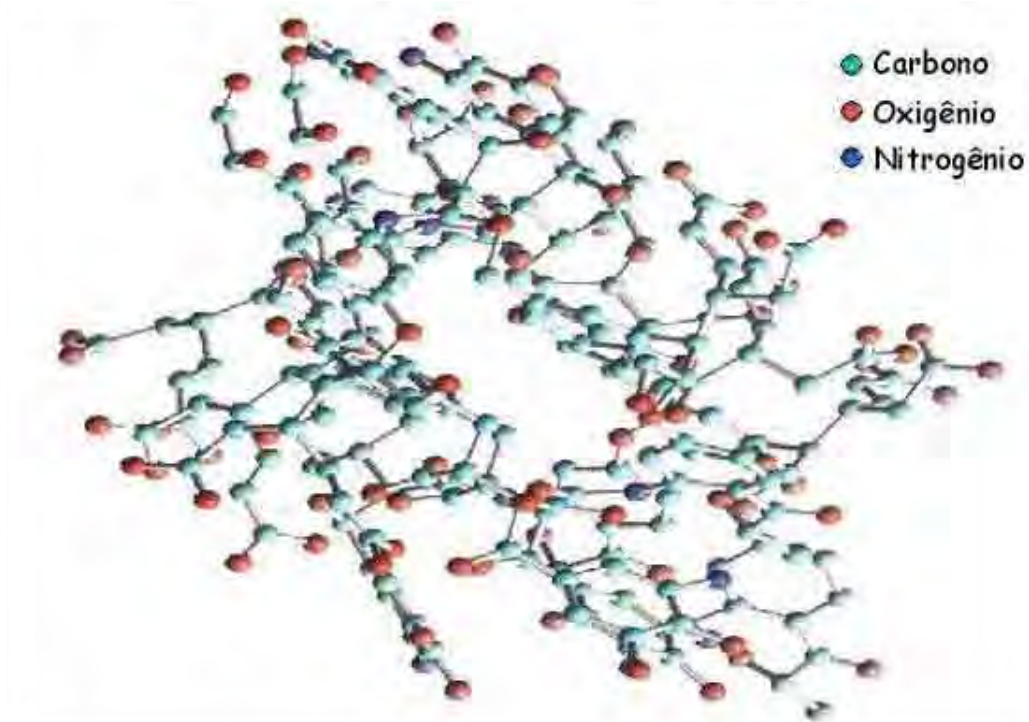


Figura 2 – Modelo estrutural proposto para o ácido húmico (SEIN *et al.*, 1999).

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

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

- 1) as frações de ácido húmico e ácido fúlvico, são misturas de moléculas com elevada massa molar (STEVENSON, 1982);
- 2) há variação da razão entre ácido húmico e ácido fúlvico em função do tipo de solo, a qual também está associada ao grau de humificação do mesmo (ROSA, ROCHA, FURLAN, 2000).
- 3) as substâncias húmicas extraídas de solos têm composição elementar média de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1 - Composição elementar média de substâncias húmicas extraídas de solos.

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

Adaptada de ROCHA & ROSA (2003).

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

1.2 Importância das substâncias húmicas no ambiente

As substâncias húmicas representam a principal forma de matéria orgânica (MO) distribuída no planeta Terra. Elas são encontradas não apenas em solos, mas também em águas naturais, turfas, pântanos, sedimentos aquáticos e marinhos. A quantidade de carbono presente na Terra na forma de SH (60×10^{11} t) excede àquela presente em organismos vivos (7×10^{11} t) (ROSA, 2001). As SH são ambientalmente importantes principalmente pelas seguintes razões:

- Influenciam a biodisponibilidade de metais do solo para plantas e/ou organismos do micro e macro fauna;
- Influenciam a toxicidade de alguns metais, formando complexos com diferentes labilidades relativas (ROCHA, TOSCANO, BURBA, 1997; ROCHA, TOSCANO, CARDOSO, 1997), reduzindo a toxicidade de certos metais como Cu^{+2} e Al^{+3} para organismos aquáticos e solos (BLOOM, MCBRIDE, WEAVER, 1979; THOMAS *et al.*, 1993);
- Influenciam o transporte, acúmulo e concentração de espécies metálicas no ambiente;
- De acordo com WERSHAW (1993), propriedades físico-químicas do solo e de sedimentos são, em larga extensão, controladas pelas substâncias húmicas;
- Atuam no mecanismo de sorção no solo de gases orgânicos e inorgânicos presentes na atmosfera;
- Interagem com compostos orgânicos antrópicos, por exemplo, pesticidas e herbicidas por efeitos de adsorção, solubilização, hidrólise, processos microbiológicos e fotossensibilizantes (BARCELÓ, 1991; SANTOS, 1998). O efeito solubilizante das SH sobre compostos orgânicos pode desempenhar um papel importante na dispersão, mobilidade e transporte

desses produtos no ambiente aquático e terrestre (LACORTE & BARCELÓ, 1995).

1.3 Interações entre substâncias húmicas e espécies metálicas

Diferentemente dos complexantes ou ligantes simples (Cl^- , CO_3^{2-} , aminoácidos), as substâncias húmicas contém grande número de sítios complexantes por molécula, resultando em alta estabilidade termodinâmica dos complexos formados, alterando sobremaneira a forma química do metal em solução (NEUBECKER & ALLEN, 1983).

Devido ao alto teor de oxigênio encontrado na estrutura das SH, elas têm excepcional capacidade para complexação de metais (ZHANG *et al.*, 1996). Esta propriedade de interagir com íons metálicos para formar complexos de diferentes estabilidades e características estruturais, tem sido objeto de estudos de vários pesquisadores (ROCHA & ROSA, 2003; ROSA, ROCHA, BURBA, 2002; SCHNITZER & SKINNER, 1968; BURBA, ROCHA, SCHULTE, 1993, BURBA, 1994; BURBA, ROCHA, KLOCKOW, 1994). O complexo formado tem estabilidade variada para cada metal, sendo mais elevada com metais potencialmente tóxicos. A estabilidade do quelato SH-Metal é determinada por uma série de fatores, incluindo o número de átomos que formam a ligação com o metal, a natureza e a concentração do íon metálico, concentração de SH, pH, tempo de complexação etc. (ROCHA, TOSCANO, BURBA, 1997; ROCHA, TOSCANO, CARDOSO, 1997).

Entretanto, o ambiente pode exercer influência na estabilidade do complexo SH-Metal devido às macromoléculas húmicas apresentarem:

- ◆ Propriedades polifuncionais, as quais podem ser caracterizadas por:
 - Natureza química dos sítios de coordenação: em contraste com ligantes simples (L), os compostos com grupos homólogos (CGH) possuem sítios de coordenação com diferentes naturezas químicas;

- Meio eletrônico dos sítios de coordenação: dentro de uma dada macromolécula grupos de sítios de coordenação podem ser originários de diferentes fragmentações (por ex.: cadeia alifática, anéis aromáticos) podendo exercer diferentes efeitos eletrônicos;

- ◆ Estruturas conformacionais

O impedimento estérico dos sítios de coordenação depende da conformação espacial da macromolécula, a qual pode variar de acordo com a força iônica do meio, pH e concentração de íons na solução. Particularmente, a conformação depende do processo de hidratação, desidratação e formação de ligações de hidrogênio ou ligações com íons metálicos, os quais dependem do grau de ocupação dos sítios complexantes.

- ◆ Propriedades polieletrólíticas

Na macromolécula húmica, os sítios complexantes são divididos em sítios maiores e menores, dependendo da fração molar total de sítios considerados. Sítios maiores são aqueles presentes na ordem de 90% dos sítios presentes (carboxilatos e fenolatos). Sítios menores correspondem a uma pequena fração dos sítios complexantes totais, porém, incluem um número variado de tipos de sítios com grupos funcionais contendo nitrogênio e enxofre. Para o controle de metais traço em sistemas naturais, esses sítios são de grande importância devido à sua alta energia de complexação e afinidade por metais (TOWNSHEND, 1995).

A importância relativa dessas propriedades altera-se com o grau de sítios ocupados. Isto constitui uma diferença fundamental comparada às propriedades dos ligantes simples, sendo uma das maiores dificuldades para entender o comportamento dos complexos homólogos (BUFFLE, 1990).

As principais estruturas envolvidas no processo de complexação ou quelatação de metais por substâncias húmicas são mostradas na Figura 2, onde

se destacam como as mais importantes no processo de formação do quelato as estruturas (c) (ftalato) e (e) (salicilato) (ROSA *et al.*, 2005b; THURMAN, 1985; STEVENSON, 1994).

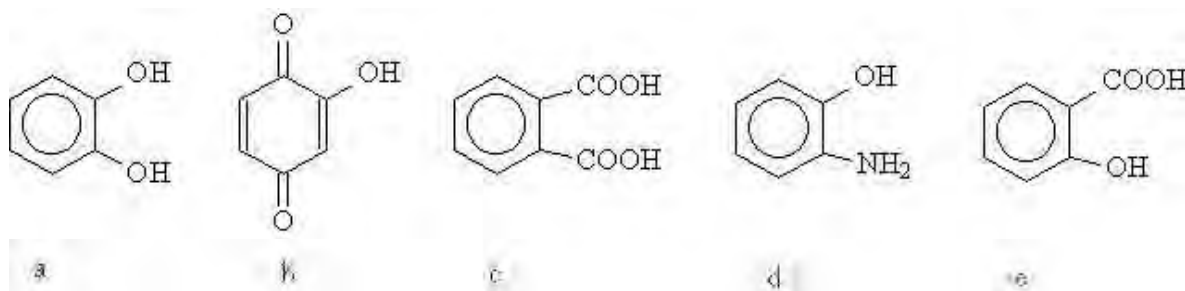


Figura 3 - Exemplos de grupos funcionais disponíveis nas substâncias húmicas para reações de complexação.

1.3.1 Interações entre substâncias húmicas e mercúrio

Elevados níveis de mercúrio determinados em solos/sistemas aquáticos amazônicos foram por muito tempo atribuídos principalmente a atividades mineradoras (LACERDA, SOUZA, RIBEIRO, 2004; MALM, 1998). Como poluente global derivado de processos naturais e antrópicos, o mercúrio possui tempo de residência na atmosfera relativamente longo, sendo transportado via deposição atmosférica seca e/ou úmida. Após aporte na água ou no solo, a dinâmica do mercúrio pode estar associada à do carbono orgânico e, neste caso, um importante fator a ser considerado é o alto teor de matéria orgânica presente nos sistemas aquáticos e terrestres dessa região (FADINI & JARDIM, 2001; ROCHA *et al.*, 1999; MAURICE-BOURGOIN *et al.*, 2003).

As principais formas iônicas de mercúrio, Hg^{2+} e CH_3Hg^+ , são fortemente complexadas por ácidos húmicos, fúlvicos e outras moléculas orgânicas presentes nos ecossistemas naturais (ROCHA *et al.*, 2000). No solo, esses complexos organo-mercuriais são adsorvidos na superfície das argilas e na matriz sólida a qual consiste principalmente de óxidos de ferro, alumínio e

manganês e substâncias húmicas (ROULET *et al.*, 1998). Solos argilosos têm alta capacidade de reter (complexar, adsorver química e/ou fisicamente) mercúrio, podendo acumulá-lo durante anos. A quantidade de mercúrio acumulada depende principalmente da deposição, das características físico-químicas e do grau de decomposição do solo (ROSA *et al.* 2005b). DO VALLE *et al.* (2005) estudando a distribuição de mercúrio em diferentes tipos de solos da região de Manaus observaram que a localização geográfica, o tipo de solo e a granulometria das amostras influenciam na distribuição da concentração de mercúrio. As concentrações de mercúrio determinadas foram semelhantes às obtidas por outros autores em áreas com atividades mineradoras.

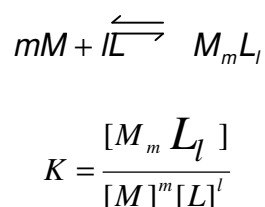
Embora a Bacia do Médio Rio Negro-AM seja uma região geograficamente distante de fontes emissoras antrópicas, em estudos recentes, determinaram-se concentrações relativamente altas de Hg em amostras de cabelos da população ribeirinha (SILVA-FORSBERG, FORSBERG, ZEIDEMANN, 1999; DOREA *et al.* 2003) e em peixes predadores (DOREA *et al.* 2003). De acordo com FADINI & JARDIM (2001), fluxos de mercúrio nessa região são controlados por vários processos incluindo reações fotoquímicas, oxidação/redução e transformações microbianas. Quanto ao solo, estudos recentes indicam que este reservatório exerce importante função no ciclo biogeoquímico desse metal, como compartimento receptor/emissor de Hg para a atmosfera e hidrosfera (MAURICE-BOURGOIN *et al.*, 2003; DE OLIVEIRA *et al.*, 2001; FOSTIER *et al.*, 2000).

1.3.2 Modelos de interpretação da complexação

Para o estudo de reações de complexação de SH têm sido utilizados modelos matemáticos, os quais estão ligados às propriedades físicas das SH. Todos os modelos de complexação de metal por SH são empíricos, haja vista

a complexidade do sistema. Logo, um modelo deve descrever a interação do metal em função da concentração de SH, pH e força iônica (PERDUE, 1998; ROMÃO, 2003).

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



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

Para um sistema polifuncional, o número de parâmetros a ser determinado é muito grande. Contudo, isto não é possível na prática, pois para os parâmetros ajustáveis serem significativos estatisticamente somente três ou quatro deles podem ser usados para ajustar as curvas de titulação (BUFFLE, 1980).

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

Alguns métodos gráficos, os quais utilizam modelos de ligantes discretos, são utilizados para avaliar e modelar sistemas aquáticos e determinar o valor de K e $[L]$ para os complexos formados entre metais e

diversos ligantes. Dentre estes, os mais discutidos na literatura são os de SCATCHARD, COLEMAN, SHEN (1957) e RUZIC (1982).

1.3.3 Técnicas empregadas no estudo de complexação

Qualquer modelo completo de especiação química deve ser capaz de distinguir as formas do íon metálico livre das formas complexadas. Na maioria dos casos, a concentração do íon metálico livre é determinada e em seguida é estimada a concentração do metal complexado (PERDUE, 1998; ROMÃO, 2003).

A escolha de um método para especiação química influencia os resultados encontrados, pois os vários métodos medem aspectos diferentes do sistema e operam sob condições diferentes. Na Tabela 2 estão listados alguns fatores que influenciam as determinações de parâmetros de complexação de metal-SH (SAAR & WEBER, 1982).

Diversas técnicas têm sido utilizadas no estudo de complexação de metais pela matéria orgânica natural, dentre as quais pode-se citar a voltametria (PARDO *et al.*, 1990; NURNBERG, 1982, FLORENCE, 1986); potenciometria (BUFFLE, GRETER, HAERDI, 1977; ABATE & MASINI, 1999; TOWN & POWELL, 1993); ultrafiltração (MATHUTHU & EPHRAIM, 1993; STAUB, BUFFLE, HAERDI, 1984) e cromatografia (BUFFLE, 1990).

Todas essas técnicas possuem vantagens e limitações (BUFFLE *et al.*, 1980; NIFANT'EVA *et al.*, 1999; TUSCHALL & BREZONIK, 1983; THURMAN, 1985).

Tabela 2 – Fatores que influenciam as determinações de parâmetros de complexação de SH-Metal.

Concentração de substâncias húmicas
Força iônica
Temperatura
pH
(influi tanto nas características das SH como nas do metal)
Método de análise
Metodologia de manipulação dos dados e cálculo de K

Adaptada de ROMÃO (2003)

1.3.3.1 Técnicas de não separação

As principais técnicas de não separação são as eletroanalíticas, destacando-se as potenciométricas e voltamétricas. Nas voltamétricas é medida a corrente gerada na interface eletrodo/solução, enquanto nas potenciométricas a corrente é aproximadamente zero (BUFFLE, 1990).

A técnica potenciométrica, a qual utiliza eletrodos de membrana conhecidos como eletrodos íon seletivos (EIS), é a mais empregada na determinação da capacidade complexante de SH. É simples, rápida e de fácil operação, além de determinar a atividade dos íons em solução, não existe ambigüidade na medida da concentração das espécies (NEUBECKER & ALLEN, 1983; NIFANT'EVA *et al.*, 1999).

A grande limitação da potenciometria é a falta de sensibilidade. Geralmente o limite de detecção é maior que a concentração do íon metálico livre presente em sistemas naturais. Também, existem poucos eletrodos seletivos disponíveis comercialmente (p. ex. Cu, Cd, Pb, Ca) (THURMAN, 1985; MATHUTHU & EPHRAIM, 1993).

A interferência de agentes oxidantes na resposta dos eletrodos de cobre, cádmio e chumbo, pela oxidação da superfície da membrana, reduz a sensibilidade da membrana dos EIS. Os experimentos precisam ser feitos na ausência de oxigênio e íons cloreto são interferentes potenciais, pois aumentam a capacidade complexante do meio (TANI *et al.*, 1999).

Problemas de adsorção de compostos orgânicos nos EIS são menores que nos eletrodos voltamétricos. De acordo com BUFFLE (1990), a interferência é pequena para compostos fúlvicos aquáticos em concentrações menores que 100 mg L^{-1} . Segundo ABATE & MASINI (1999), efeitos de adsorção e de "memória" causam flutuações nos valores de E^0 (termo de potencial que engloba o potencial padrão do par redox, o potencial do eletrodo de referência, o potencial de junção líquida, o coeficiente de atividade do íon M^{n+}) e S (constante da equação de Nernst).

A voltametria de pulso diferencial anódica é geralmente a técnica voltamétrica mais empregada nos estudos de especiação de metais em amostras aquáticas (SAAR & WEBER, 1982). Tem a vantagem de detectar baixas concentrações de metal com limites de detecção cerca de $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ (BOND, 1980).

Da mesma forma que os EIS, os experimentos na voltametria precisam de eletrólito suporte e poucos metais podem ser determinados (Pb^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+}) (NIFANT'EVA *et al.*, 1999; THURMAN, 1985). Contudo, as principais limitações dos métodos voltamétricos na determinação de parâmetros de complexação são: a) formação de uma corrente cinética pela dissociação dos complexos metálicos e perturbação do equilíbrio entre íons livres e complexados; b) adsorção da matéria orgânica na superfície do eletrodo, a qual leva a formação de complexos estáveis adsorvidos e, conseqüente diminuição da corrente difusional quando da utilização do

eletrodo de mercúrio como eletrodo de trabalho (FLORENCE, 1986; BUFFLE, 1990; ROMÃO, 2003).

1.3.3.2 Técnicas de separação

A ultrafiltração (UF) é um dos métodos citados na literatura para extrair e concentrar substâncias húmicas aquáticas (AIKEN, 1985). Este procedimento também tem sido empregado para fracionar a matéria orgânica em diferentes tamanhos moleculares. Os solutos dissolvidos são separados por membranas de acordo com o tamanho molecular (ROCHA *et al.*, 1999, 2000; BURBA *et al.*, 1998). É um procedimento barato, versátil, não destrutivo e sem adição de reagentes, minimizando a possibilidade de alterações na amostra original (KILDUFF & WEBER, 1992; ROMÃO, 2003).

TUSCHALL & BREZONIK (1983), utilizaram a técnica de ultrafiltração na determinação de propriedades de complexação (p. ex. constantes de equilíbrio) de íons Cu(II) por ligantes macromoleculares. Esse procedimento consistia de um reservatório fechado e pressurizado, contendo a solução do ligante e conectado à célula de ultrafiltração. Contudo, problemas de entupimento das membranas devido ao aumento da concentração do soluto na superfície da membrana constituíram-se grandes limitações desse procedimento.

VAN DEN BERGH, JAKUBOWSKI, BURBA (2001), desenvolveram um procedimento de ultrafiltração em fluxo tangencial e simples estágio (UF-FT) capaz de discriminar a concentração do metal livre (Figura 3). O sistema UF-FT comparado com o UF convencional apresenta vantagens, como trabalhar com sistemas abertos, redução de efeitos da polarização e/ou entupimento das membranas; menor volume do filtrado diminuindo o tempo de filtração e

minimizando deslocamentos no equilíbrio da solução, além da maior rapidez na filtração (cerca de 2 mL min^{-1}).

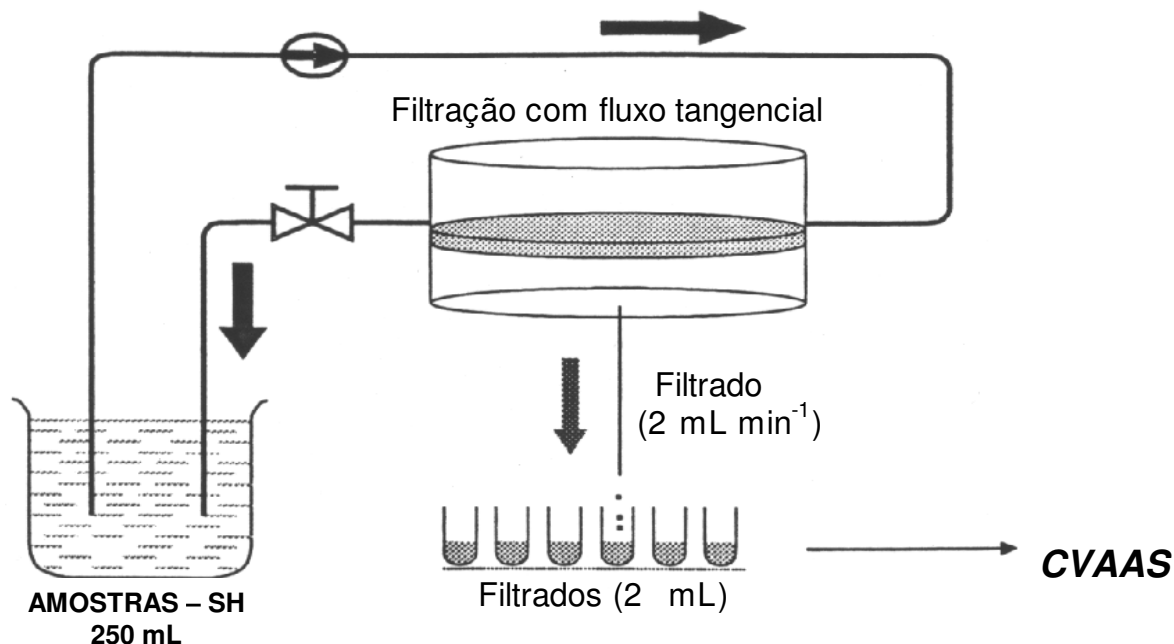


Figura 4 - Esquema do procedimento analítico utilizado para determinação da capacidade de complexação e troca entre espécies metálicas originalmente complexadas em substâncias húmicas extraídas de diferentes amostras de solo da bacia do Médio Rio Negro - AM. Condições: sistema de ultrafiltração (Sartorius Ultrasart X), equipado com membrana de porosidade de 1 kDa e 47 mm de diâmetro (cellulose, Gelman Pall-Filtron OMEGA).

Os coeficientes de retenção R_X ($X = M; L$ ou ML) são parâmetros importantes na utilização da ultrafiltração para determinar a capacidade de complexação e constantes de estabilidade condicional de íons metálicos por ligantes naturais. A retenção do ligante e complexo pela membrana deve ser completa ($R_L=1$ e $R_{ML}=1$), enquanto o íon metálico deverá passar através da membrana ($R_M=0$). Assim, a concentração do metal livre será igual a $[M]$ determinada no filtrado e $[ML]$ será obtida pela diferença entre a $[M]_{total}$ e $[M]$ (STAUB, BUFFLE, HAERDI, 1984; NIFANT'EVA *et al.*, 1999).

Entretanto, a retenção de 100% de L e ML dificilmente é obtida, provavelmente devido à dimensão dos poros da membrana e do tamanho

molecular da matéria orgânica. Pois, o tamanho varia com a configuração e carga, os quais por sua vez dependem do pH, força iônica e outras condições da solução (STAUB, BUFFLE, HAERDI, 1984).

Da mesma forma, tem-se encontrado valores de R_M maiores que zero. Contudo, os valores de $R_M > 0$ podem ser devidos à formação de hidroxicomplexos de metais, seguida do processo de adsorção dessas espécies na membrana. Entretanto, na presença de ligantes orgânicos espera-se competição entre as reações de complexação e o decréscimo da importância do processo de adsorção e assim, o decréscimo real dos valores de R_M (NIFANT'EVA *et al.*, 1999).

A principal vantagem da ultrafiltração é não possuir limitação nem quanto à natureza do íon metálico, nem do ligante (BUFFLE & STAUB, 1984). Além disso, os limites de detecção para os metais são limitados às sensibilidades das técnicas empregadas na determinação dos mesmos (p. ex.: espectrometria de absorção atômica) (VAN DEN BERGH, JAKUBOWSKI, BURBA, 2001). Comparada a outras técnicas de separação, uma vantagem da UF é de não ser demorada como a diálise e nem perturbar o equilíbrio de complexação como a cromatografia de troca iônica (NIFANT'EVA *et al.*, 1999).

Iramaia Corrêa Bellin. "Interações entre íons Hg(II) e substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro, Amazônia"

RELEVÂNCIA E OBJETIVOS

A Bacia do Rio Negro ocupa uma área de 696.800 km² representando 14% da área total da Amazônia Brasileira (6.430.000 km²) e tem como principal tributário o Rio Negro, que possui uma extensão de aproximadamente 1.700 km (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 1944). Sua área de drenagem é constituída de solos arenosos (podzólicos), possuindo uma camada húmica, sendo ácidos e, geralmente, úmidos e anaeróbicos. Esta área é considerada relativamente preservada e apresenta três tipos de águas: águas brancas, escuras e claras (SIOLI, 1985). Além disto, este ecossistema é caracterizado pelo variado tipo de vegetação, áreas desflorestadas e principalmente por duas estações hidrológicas distintas: o período de seca (Setembro a Fevereiro) e o período de chuvas (Março a Agosto), durante o qual o nível das águas aumentam em até 15 metros. No período de chuvas os rios inundam as áreas de florestas, formando os chamados igapós, os quais agem como importante fonte de matéria orgânica lábil para os sistemas aquáticos, podendo influir no ciclo de carbono e mercúrio da região (BISINOTI, 2005).

A maioria dos trabalhos que trata da capacidade de complexação das substâncias húmicas refere-se ao íon metálico Cu(II) (ROMÃO, 2003; ANTONELLI *et al*, 2001; SOARES & VASCONCELOS, 1994; ABATE & MASINI, 1999), devido a forte interação deste metal com esses ligantes. Contudo, não menos importante é o estudo da complexação por ligantes orgânicos naturais por outros metais, como por exemplo, o Hg.

Estudos de especiação de Hg mostram que as SH influem na geoquímica do Hg por reações de complexação e/ou redução em solos, afetando sua disponibilidade e transporte no ambiente. A capacidade do solo para fixar espécies mercuriais faz com que, em muitos casos, o processo de lixiviação seja praticamente insignificante. A retenção de Hg(II) pode ocorrer como um processo adsortivo em argila minerais, mas interações com ligantes

fortes, como materiais húmicos, também estão envolvidas em larga extensão. Em muitos solos a concentração de Hg varia com a profundidade, particularmente em solos virgens como a maioria dos solos da bacia do Rio Negro. Nestes casos a amostragem a várias profundidades é importante.

Desta forma, a capacidade de complexação de íons Hg(II) e as constantes de troca entre as espécies metálicas originalmente ligadas e o íons Hg(II) fornecem informações importantes para o entendimento das interações entre metais e substâncias húmicas na bacia do Médio Rio Negro. Assim sendo, este trabalho teve como objetivos:

- Caracterizar físico-química dos diferentes perfis de solos coletados na Bacia do Médio Rio Negro—AM;
- Extrair e caracterizar estrutural de substâncias húmicas dos diferentes tipos de solos coletados;
- Desenvolver metodologia baseada em sistema de ultrafiltração equipado com membrana de 1 kDa para determinar a capacidade de complexação de Hg(II) por substâncias húmicas;
- Determinar a capacidade de complexação de Hg(II) por substâncias húmicas extraídas dos diferentes solos coletados;
- Análise quimiométrica para verificar da influência das características estruturais das substâncias húmicas na capacidade de complexação de Hg(II);
- Contextualizar ambientalmente os resultados de caracterização de solos e substâncias húmicas e parâmetros de complexação de Hg(II).

Iramaia Corrêa Bellin. "Interações entre íons Hg(II) e substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro, Amazônia"

EXPERIMENTAL

1 Equipamentos

- agitador magnético, QUIMIS Mod. Q-261-22;
- balança analítica com precisão 0,0001 g, SHIMADZU Mod. AW220;
- balança de prato externo, precisão 0,01 g, MARTE Mod. AL500
- bloco digestor construído em alumínio (TECNAL Mod. TE 040/25) com controlador de temperaturas para rampas e patamares (TECNAL Mod. 007D);
- destilador de ácidos em quartzo, MICRONAL;
- mesa agitadora com movimento circular horizontal;
- centrífuga com capacidade para 18000xg, BECKMAN Mod. Avanti J-25;
- equipamento para análise elementar CHNSO, THERMO FINNIGAN FlashEA 1112;
- espectrômetro de absorção atômica com atomização por chama, VARIAN Mod. AA240FS;
- espectrômetro de absorção atômica com atomização por forno de grafiteforno de grafite, VARIAN Mod. AA 240Z;
- estufa com renovação de ar, FANEM Mod. 320-SE;
- pH portátil para medidas de campo, WTW Mod. pH315i/SET;
- micropipetas automáticas de volumes variáveis, GILSON;
- mufla EDGCON 5P;
- placa de aquecimento MARCHESONI Mod. 046;
- sistema purificador de água MILLIPORE Mod. Milli-Q;
- vidraria comum a um laboratório de Química Analítica;
- Espectrômetro de ressonância paramagnética eletrônica BRUKER EMX banda X (~9 GHz);
- Espectrômetro de ressonância magnética nuclear VARIAN-300, INOVA;
- Analisador de carbono orgânico SCHIMADZU TOC-5000.

2 Reagentes e materiais

- ácido sulfúrico 98%, H_2SO_4 , MM = 98,08 g mol⁻¹;
- ácido nítrico 65%, HNO_3 , MM = 63,01 g mol⁻¹;
- cloreto de estanho(II), $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, MM = 225,63 g mol⁻¹;
- cloridrato de hidroxilamina, $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, MM = 69,49 g mol⁻¹;
- Hidróxido de sódio, NaOH , MM = 40,0 g mol⁻¹;
- padrões certificados de solos NIST – SEM 2709, San Joaquin Soil e SRM 2710, Montana Soil;
- permanganato de potássio, KMnO_4 , MM = 158,03 g mol⁻¹;
- persulfato de potássio, $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, MM = 270,31 g mol⁻¹;
- Soluções padrão 1000 mg L⁻¹ de metais (Hg, Cu, Cd, Mg, Zn e Fe).

Todos os reagentes utilizados na digestão das amostras de solo e determinação de Hg(II) foram secos em estufas a 55 °C para eliminação de toda possível contaminação por Hg⁰.

3 Purificação da água

Toda água utilizada foi previamente destilada e purificada em sistema desionizador marca Millipore, modelo Milli-Qplus até apresentar resistividade 18,2 MΩ/cm a 25 °C.

4 Limpeza das vidrarias

Feita com vapor de ácido nítrico concentrado, segundo procedimento proposto por TSCHÖPEL *et al* (1980). Colocou-se a vidraria com o fundo para cima em um suporte de vidro acoplado dentro de um bquer de 10 litros contendo cerca de 300 mL de ácido nítrico concentrado e tampado com vidro de relógio. Aqueceu-se o bquer a 300° C em chapa por, no mínimo, duas horas e, em seguida, enxaguaram-se os frascos exaustivamente com água

desionizada. O ácido nítrico foi utilizado de duas a três vezes e, então, descartado.

5 Amostragem

As amostragens foram feitas ao longo da Bacia do Médio Rio Negro entre as cidades de Manaus e Barcelos, no período de janeiro de 2002, após estudos pedológicos da área e seguindo as recomendações de FADINI & JARDIM (2001). A homogeneidade das glebas foi determinada de acordo com o relevo, cor do solo, cobertura vegetal, textura, drenagem e histórico de manejo da área. A demarcação das glebas de solo foi diferenciada principalmente pela classificação pedológica, textura, profundidade do perfil e topografia, conforme mostram a Figura 5 e Tabela 3.



Figura 5 - Mapa da Bacia do Rio Negro (em destaque, os pontos de coleta das amostras).

Tabela 3 – Classificação pedológica, localização e características das regiões de coleta das amostras de solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM.

Amostras	Profundidade de coleta (cm)	Classificação pedológica	Localização	Características das regiões
Iara (I)	0-10	Solo gley húmico	S01°20.010' W062°03.809'	Proximidades do Lago Iara, região alagável pelo Rio Negro
	10-20			
	20-40			
	40-60			
Carvoeiro 1 (C₁)	0-10	Solo podzólico vermelho amarelo	S01°23.615' W061°58.776'	Mata não alagável na região da comunidade de Carvoeiro.
	10-20			
	20-40			
	0-60			
Carvoeiro 3 (C₃)	0-10	Solo hidromórfico alúvel	S01°23.615' W061°58.776'	Região de Carvoeiro e alagável pelo Rio Negro
	10-20			
	20-40			
	40-60			
Tucandera (Tu)	0-10	Solo plíntico, laterita hidromórfico	S01°02.917' W062°48.553'	Região não alagável próxima à cidade de Barcelos-AM.
	10-20			
	20-40			
	40-60			
Ramada (Ra)	0-10	Solo hidromórfico alúvel	S01°01.384' W062°44.196'	Região alagável pelo Rio Negro, próximo ao lago Ramada
	10-20			
	20-40			
	40-60			
Araçá 1 (A₁)	0-10	Solo podzólico vermelho amarelo plíntico	S01°14.000' W061°50.000'	Região não alagável, próxima ao lago Araçá
	10-20			
	20-40			
	40-60			
Araçá 2 (A₂)	0-10	Solo gley pouco húmico	S01°14.000' W061°50.000'	Região alagável pelo Rio Branco, próxima ao lago Araçá
	10-20			
	20-40			
	40-60			

6 Coleta das amostras

Para cada gleba, as amostras simples A_1 – D_3 foram coletadas utilizando trincheiras abertas com cavadeira. Após mistura e homogeneização das amostras simples, foram retirados cerca de 500g de cada mistura, constituindo as respectivas amostras compostas A–D, conforme mostra a Figura 5.

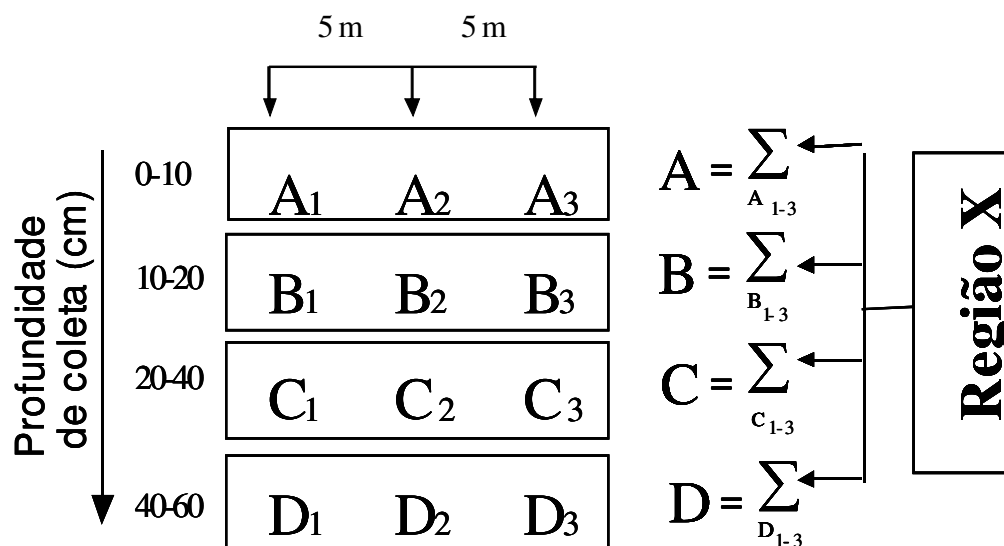


Figura 6 - Esquema do procedimento utilizado na coleta das amostras de solos.

7 Preparo das amostras

No laboratório, as amostras de solo foram transferidas para bandejas de madeira. Após secagem ao ar, aproximadamente 25° C, foram trituradas em gral de porcelana e passadas em peneiras plásticas de 2,0 mm.

8 Caracterizações dos solos

8.1 Determinação do teor de matéria orgânica e inorgânica

Alíquota de 10,0 g de amostra foi calcinada em mufla a 750 °C por 4 horas em cadinho de porcelana previamente tarado. O teor de matéria orgânica foi feito pela diferença de massa após a calcinação, considerando a

média entre três determinações. Considera-se o resultado final de calcinação como matéria inorgânica (ROSA, 2001).

8.2 Análise elementar

A análise elementar (C, H, N, O, S) foi feita em equipamento Thermo Finnigan Flash EA 1112 de acordo com recomendações do fabricante.

8.3 Análise granulométrica das amostras de solo

Utilizou-se o método de pipetagem, o qual está baseado na lei de Stokes conforme proposto por SUGUIO (1973). Após secagem, quarteamento e desagregação em béquer de 250 mL contendo 50,0 g de amostra, adicionaram-se 30,0 mL de água destilada e 1,0 mL de solução de hidróxido de amônio (16 mol L^{-1}) para defloculação. Transferiu-se o sobrenadante para proveta de 1 litro e o sólido decantado para almofariz. Após desagregação física utilizando pistilo de borracha, esse material foi também transferido quantitativamente para a proveta completando-se o volume a 1 litro com água desionizada.

Na proveta, agitou-se a mistura por cerca de 30 segundos e iniciou-se a série de pipetagens em diferentes tempos, conforme tabela proposta por SUGUIO (1973). As alíquotas foram transferidas para formas de alumínio, previamente taradas para posterior secagem em estufa a 60°C . Ao final da série de pipetagem, para lavagem da areia (descarte da argila), transferiu-se todo o material restante da proveta para funil com diâmetro de 25 cm, adaptado com fluxo de água contínuo entrando pela haste. Após lavagem completa (escoamento de água límpida), a areia foi transferida para placa de Petri, seca em estufa a 60°C , passada por 10 minutos em coluna de 8 peneiras com aberturas entre 2 e 0,062 mm, pesando-se o material retido em cada peneira.

8.4 Digestão das amostras de solo e determinações de mercúrio

As amostras de solo foram digeridas segundo adaptação de método recomendado pela *Environmental Protection Agency* (EPA). Adicionaram-se a 2,0 g de amostra, 10,0 mL de água desionizada, 5,0 mL de ácido sulfúrico concentrado, 2,5 mL de ácido nítrico concentrado e 10,0 mL de solução de permanganato de potássio 7,5% (m/v). Após 15 minutos, adicionaram-se 5,0 mL de solução de persulfato de potássio 8% (m/v). A mistura foi aquecida por 2 horas a 95 °C. Após a solução ter resfriado, o excesso de permanganato de potássio foi reduzido pela adição de solução de cloridrato de hidroxilamina 15% (m/v) (FADINI & JARDIM, 2001). As determinações de mercúrio foram feitas por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio como proposto por ROCHA, SANTOS, SENE (1994), conforme descrito no item 14, pág. 27. Juntamente com as amostras de solo foi também determinado Hg em amostra de solo certificada NIST–SEM 2709.

9 Extração das substâncias húmicas

Foi utilizado procedimento adaptado da metodologia recomendada pela *Internacional Humics Substances Society-IHSS* (ROSA, ROCHA, FURLAN, 2000; ROSA, 2001). Tomou-se alíquota de 500 g de solo, adicionou-se solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ na razão 1:10 (m/v) e deixou-se a mistura sob agitação mecânica por 4 horas sob atmosfera de nitrogênio (Figura 6). Centrifugou-se a mistura em 12000 rpm (4300 g) por 10 minutos, separando-se o sobrenadante (SH) do resíduo (Humina).



Figura 7 – Sistema utilizado na extração das substâncias húmicas de solo por procedimento em batelada.

10 Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica

Espectros de ressonância paramagnética eletrônica foram obtidos de amostras de SH secas utilizando espectrômetro Bruker ESR operando na banda-X e frequência de 9 GHz com detector de temperatura ambiente (RT), potência 0,2 mW (determinada por experimento de saturação de potência) e amplitude de modulação 1 Gauss. Radicais livres semiquinona foram detectados e quantificados utilizando-se aproximação convencional, intensidade $\propto \Delta H^2$ (MARTIN-NETO, ROSSEL, SPOSITO, 1998). Os espectros de RPE foram obtidos na EMBRAPA-CNPDIa em equipamento sob responsabilidade do Dr. Ladislau Martin Neto e com o auxílio do técnico especializado Dr. Marcelo Luiz Simões.

11 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{13}C

Os experimentos de RMN de ^{13}C com polarização cruzada (CP) e rotação do ângulo mágico (MAS) com amplitude variável (VA) foram feitos em um espectrômetro Varian (modelo Unity Inova 400). As amostras foram acondicionadas em um rotor cilíndrico de zircônia, com 5 mm de diâmetro (Doty Supersonic), girando a 6 kHz em um probe Doty Supersonic para provas sólidas. Os espectros de RMN de ^{13}C VACP/MAS foram obtidos nas seguintes condições experimentais: frequência de ressonância de 100.05 MHz para ^{13}C , banda espectral para polarização cruzada de 20 kHz, pulso de preparação do próton de 3,8 μs , tempo de contato de 1 ms, tempo de aquisição de 12,8 ms e tempo de espera para relaxação de 500 ms. Os valores de deslocamento químico foram referenciados ao hexametil benzeno (HMB), o qual possui sinal bem definido em 17,2 ppm. Os espectros de RMN de ^{13}C foram obtidos na EMBRAPA-CNPDIA em equipamento sob responsabilidade do Dr. Ladislau Martin Neto e com o auxílio do técnico especializado Dr. Marcelo Luiz Simões.

12 Carbono orgânico total

As determinações do conteúdo de carbono orgânico total (COT) nas SH foram feitas por combustão catalítica em corrente de oxigênio e subsequente detecção IR por Analisador Shimadzu TOC-5000 com limite de detecção de (3s) 0,1 mg L^{-1} COT.

13 Capacidade de complexação de íons Hg(II) e troca com espécies metálicas (Cu, Cd, Mg, Zn e Fe) originalmente complexadas

Utilizou-se o sistema de ultrafiltração (Sartorius Ultrasart X), equipado com membrana de porosidade de 1 kDa e 47 mm de diâmetro (cellulose, Gelman Pall-Filtron OMEGA), ilustrado na Figura 4, pág. 35. Substâncias húmicas (25 mg) foram dissolvidas em 250 mL de água desionizada e o pH

ajustado em 5,0 com solução de HNO_3 2% (v/v). Adicionaram-se incrementos de solução 500 mg L^{-1} de Hg(II), obtendo-se concentrações de $0,25 - 23,6 \text{ mg L}^{-1}$ em mercúrio(II). Após intervalos de 15 minutos, para estabelecimento do equilíbrio de troca entre as espécies metálicas originalmente complexadas pelas substâncias húmicas e íons Hg(II) adicionados, coletaram-se cerca de 2 mL do filtrado, o Hg foi quantificado conforme descrito no item 14 e os metais Cu, Cd, Mg, Zn e Fe foram quantificados conforme descrito no item 15.

Os intervalos de 15 minutos utilizados para estabelecimento do equilíbrio de troca entre as espécies metálicas originalmente complexadas pelas substâncias húmicas e íons Hg(II) adicionados foram determinados após estudo cinéticos.

14 Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor de mercúrio a frio (CVAAS)

As determinações de mercúrio nos filtrados foram feitas utilizando-se espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio de acordo com o procedimento descrito por ROCHA, SANTOS, SENE (1994). Neste procedimento, todo o mercúrio, previamente oxidado a Hg^{2+} , é reduzido por adição de SnCl_2 à forma de Hg^0 , a qual é volátil, e este é arrastado por um fluxo de gás inerte (N_2) até a cela de quantificação, conforme mostra a Figura 8.

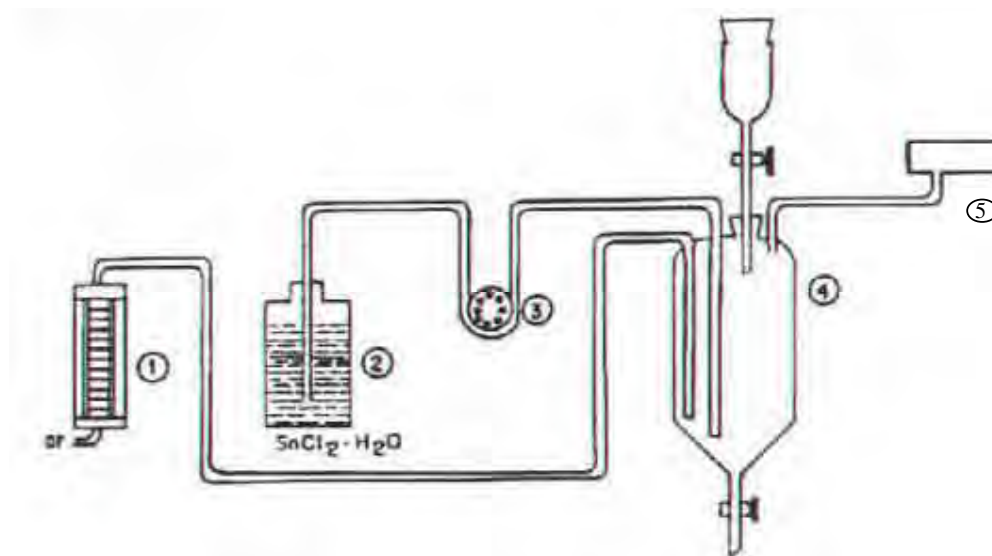


Figura 8 – Sistema utilizado para determinação de Hg(II) por CVAAS. Condições: solução de SnCl₂ 20%, fluxo de 2,5 mL min⁻¹; fluxo de gás carregador (N₂) de 0,3 L min⁻¹. 1 - fluxômetro (entrada de N₂), 2 - solução de SnCl₂, 3 - bomba peristáltica, 4 - cela de reação, 5 - cela de quantificação.

15 Espectrometria de absorção atômica com atomização por forno de grafite

As determinações de Cu, Cd, Mg, Zn e Fe nas alíquotas foram feitas por espectroscopia de absorção atômica com atomização por forno de grafite (GFAAS), VARIAN AA 240 Z.

16 Análise exploratória de dados

Para melhor interpretação dos dados experimentais foram utilizadas técnicas de análise hierárquicas de agrupamento, AHA (em inglês HCA “Hierarchical Clusters Analyses”).

A técnica de análise exploratória tem como objetivo mostrar a formação de agrupamentos naturais das amostras a partir de suas similaridades, numa estrutura hierárquica em um sistema de grupos e sub-grupos, dependendo do grau de similaridade (HAIR *et al.*, 1995).

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

Considerando que os dados estão expressos em grandezas diferentes e isso pode gerar dificuldade na interpretação da análise estatística de dados optou-se por pré-processar os dados utilizando-se a técnica de auto-escalamento. Esta técnica permite que cada variável apresente média zero e variância igual a um, independentemente de sua dimensão, conforme a equação:

$$x_{ij}(as) = \frac{\bar{x}_j}{S_j}; \text{ onde:}$$

$x_{ij}(as)$ = valor autoescalado da variável j para a amostra i,

$\bar{x}_j$ = média dos valores das amostras na coluna j, e

S_j = desvios padrão da variável j calculados a partir da variância.

Para não perder muita informação, nas AHA utilizou-se ligação completa e distâncias euclidianas e para as ACP utilizou-se análise baseada em covariância. Na análise dos dendrogramas utilizou-se avaliação simultânea dos clusters formados comparando-os com as distâncias de ligação. Nas análises dos gráficos de escores e pesos avaliaram-se as variáveis e as amostras em função da magnitude de seus valores em cada componente principal.

17 Descarte de resíduos

Todos os resíduos ácidos foram neutralizados e encaminhados à Comissão de Segurança do Instituto de Química de Araraquara-UNESP, a qual é responsável pela destinação final dos resíduos gerados naquela unidade.

RESULTADOS e DISCUSSÃO

1 Determinação do teor de matéria orgânica e análise elementar dos solos

O conhecimento das características físico-químicas de amostras de solos pode fornecer informações importantes para o entendimento de suas propriedades e reatividades com espécies metálicas, por exemplo Hg(II). A Tabela 4 mostra resultados referentes a pH, matéria orgânica (MO), razão atômica C/N e porcentagens de argila, silte e areia das amostras de solo coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM.

Os valores de pH indicam a acidez ativa de cada solo. Sendo um indicativo da presença de materiais húmicos em sua constituição. Os resultados obtidos (Tabela 4) mostram pouca variação nos valores de pH (3,1 – 4,0) para as diferentes amostras de solos coletados na bacia do Médio Rio Negro-AM. Também se observa pequeno aumento do pH em função da profundidade de coleta da amostra de solo, o qual pode estar associado à hidrólise básica de constituintes minerais presentes em profundidades maiores e/ou indicar menor concentração de materiais húmicos.

Tabela 4 - Resultados dos teores de matéria orgânica, pH, razões atômicas C/N e porcentagens de argila, silte e areia das amostras de solo coletados na bacia do Médio Rio Negro-AM.

Amostras de solo	Profundidade (cm)	pH	Matéria orgânica (%)	C/N	Areia (%)	Silte (%)	Argila (%)
Iara	0-10	3,4	24,66 ± 0,30	16,0	39,8	40,1	20,1
	10-20	3,5	19,02 ± 0,47	15,8	10,0	60,7	29,3
	20-40	3,6	19,04 ± 0,35	13,8	8,8	36,0	55,2
	40-60	4,0	15,98 ± 0,04	15,7	12,8	51,2	36,0
Carvoeiro 1	0-10	3,1	9,37 ± 0,56	18,3	54,0	34,6	11,4
	10-20	3,5	5,55 ± 0,05	25,0	48,6	29,0	22,4
	20-40	3,5	5,65 ± 0,02	29,0	50,9	20,0	29,1
	40-60	3,5	5,17 ± 0,07	28,6	50,1	21,2	28,7
Carvoeiro 3	0-10	3,6	10,10 ± 0,45	17,8	40,2	41,8	18,0
	10-20	3,8	7,62 ± 0,07	16,7	24,7	49,0	26,3
	20-40	3,6	5,52 ± 0,01	3,4	18,7	39,4	41,9
	40-60	3,7	5,42 ± 0,03	2,0	15,0	41,0	44,0
Tucandera	0-10	3,4	11,73 ± 0,33	14,4	5,51	64,8	29,6
	10-20	3,6	9,84 ± 0,10	17,3	4,20	66,3	29,5
	20-40	3,8	8,98 ± 0,15	1,14	6,80	61,9	31,3
	40-60	3,7	6,94 ± 0,01	8,90	3,20	38,2	58,6
Ramada	0-10	3,6	19,14 ± 0,03	17,6	17,2	60,2	22,6
	10-20	3,7	13,96 ± 0,13	12,0	18,5	42,4	39,1
	20-40	3,8	12,93 ± 0,07	11,4	1,50	37,6	60,9
	40-60	3,8	11,39 ± 0,03	6,80	0,50	45,3	54,2
Araçá 1	0-10	3,1	14,40 ± 0,04	16,5	10,8	71,6	17,6
	10-20	3,6	9,21 ± 0,89	14,0	4,90	76,4	18,7
	20-40	3,7	8,16 ± 0,08	1,20	6,20	66,1	27,7
	40-60	3,6	7,42 ± 0,42	9,80	3,00	52,1	44,9
Araçá 2	0-10	3,6	13,27 ± 0,67	11,2	7,50	47,0	45,5
	10-20	3,6	10,06 ± 0,17	10,0	0,70	48,6	50,7
	20-40	3,6	10,91 ± 0,07	8,80	1,60	45,0	53,4
	40-60	3,6	10,42 ± 0,16	15,8	2,00	45,7	52,3

* sombreado: regiões não alagáveis

Os teores de matéria orgânica encontrados para as amostras de solo da Bacia do Médio Rio Negro-AM, variaram de 5,17% a 24,66% dependendo do ponto e profundidade de coleta. Observou-se para todos os pontos de amostragens, uma diminuição do teor de matéria orgânica com a profundidade de coleta, conforme pode ser melhor visualizado na Figura 9.

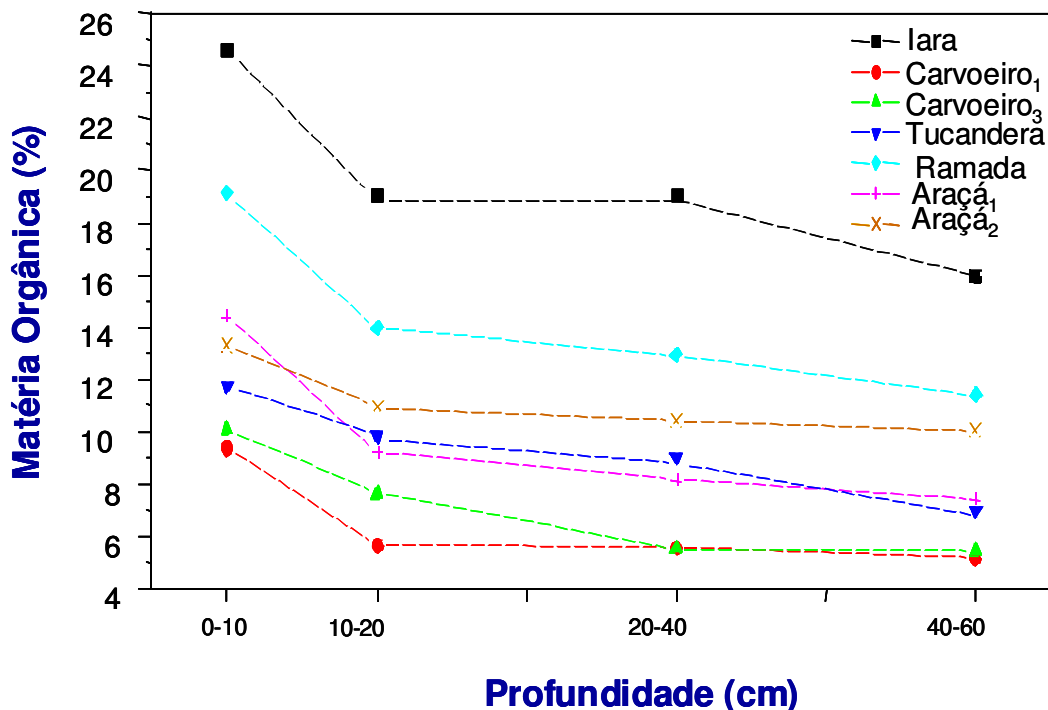


Figura 9 - Porcentagens de matéria orgânica em amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM em função da profundidade.

A determinação da composição elementar tem sido o método mais freqüentemente utilizado na caracterização do material orgânico presente em solos. Seus resultados permitem a obtenção de informações relacionadas com a sua composição, características estruturais, fórmula molecular, pureza, geoquímica e diagênese (HUFFMAN & STUBER, 1985; ROSA *et al.*, 2000). O processo de decomposição da matéria orgânica ocorre pela ação de enzimas específicas e, de acordo com MINDERMAN (1960) e ROSA *et al.* (2000), tem a seguinte ordem crescente de dificuldade de decomposição: açúcares, hemicelulose, celulose, lignina, graxa e fenóis. Assim, a razão atômica C/N é um indicativo do grau de decomposição ou

humificação da matéria orgânica presente no solo. Alto valor da razão atômica C/N está associado a maior decomposição da matéria orgânica. Isto se deve a diminuição do teor de nitrogênio presente nas substâncias de natureza não húmica, as quais são mais facilmente degradáveis (proteínas, aminoácidos etc.).

Os resultados listados na Tabela 4 mostram que as amostras de solos coletados em Carvoeiro 1, região não alagável, possuem maiores valores nas razões atômicas C/N (18,3 – 29,0) indicando maior grau de decomposição da matéria orgânica presente nessas amostras. Ao contrário, as amostras coletadas na região alagável próxima ao Lago Araçá, possuem menores razões atômicas C/N (8,8 – 15,8), indicando menor grau de decomposição da matéria orgânica. Estes resultados mostram que em regiões alagáveis, provavelmente, ocorre a diminuição da decomposição da matéria orgânica devido sua lixiviação em períodos de cheia do Lago Araçá e/ou alterações nas condições redox. Para as demais amostras, os valores das razões atômicas C/N são intermediários, indicando conseqüentemente um estado de humificação também intermediário.

Os resultados também mostram diferenças entre os estágios de decomposição da matéria orgânica nas diferentes profundidades, entretanto, não se verifica uma relação entre a profundidade e as razões atômicas C/N (Figura 10). Apenas para amostra coletada na região não alagável na mata de Carvoeiro 1, observou-se que a decomposição da matéria orgânica, estimada pela razão atômica C/N, aumenta com a profundidade. Considerando que outras amostras coletadas em regiões também não alagáveis, podemos inferir que a decomposição da matéria orgânica presente nos solos é influenciada principalmente pelo tipo de solo e sazonalidade de cheias/vazantes na região.

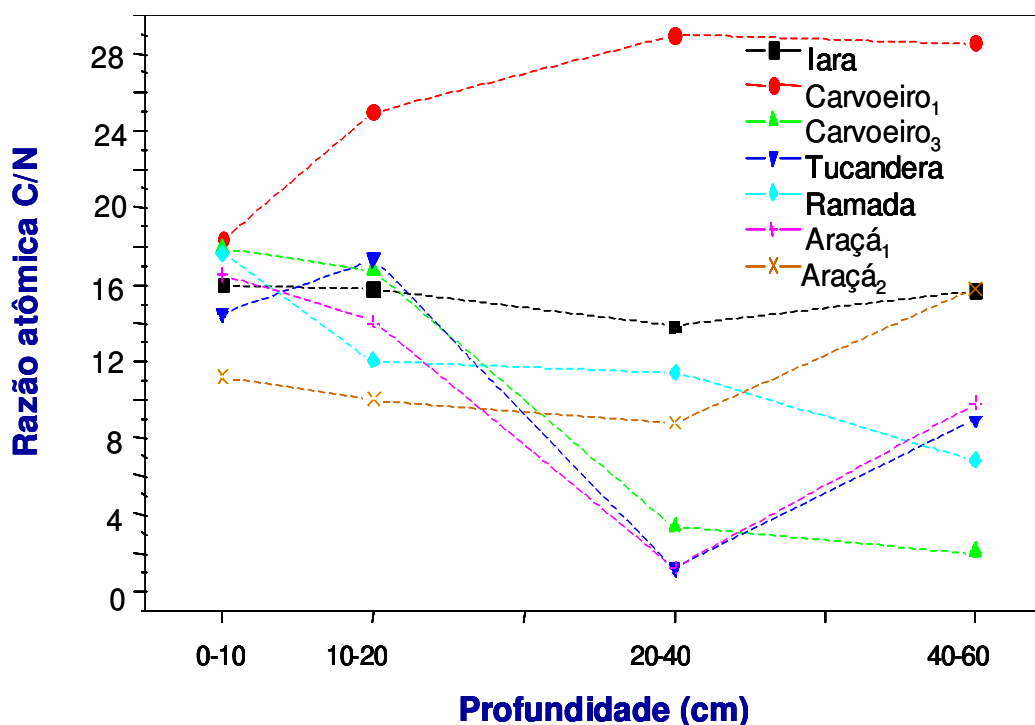


Figura 10 – Razões atômicas C/N das amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM em função da profundidade.

Os resultados da análise granulométrica mostram aumento nos teores de argila com a profundidade, praticamente para todas as amostras. Os teores de areia e silte variaram com a profundidade. Em profundidades abaixo de 20 cm observam-se elevados teores de argila na fração mineral, e em algumas amostras os teores superam 50 %.

2 Caracterização das substâncias húmicas extraídas

2.1 Razões atômicas C/H, C/N, C/O e concentração de spins

A Tabela 5 mostra valores das razões atômicas C/H, C/N, C/O e concentrações de spins de substâncias húmicas extraídas dos diferentes solos Amazônicos, de regiões alagáveis e não alagáveis em diferentes profundidades (0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm).

A decomposição da matéria orgânica presente no solo tende a levar a formação de estruturas fenólicas derivadas de lignina, devido ao fato

destas serem mais difíceis de sofrer degradação do que açúcares e proteínas (ROSA *et al.* 2000). Assim, as razões atômicas C/H, C/N e C/O têm sido utilizadas como indicadores da aromaticidade e grau de decomposição das SH. De acordo com STEVENSON (1994) elevados valores de razões C/H, C/O e C/N estão associados ao maior grau de humificação, devido diminuição da acidez e teores de carboidratos e aminoácidos/proteínas, respectivamente.

Tabela 5 – Resultados das razões atômicas (C/H, C/N e C/O) e concentração de spins para substâncias húmicas extraídas de solos da bacia do Médio Rio Negro-AM em diferentes profundidades.

Amostras	Razões atômicas			Concentração de spins (10^{18} g^{-1})
	C/H	C/N	C/O	
SH-I (0-10)	0,71	17,7	1,23	$0,51 \pm 0,04$
SH-I (10-20)	0,63	16,27	0,96	$1,28 \pm 0,03$
SH-I (20-40)	0,52	15,27	0,73	$1,58 \pm 0,07$
SH-I (40-60)	0,50	21,00	0,72	$3,07 \pm 0,08$
SH-C₁ (0-10)	0,57	17,10	0,71	$1,70 \pm 0,05$
SH-C₁ (10-20)	0,53	16,75	0,67	$1,91 \pm 0,08$
SH-C₁ (20-40)	0,32	16,60	0,56	$1,29 \pm 0,03$
SH-C₁ (40-60)	0,24	16,67	0,39	$1,16 \pm 0,08$
SH-C₃ (0-10)	0,58	16,64	0,84	$3,96 \pm 0,06$
SH-C₃ (10-20)	0,54	17,56	0,77	$5,38 \pm 0,02$
SH-C₃ (20-40)	0,34	53,85	0,35	$0,10 \pm 0,02$
SH-C₃ (40-60)	0,32	62,00	0,31	$0,08 \pm 0,001$
SH-Tu (0-10)	0,52	15,00	0,92	$0,95 \pm 0,04$
SH-Tu (10-20)	0,43	16,67	0,83	$1,49 \pm 0,02$
SH-Tu (20-40)	0,40	22,20	0,56	$0,75 \pm 0,04$
SH-Tu (40-60)	0,30	20,00	0,50	$0,15 \pm 0,008$
SH-R (0-10)	0,67	20,36	1,24	$2,35 \pm 0,05$
SH-R (10-20)	0,50	19,30	0,88	$1,67 \pm 0,04$
SH-R (20-40)	0,43	25,20	0,58	$0,19 \pm 0,003$
SH-R (40-60)	0,39	19,00	0,47	$0,22 \pm 0,03$
SH-A₁ (0-10)	0,54	12,43	0,93	$0,12 \pm 0,003$
SH-A₁ (10-20)	0,20	17,06	0,83	$0,18 \pm 0,004$
SH-A₁ (20-40)	0,23	14,77	0,57	$0,08 \pm 0,001$
SH-A₁ (40-60)	0,20	21,40	0,64	$0,09 \pm 0,002$
SH-A₂ (0-10)	0,54	12,23	0,93	ND
SH-A₂ (10-20)	0,20	17,06	0,83	ND
SH-A₂ (20-40)	0,23	14,77	0,57	ND
SH-A₂ (40-60)	0,20	21,54	0,64	ND

* sombreado: regiões não alagáveis

ND – não determinado devido aos altos teores de Fe nas amostras de SH-A2, os quais inviabilizaram a quantificação dos radicais semi quinonas.

Os valores médios das razões atômicas C/H, C/O e C/N (Tabela 5) estão próximos aos encontrados na literatura verificados para solos de regiões tropicais (ROSA, ROCHA, FURLAN, 2000; STEVENSON, 1994). As

Figuras 11, 12 e 13 mostram a influência da profundidade de coleta do solo nos valores das razões atômicas C/H, C/O e C/N das SH.

A Figura 11 mostra similaridade entre os valores das razões atômicas das SH extraídas dos diferentes solos em função da profundidade, com exceção da amostra de Carvoeiro 3 nas profundidades 20-40 e 40-60 cm. Para estas amostras, as razões atômicas foram bem mais elevadas indicando alto grau de humificação das SH.

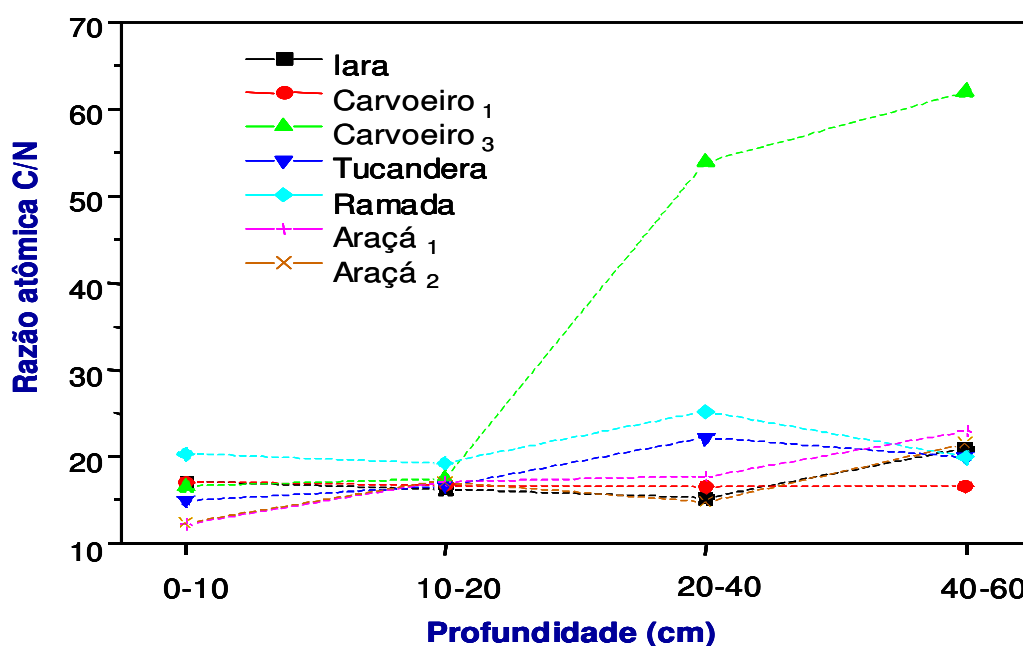


Figura 11 – Razões atômicas C/N das substâncias húmicas extraídas de amostras de solos coletados da bacia do Médio Rio Negro-AM, em diferentes profundidades.

As Figuras 12 e 13 mostram a influência da profundidade nas razões atômicas C/O e C/H das SH extraídas. Observa-se que o aumento da profundidade de coleta do solo tende a diminuir o teor de carboidratos e da aromaticidade das SH, verificadas pelas diminuições das razões C/O (Figura 11) e C/H (Figura 12), respectivamente.

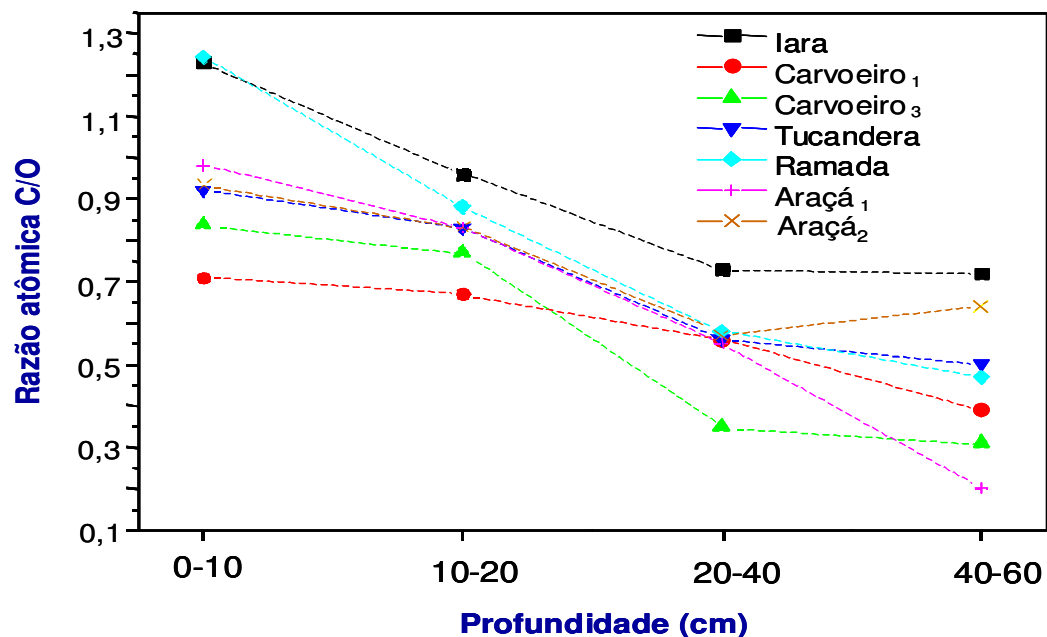


Figura 12 – Razões atômicas C/O das substâncias húmicas extraídas de amostras de solos coletados da bacia do Médio Rio Negro-AM, em diferentes profundidades.

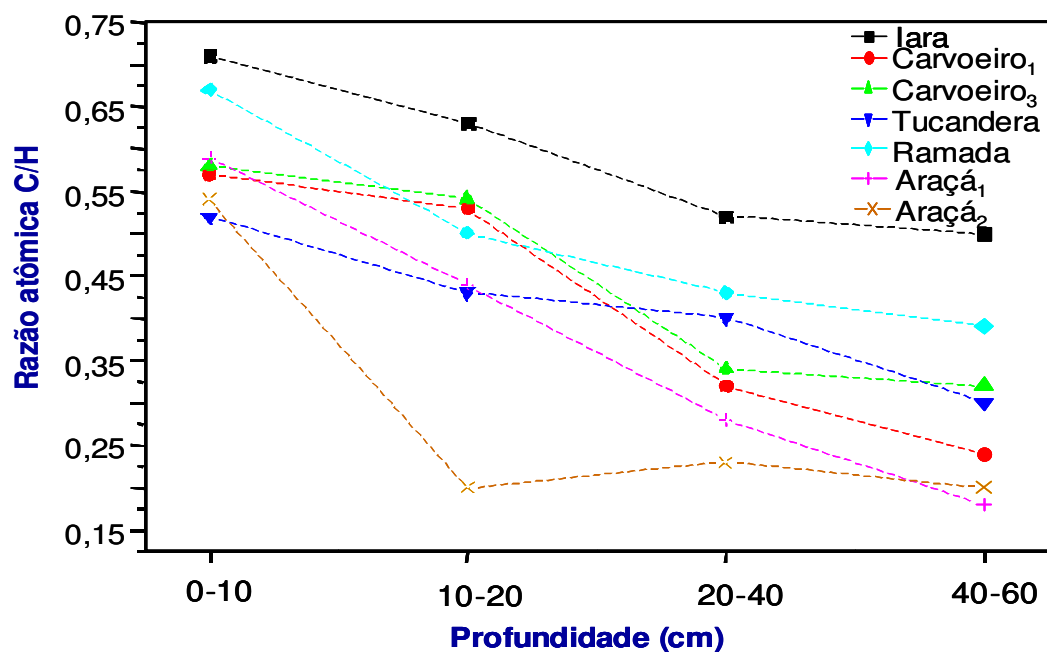


Figura 13 – Razões atômicas C/H das substâncias húmicas extraídas de amostras de solos coletados da bacia do Médio Rio Negro-AM, em diferentes profundidades.

Para quantificação dos radicais livre tipo semiquinona (Tabela 5) foi utilizado o método do padrão secundário (SINGER, 1959), utilizando-se um cristal de rubi (Al_2O_3) contendo 0,5% de Cr^{+3} por peso. Seu fator g é de 1,263 e, portanto, não interfere com o sinal do radical livre semiquinona, cujo valor de g está em torno de 2,003 (MARTIN-NETO, ROSSEL, SPOSITO, 1998).

A seguir é descrito o procedimento para cálculo da concentração dos radicais livres (MARTIN-NETO, SPOSITO, VIEIRA, 1994). A equação utilizada para determinação do número de radicais livres (N) foi a proposta por POOLE & FARACH, (1972):

$$N = K \left[\frac{I_A \cdot M_R \cdot (\Delta H_{App})^2 \cdot G_R}{I_R \cdot M_A \cdot G_A} \right] \quad (1)$$

Sendo I_A e I_R as intensidades dos sinais, M_A e M_R as amplitudes de modulação, G_A e G_R os ganhos. Os sub-índices A e R referem-se à amostra e ao rubi, respectivamente. ΔH_{App} é a largura de linha do espectro da amostra tomada pico a pico. K é uma constante calculada da seguinte forma: introduz-se na cavidade um pitch de KCl (padrão da Varian - "strong pitch") que contém 3×10^{15} spin cm^{-1} , juntamente com um padrão secundário (rubi) inserido pela extremidade inferior da cavidade ressonante e mantido fixo durante todas as medidas.

Após a aquisição dos parâmetros intensidade, amplitude de modulação e ganho do pitch e do rubi e da largura de linha do sinal do pitch, ΔH_p , utiliza-se para calcular o número de spin da fração do pitch dentro da cavidade, a seguinte equação:

$$N_0 = K \left[\frac{I_P \cdot M_R \cdot (\Delta H_P)^2 \cdot G_R}{I_R \cdot M_P \cdot G_P} \right] \quad (2)$$

Onde $N_0 = 3 \times 10^{15}$ spin para cada centímetro do Pitch dentro da cavidade, obtendo-se então a constante K :

$$K = N_0 \left[\frac{I_R \cdot M_P \cdot G_P}{I_P \cdot M_R \cdot (\Delta H_P)^2 \cdot G_R} \right] \quad (3)$$

Obtendo-se K utiliza-se a equação 1 para obter N , que é a concentração de radicais livres semiquinona. A Figura 14 ilustra espectros de ressonância paramagnética eletrônica bem resolvidos (primeira derivada).

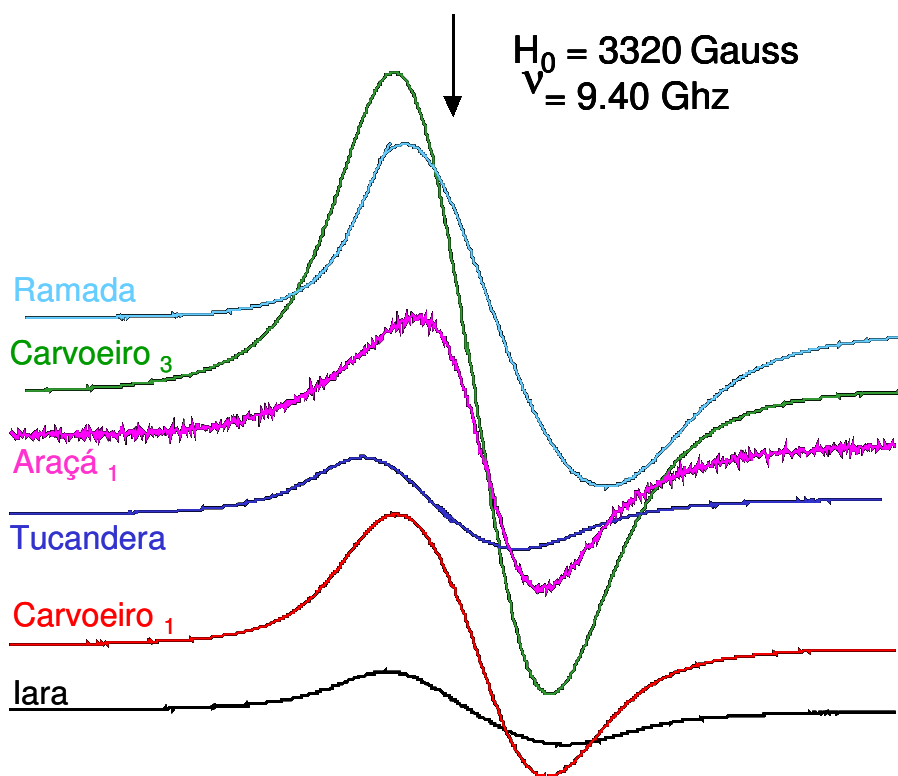


Figura 14 – Espectros de spin eletrônico de substâncias húmicas extraídas de solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM na profundidade 0-10 cm.

Os resultados referentes as concentrações de spins das substâncias húmicas (Tabela 5) variaram de 0,08 a $5,38 \times 10^{18}$ spins g^{-1} de carbono, indicando considerável diferença entre os níveis de humificação das SH extraídas dos solos Amazônicos. Algumas amostras mostraram baixas concentrações de spins por grama de carbono ($0,08 - 0,12 \times 10^{18}$ spins g^{-1} de carbono), enquanto outras, altas concentrações ($3,07 - 5,38 \times 10^{18}$ spins g^{-1} de carbono). A média dos valores, $1,11 \times 10^{18} \pm 0,026$ spins g^{-1} de carbono, é relativamente alta em relação aos obtidos por SWIFT (1996), mas comparáveis aos valores encontrados para amostras mais humificadas (MARTIN-NETO, VIEIRA, SPOSITO, 1994; MARTIN-NETO, ROSSEL, SPOSITO, 1998). Também se observa que SH extraídas de solos de regiões alagáveis, por exemplo, Iara, Carvoeiro 3 e Ramada, mostraram maiores concentrações de spins em relação às SH extraídas de regiões não alagáveis (Carvoeiro 1, Tucandeira e Araçá). Estes resultados mostram que a umidade exerce forte influência no processo de humificação corroborando as inferências de MARTIN-NETO, ROSSEL, SPOSITO (1998), os quais verificaram boa correlação entre a quantidade de chuvas e a concentração de spins das SH.

A Tabela 5 também mostra que as SH extraídas de amostras de solos de Ramada apresentaram diminuição do grau de humificação com o aumento da profundidade, enquanto, as SH extraídas de amostras de solo de Iara apresentou comportamento inverso, conforme mostrado na Figura 15. Para as SH extraídas das outras amostras de solos (Tucandeira, Araçá, Carvoeiro 1 e Carvoeiro 3) observou-se a seguinte distribuição crescente da concentração de spins com a profundidade: $10-20 > 0-10 > 20-40 > 40-60$ cm. Estes resultados estão sumarizados na Figura 16.

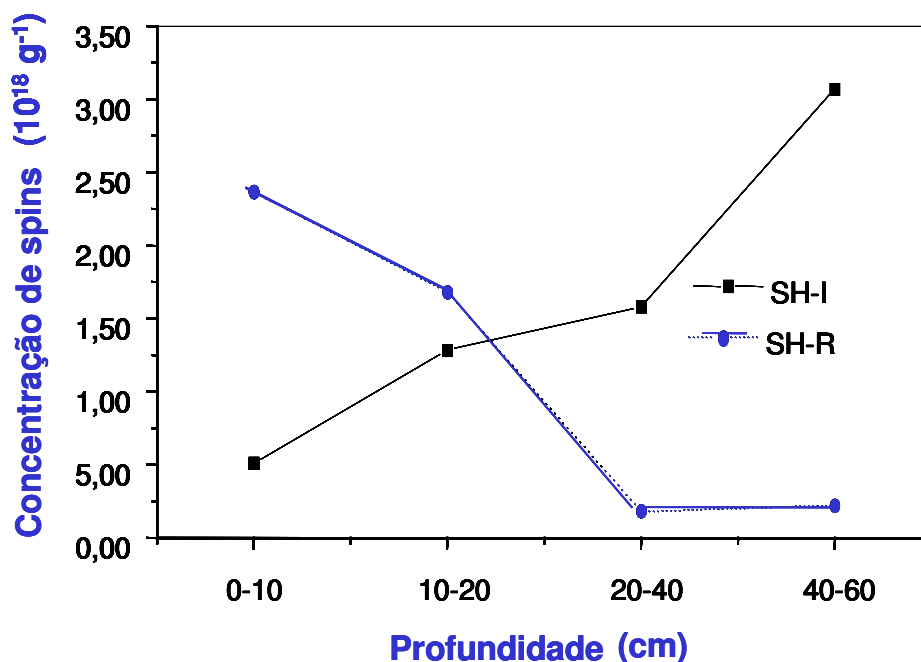


Figura 15 – Concentração de spins de substâncias húmicas extraídas dos solos de Ramada e lara em diferentes profundidades (0-10, 10-20, 20-40, 40-60 cm).

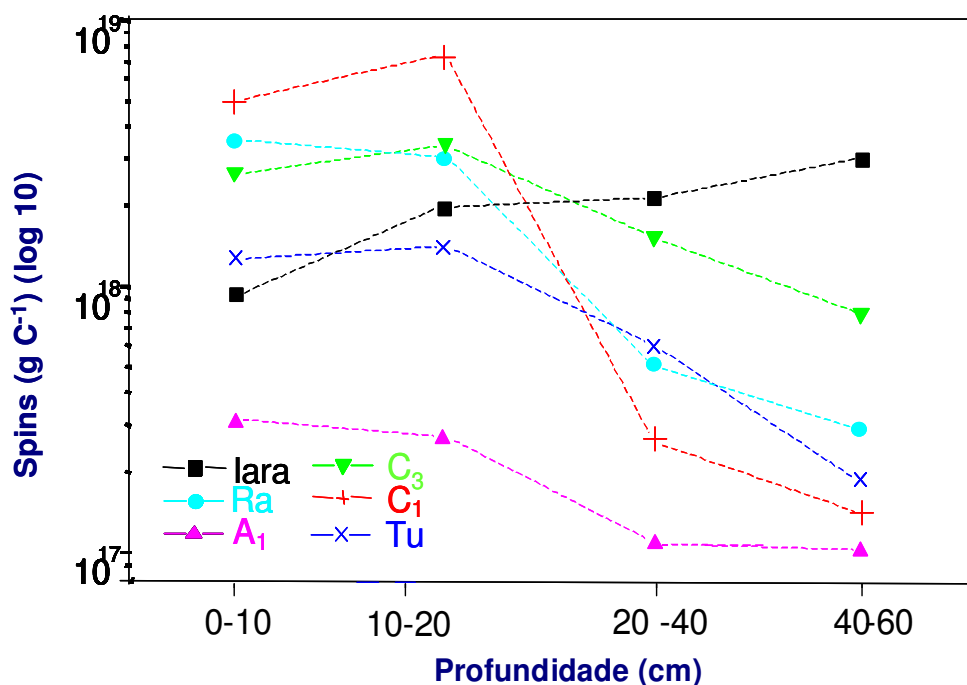


Figura 16 – Concentração de spins em substâncias húmicas extraídas de Tucandera (Tu), Araçá 1 (A₁), Carvoeiro 1 (C₁) e Carvoeiro 3 (C₃) em diferentes profundidades (0-10, 10-20, 20-40, 40-60 cm).

2.2 Ressonância magnética nuclear de ^{13}C

A presença de grupos carboxílicos, fenólicos e carbonílicos conferem às SH uma alta capacidade de complexação de íons metálicos. Este comportamento químico influencia significativamente o transporte, distribuição e acumulação de metais no ambiente. Conseqüentemente, a caracterização de grupos funcionais por técnicas espectroscópicas contribui para um melhor entendimento das interações SH-metal.

A aplicação da espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) não permite a identificação da estrutura das SH, mas é possível estimar as porcentagens relativas e tipos de prótons e carbonos presentes. Esta estimativa é obtida a partir a integração dos picos nas regiões específicas dos espectros (SWIFT, 1996).

A Figura 17 mostra os espectros de RMN de ^{13}C , para amostras de substâncias húmicas extraídas dos diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM, na profundidade de 0-10 cm. Com base na literatura, é possível estabelecer a região dos deslocamentos químicos dos diferentes grupos funcionais dos ^{13}C . Assim, a integração da área dos espectros mostrados na Figura 17 permitiu a estimativa da porcentagem dos diferentes grupos funcionais, conforme mostra a Tabela 6. Verificam-se pela Tabela 6 e Figura 18 semelhanças em relação às porcentagens dos diferentes tipos de carbono presentes nas estruturas das SH. Embora na literatura não foram encontrados dados disponíveis em relação à quantificação de grupos funcionais das SH extraídas de amostras de diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM, os resultados obtidos indicam a presença de maiores teores de carbonos alifáticos em relação aos aromáticos nas substâncias húmicas. De uma maneira geral, observa-se para as amostras de SH extraídas dos diferentes solos a mesma seqüência decrescente de porcentagens de tipos de carbono: alifático > éteres/hidroxilas > carboxilas/ésteres/amidas > aromáticos > fenóis $\cong$ carbonilas de aldeídos e cetonas (Figura 18). Apenas as amostras SH-I e SH-C₁ apresentaram

pequena diferença em relação às demais amostras, principalmente no teor de C-aromático e C-fenólico. Considerando que essas amostras foram extraídas de solos oriundos de regiões alagáveis e não alagáveis, respectivamente, pode-se inferir que outros fatores como a característica do substrato e microfauna, exercem importante função no processo de formação das SH.

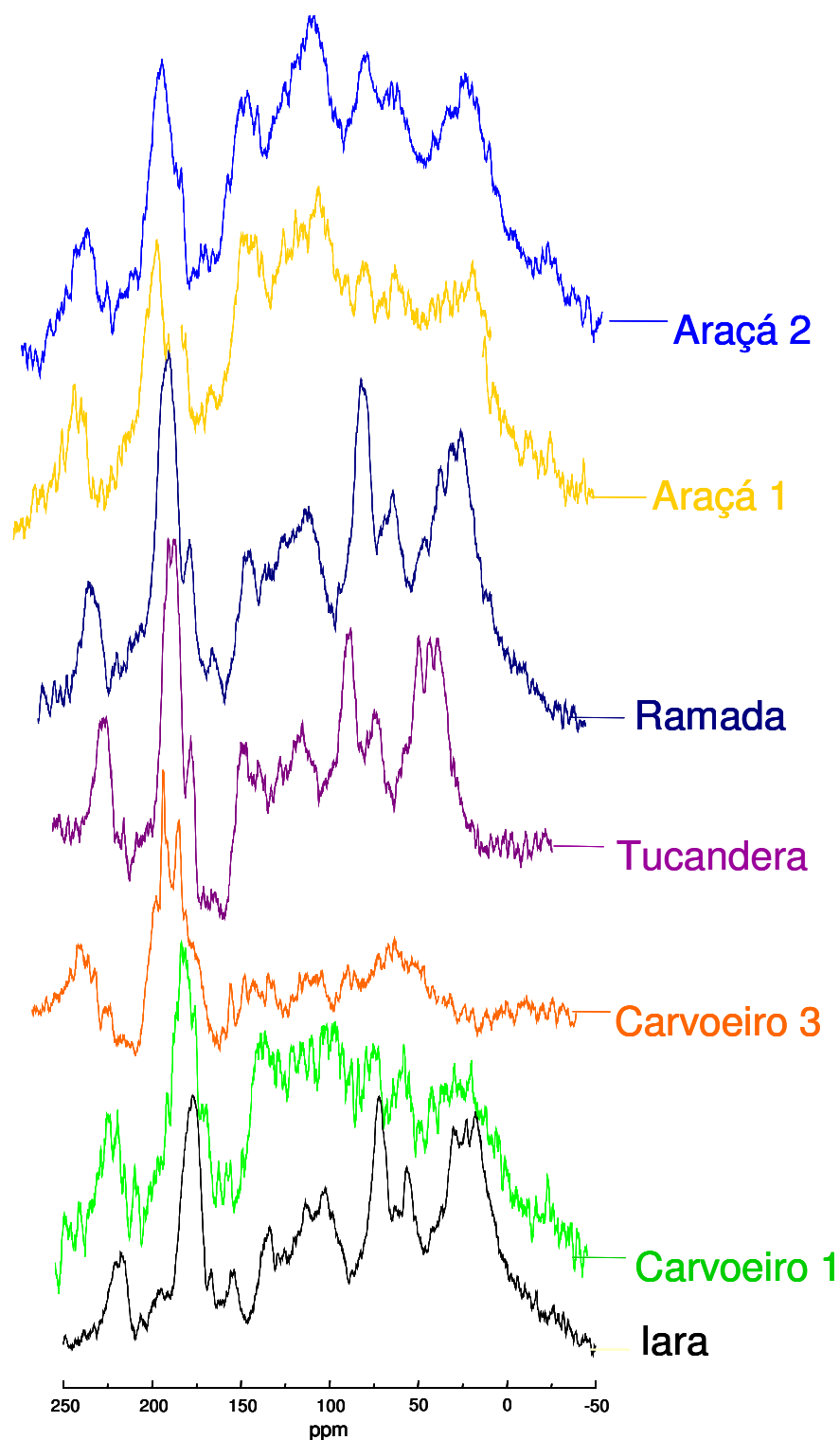
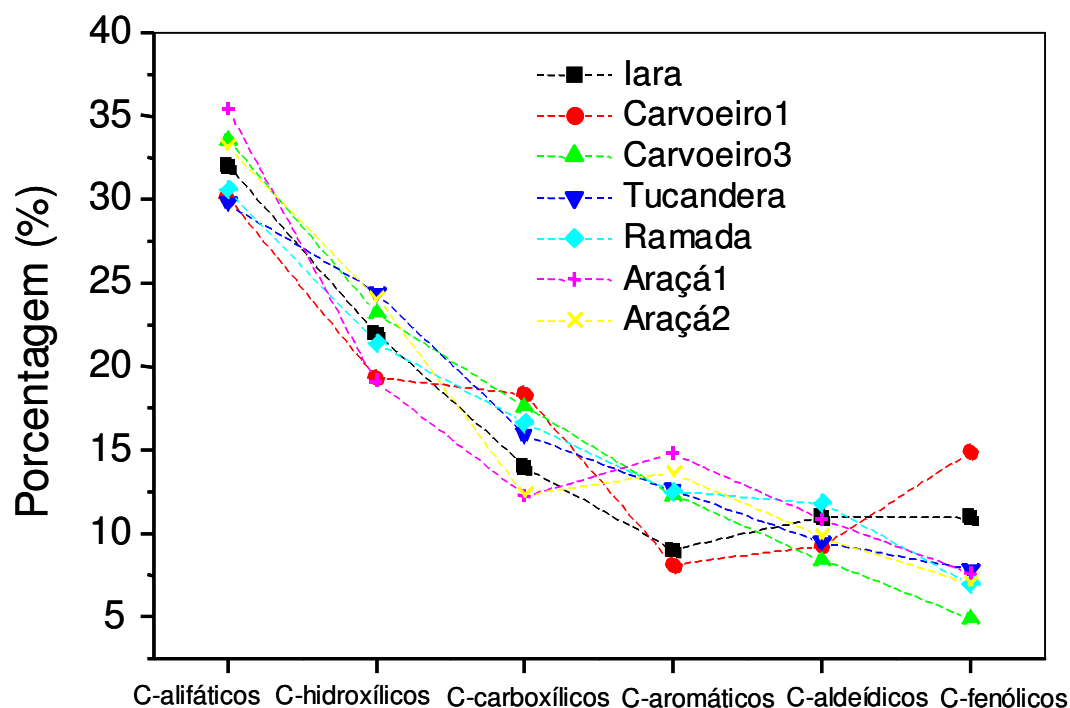


Figura 17 - Espectros de RMN de ^{13}C no estado sólido de amostras de substâncias húmicas extraídas de solos coletados à profundidade de 0-10 cm na Bacia do Médio Rio Negro-AM.

Tabela 6 – Porcentagens dos diferentes tipos de carbono presentes nas substâncias húmicas extraídas de solos coletados à profundidade de 0-10 cm na Bacia do Médio Rio Negro-AM.

Amostras	Deslocamento químico δ (relativo ao TMS como 0)/Atribuições (%)					
	C-alifáticos (0-65)	Éteres, hidroxilas, açúcares (65-110)	C- aromáticos (110-140)	Fenóis, O-aril (140-160)	Carboxílas, ésteres e amidas (160-190)	Carbonilas de aldeídos e cetonas (190-220)
SH - I	32,0	22,0	9,0	11,0	14,0	11,0
SH - C ₁	30,1	19,4	8,1	14,9	18,3	9,3
SH - C ₃	33,6	23,2	12,3	4,9	17,6	8,4
SH - Tu	29,8	24,4	12,6	7,8	15,9	9,5
SH - Ra	30,6	21,4	12,5	7,0	16,6	11,8
SH - A ₁	35,4	19,1	14,8	7,6	12,2	10,8
SH - A ₂	33,2	24,1	13,6	7,0	12,3	9,8

* sombreado: regiões não alagáveis



Grupos funcionais

Figura 18 - Comparação entre as porcentagens de diferentes tipos de carbono nas amostras de substâncias húmicas extraídas de solos coletados à profundidade de 0-10 cm na Bacia do Médio Rio Negro-AM.

A Figura 19 mostra os teores dos grupos funcionais presentes nas substâncias húmicas extraídas de solo de Araçá 1 em diferentes profundidades. Os resultados mostram para esta amostra que não há diferenças significativas em relação às características das substâncias húmicas em função da profundidade.

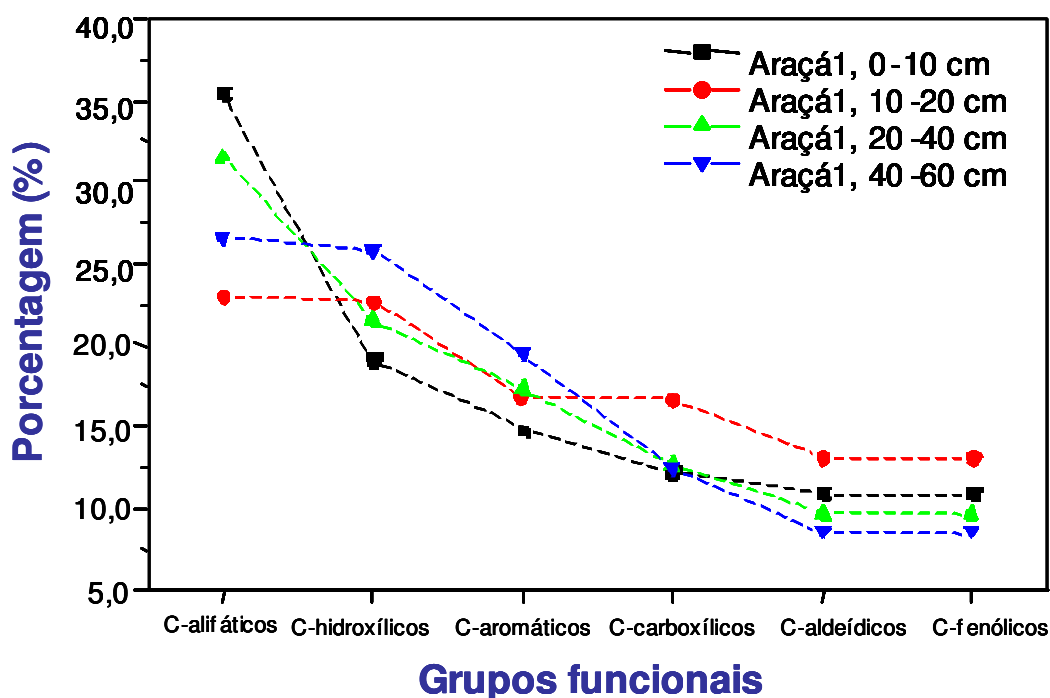


Figura 19 - Porcentagens dos diferentes tipos de carbono presentes nas substâncias húmicas extraídas de amostras de solos de Araçá 1 na Bacia do Médio Rio Negro-AM, coletados em diferentes profundidades 0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm.

3 Capacidade de complexação das amostras de substâncias húmicas por íons Hg(II)

A capacidade de complexação (CC) de SH é um importante parâmetro de qualidade ambiental, pois se trata da quantidade máxima que as SH podem complexar de metais, reduzindo dessa forma seus efeitos tóxicos ao ambiente.

Entretanto, apesar da relevância do ponto de vista ambiental, pesquisa bibliográfica recente revela poucos artigos referentes à determinação da capacidade de complexação de íons Hg(II) por matéria

orgânica (YIN *et al.*, 1997; HAN, GILL, 2005) e nenhum utilizando ultrafiltração. Isto mostra a importância do desenvolvimento e aplicação de procedimentos analíticos eficazes que permitam caracterizações das interações entre as espécies mercuriais e matéria orgânica. Neste contexto, a ultrafiltração apresenta-se como um procedimento interessante, simples e aplicável a amostras reais.

O procedimento de ultrafiltração para especiação de metais baseia-se na separação da matéria orgânica e/ou SH das espécies metálicas livres/complexadas pela filtração em membrana de 1 kDa. Devido ao fato das SH apresentarem tamanhos moleculares maiores, estas são retidas pela membrana, enquanto os metais livres são filtrados.

A concentração de Hg(II) é determinada no filtrado assumindo que os metais não complexados pelas SH são separados das espécies SH-Hg (as quais não passam pela membrana de 1 kDa), coletados no filtrado e determinados por exemplo, pela análise de espectrometria de absorção atômica com geração de vapor de mercúrio a frio (CVAAS).

A Figura 20, exemplifica uma curva típica de titulação de solução de SH por íons Hg(II). A capacidade de complexação (CC) foi obtida pelo gráfico de metal livre (mmol L^{-1}) *versus* metal total adicionado (mmol L^{-1}). O gráfico apresenta uma mudança da inclinação na porção final, e a CC foi obtida pela interseção das tangentes das duas porções lineares do gráfico, as quais correspondem ao aparecimento dos íons metálicos livres (TUSCHALL, BREZONIK, 1983; MORRISON, FLORENCE 1989).

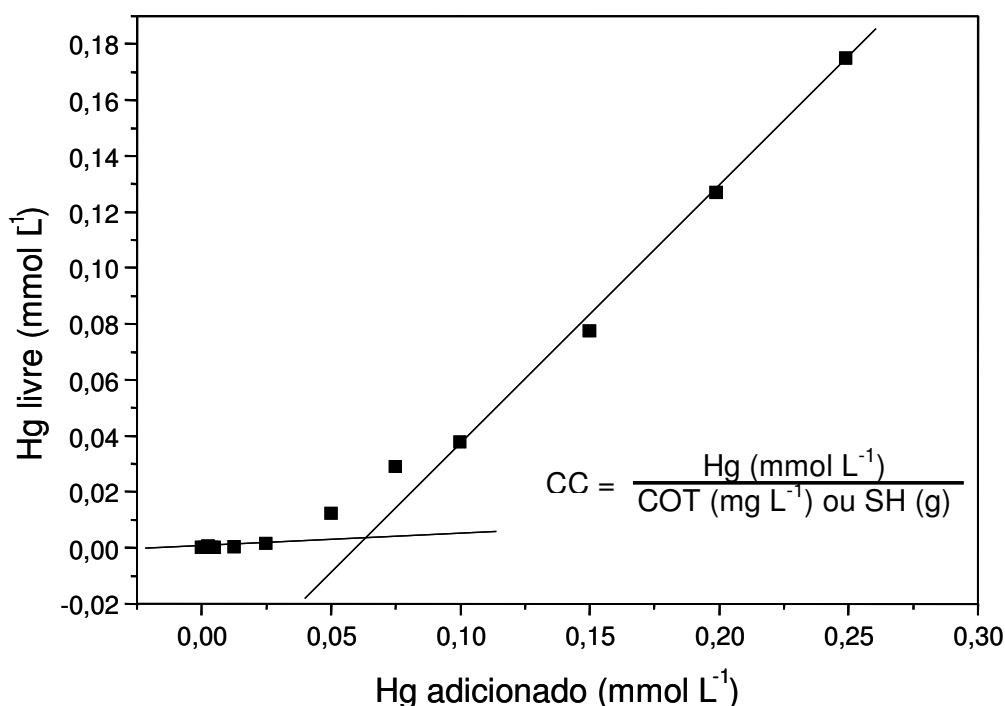


Figura 20 – Curva típica de titulação para determinação da capacidade de complexação de substâncias húmicas extraídas de solos da região da bacia do Médio Rio Negro – AM por Hg(II) utilizando-se ultrafiltração e CVAAS. Condições: concentração de SH 100 mg L⁻¹; pH = 5,0.

A capacidade de complexação de SH por Hg(II) é convencionalmente expressa em mmol Hg(II) g⁻¹ de carbono orgânico total (COT). Os resultados apresentados na Tabela 7 mostram diferenças significativas entre os valores da CC das diferentes amostras estudadas, as quais foram coletadas em regiões não alagável e alagável, principalmente se levar em consideração o teor de carbono orgânico da Bacia.

Tabela 7 - Capacidade de complexação (CC) e concentrações de spins (spins g⁻¹ de C) de substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da bacia do Médio Rio Negro-AM coletados na profundidade 0-10 cm.

Amostras	CC (mmol Hg(II) g ⁻¹ COT)	Spin (g C) ⁻¹ x 10 ¹⁸
Carvoeiro 1	2,09	1,70 ± 0,05
Carvoeiro 3	3,75	3,96 ± 0,06
Araçá 1	2,33	0,12 ± 0,01
Iara	1,41	0,51 ± 0,04
Ramada	2,04	2,35 ± 0,05

* sombreado: regiões não alagáveis

Comparando os resultados da CC para as SH extraídas dos diferentes solos da bacia do Médio Rio Negro-AM (Tabela 7), verifica-se que as amostras de Carvoeiro 3 e Araçá 1 apresentaram valores mais elevados em relação as outras amostras de SH analisadas.

YIN *et al.* (1997) utilizando a técnica de titulação potenciométrica, para amostras coletadas em Nova Jersey, obtiveram resultados de CC de SH por Hg(II) em torno de 2,6 mmol de Hg g⁻¹ de COT. Este valor está próximo aos valores encontrados para as amostras Carvoeiro I, Araçá 1 e Ramada (Tabela 7), apesar das distintas regiões estudadas e utilizando-se o procedimento de ultrafiltração.

Quando comparados os resultados observa-se que para algumas amostras, existe uma relação entre a CC de íons Hg(II) e a concentração de spins presentes nas SH, por exemplo, a amostra de Carvoeiro 3 apresentou a maior capacidade de complexação (3,75 mmol de Hg(II) g⁻¹ COT) e também a maior concentração de spins (3,96 x 10¹⁸ spins (g C)⁻¹), enquanto a amostra de Iara apresentou uma baixa capacidade de complexação (1,41 mmol de Hg(II) g⁻¹ COT) e baixa concentração de spins (0,51 x 10¹⁸ spins g⁻¹ de C). Entretanto, a amostra de Araçá 1, apresentou baixa concentração de spins (0,12 x 10¹⁸ spins g⁻¹ de C) e elevada CC para íons Hg(II) (2,33 mmol de Hg(II) g⁻¹ COT). Desta forma, a princípio, com os resultados obtidos não se pode inferir que a CC das SH por íons Hg(II) depende exclusivamente da concentração de spins.

A Tabela 8 apresenta resultados referentes à CC das SH extraídas em diferentes profundidades de solos de Carvoeiro 1 (região não alagável) e Carvoeiro 3 (região alagável). Pode-se observar que os valores das CC variaram no perfil. Contudo, pode-se observar que para as duas regiões estudadas na profundidade de 40-60 cm houve um aumento significativo na CC de Hg por SH, indicando que o Hg poder também estar associado à fração mineral (argilossilicatos).

Tabela 8 - Capacidade de complexação (CC) de substâncias húmicas extraídas em diferentes profundidades de solos da bacia do Médio Rio Negro-AM.

Amostras/ Profundidade (cm)	CC (mmol Hg g⁻¹ SH)	Amostras Profundidade (cm)	CC (mmol Hg g⁻¹ SH)
C₁, 0-10	2,49	C₃, 0-10	1,95
C₁, 10-20	2,44	C₃, 10-20	2,19
C₁, 20-40	1,35	C₃, 20-40	1,66
C₁, 40-60	2,70	C₃, 40-60	2,88

Para tentar entender de maneira mais satisfatória os parâmetros/características estruturais das SH que influencia no processo de complexação/transporte de íons Hg(II) em solos amazônicos, fez-se tratamento multivariado dos dados conforme discutido a seguir.

3.1 Tratamento multivariado de dados para amostras de substâncias húmicas

A técnica de análise exploratória AHA (Análise Hierárquica de Agrupamento) foi utilizada para interpretação dos dados experimentais gerados a partir das determinações das razões atômicas C/N, C/H e C/O; capacidade de complexação; carbono orgânico total; porcentagens dos diferentes tipos de carbono (RMN de ¹³C) e concentração de spins.

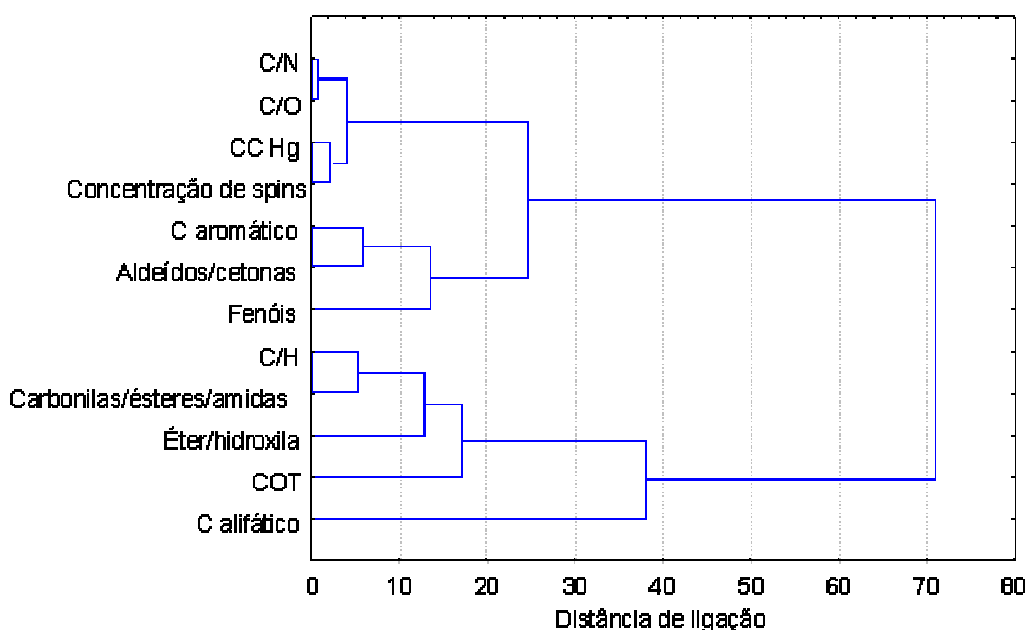


Figura 21 - Dendrograma obtido a partir das determinações de determinações das razões atômicas C/N, C/H e C/O; capacidade de complexação; carbono orgânico total; porcentagens dos diferentes tipos de carbono e concentração de spins.

Na Figura 21 observa-se a formação de dois agrupamentos. Um (a) formado pelas razões atômicas C/N e C/O, capacidade de complexação de Hg, concentração de spins, carbonos aromáticos, aldeídos/cetonas e fenóis, e o outro (b) pela razão atômica C/H, carbonilas/ésteres/amidas, éter/hidroxila, carbono orgânico total e carbono alifático.

O primeiro grupo está relacionado com o grau de humificação das substâncias húmicas, indicado pelos parâmetros concentrações de spins, razões atômicas C/N, C/O e com alguns grupos funcionais responsáveis pela complexação de Hg (grupos oxigenados como aldeídos/cetonas e fenóis). Assim, o grau de humificação das SH está diretamente relacionado com a capacidade das SH em complexar mercúrio, sendo que as amostras mais humificadas apresentaram maior capacidade em complexar íons mercúrio.

O segundo grupo apresenta similaridade entre a razão atômica C/H, porcentagens de grupos funcionais carbonilas/ésteres/amidas,

éter/hidroxilas, carbono orgânico total e carbonos alifáticos. Pode-se observar que a distância entre os dois grupos formados é muito grande, indicando que há pouca influência dos componentes do segundo grupo na complexação de Hg(II) pelas substâncias húmicas.

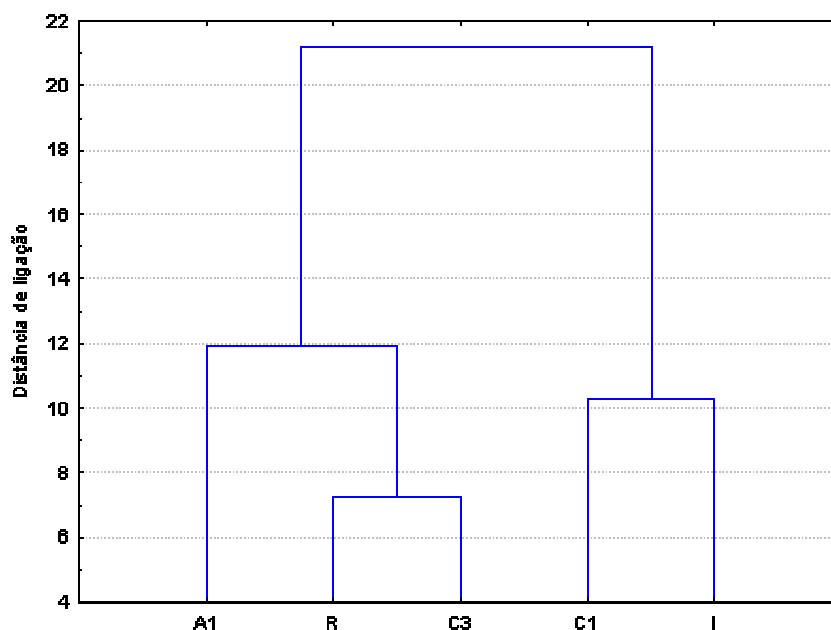


Figura 22 - Dendrograma para as amostras de substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da bacia do Médio Rio Negro obtido a partir das determinações de razões atômicas C/N, C/H e C/O; capacidade de complexação; carbono orgânico total; porcentagens dos diferentes tipos de carbono e concentração de spins.

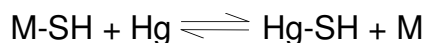
Quanto à Figura 22, o tratamento estatístico teve como objetivo correlacionar as amostras de SH extraídas de diferentes tipos de solos. A separação hierárquica apresentou três clusters principais. O primeiro cluster (a) formado pelas amostras de SH extraídas de amostras de solos coletados em Araçá 1, o segundo (b) constituído por amostras de SH extraídas de amostras de solos coletados em Ramada e Carvoeiro 3 e o terceiro (c) compõe as amostras de SH extraídas de amostras de solos coletados em Carvoeiro 1 e Iara. O grupo (a) formado pelas amostras de Araçá 1 possuem menor grau de humificação e foram extraídas de amostras de solos coletadas em regiões circundadas por águas brancas.

No grupo (b), observa-se que há maior similaridade entre as amostras de Ramada e Carvoeiro 3, isso pode ser explicado por se tratar de amostras coletadas em regiões alagáveis e com o maior grau de humificação. O grupo (c) trata-se de amostras de SH extraídas de amostras coletadas em regiões próximas circundadas por águas pretas e com grau de humificação intermediário, de acordo com a Tabela 7. De maneira geral observa-se que a separação das amostras foi de acordo com o grau de humificação das SH e com o tipo de região em que as amostras de solos foram coletadas e conseqüentemente influenciaram na formação das SH. As SH menos humificadas separaram-se no cluster (a), as SH com maior grau de humificação constituem o cluster (b) e as SH com grau de humificação intermediário compõem o cluster (c).

4 Determinação de constantes de troca de mercúrio por espécies metálicas originalmente complexadas às substâncias húmicas

Para o estudo de troca entre espécies metálicas originalmente complexadas pelas substâncias húmicas e íons Hg(II), utilizou-se o sistema analítico proposto por BURBA, VAN DEN BERGH, KLOCKOW (2001) ilustrado na Figura 4 (pág. 35).

O equilíbrio alcançado entre M-SH ($M = \text{Cu, Cd, Fe, Mg e Zn}$) e a troca pelos íons Hg(II) pode ser descrito pelas razões $M_{\text{livre}} / \text{M-SH}$ em função da razão crescente de íons $\text{Hg(II)}_{\text{livre}} / \text{Hg-SH}$, como mostrado nas Figuras 23 e 24. Considerando que no estado de equilíbrio a lei de ação das massas é obedecida, de acordo com a equação (I), é possível determinar os valores das constantes de troca entre as espécies Cu, Cd, Fe, Mg e Zn por íons Hg(II).



$$K_{troca} = \frac{[Hg-SH][M]}{[M-SH][Hg]} \quad (I)$$

(as cargas são omitidas para simplificação)

Onde: [M] e [Hg] são determinadas nos filtrados obtidos por ultrafiltração com o sistema de ultrafiltração ilustrado na Figura 4; [M-SH] = $C_{\text{metal total}} - [M]$, onde $C_{\text{metal total}}$ é a concentração de metal originalmente complexado pela SH determinada no tempo zero, ou seja, a primeira alíquota do filtrado antes da adição de íons Hg(II); [Hg-SH] = $Hg_{\text{adicionado}} - [Hg]$, onde $Hg_{\text{adicionado}}$ é o somatório das concentrações de íons Hg(II) adicionados em cada intervalo de tempo.

As Figuras 23 e 24 mostram as constantes de troca entre Hg(II) e metais originalmente complexados por substâncias húmicas extraídas de solo de Carvoeiro 1 (região não alagável) e Carvoeiro 3 (região alagável). Observou-se comportamento semelhante em relação às constantes de troca determinadas, embora as amostras tenham sido coletadas em regiões com características distintas.

As amostras de Carvoeiro 1 e Carvoeiro 3 apresentaram constantes de troca menores que 1 para todos os metais estudados, indicando que os complexos SH-Zn, SH-Mg, SH-Fe, SH-Cu e SH-Cd possuem maior estabilidade que o complexo SH-Hg. Na amostra de Carvoeiro 1, Mg^{2+} apresentou constante de troca tendendo a zero, indicando elevada estabilidade do complexo SH-Mg. Logo, esses metais possuem maior afinidade pelos sítios complexantes das SH que o Hg.

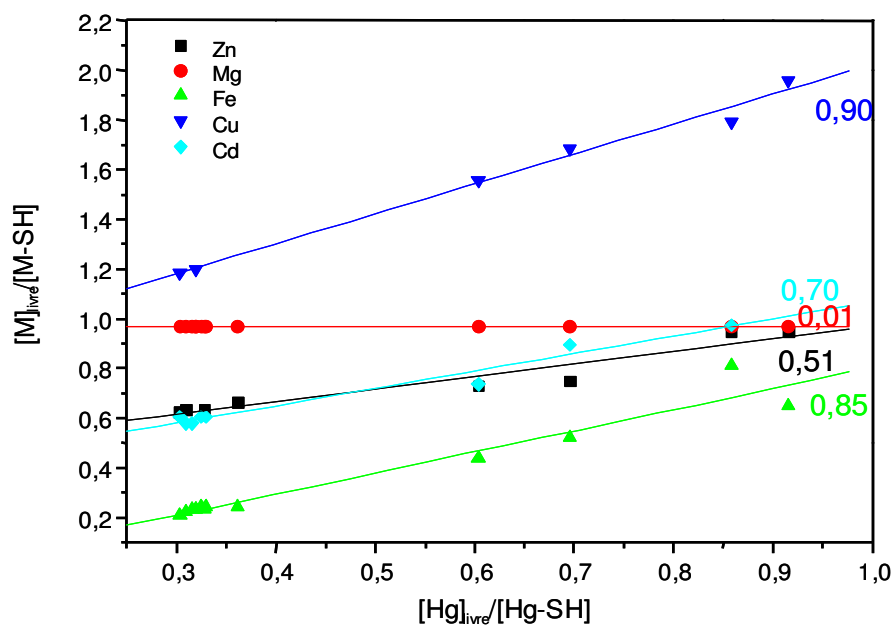


Figura 23 - Constantes de troca entre Hg(II) e metais originalmente complexados por substâncias húmicas extraídas de amostras de solo de **Carvoeiro 1** (região não alagável). Condições: 0,1 mg mL⁻¹; pH = 5,0.

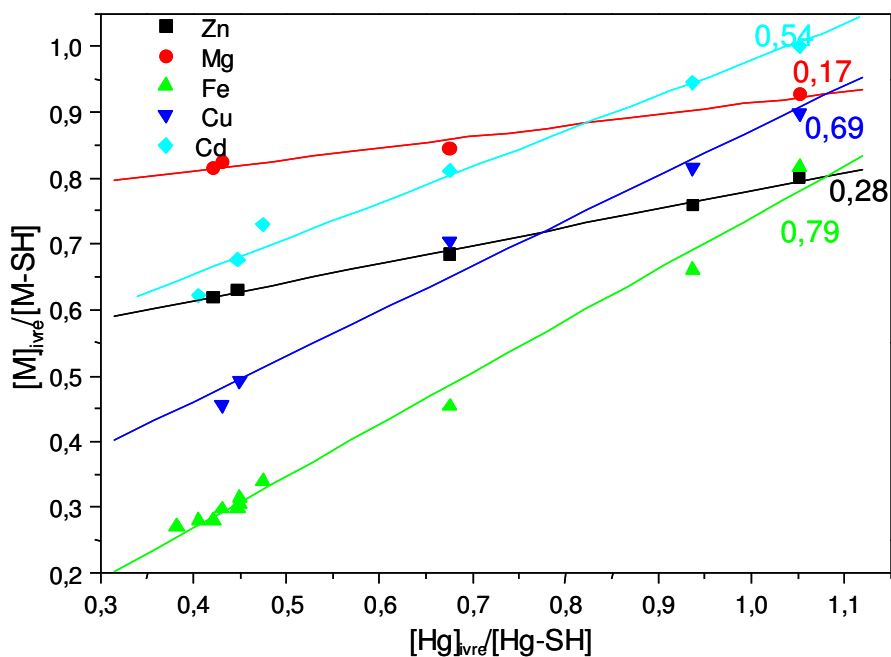


Figura 24 - Constantes de troca entre Hg(II) e metais originalmente complexados por substâncias húmicas extraídas de amostras de solo de **Carvoeiro 3** (região alagável). Condições: 0,1 mg mL⁻¹; pH = 5,0.

Os resultados das constantes de troca dos complexos permitem estabelecer a seguinte ordem de estabilidade dos complexos formados com SH para as amostras estudadas: SH-Mg > SH-Zn > SH-Cd > SH-Fe > SH-Cu >> SH-Hg.

Apesar da seqüência das ordens de estabilidade dos complexos formados serem a mesma, tanto para Carvoeiro 1 quanto Carvoeiro 3, pode-se observar que, para todos os metais estudados exceto Mg, as constantes de troca encontradas são maiores para as amostras de C₁, indicando que os complexos SH-Zn, SH-Mg, SH-Fe, SH-Cu e SH-Cd possuem maior estabilidade nas amostras coletadas em C₃, essa diferença pode estar associada as diferentes características das regiões onde foram coletadas as amostras (alagável e não alagável).

5 Distribuição e complexação de mercúrio em solos da bacia do Médio Rio Negro

É de grande importância o conhecimento da capacidade de retenção de Hg em solos da região amazônica. Assim, para essa estimativa foram utilizados resultados referentes às caracterizações dos solos e substâncias húmicas, bem como da determinação de parâmetros de complexação de Hg(II) por SH.

A Tabela 9 apresenta os resultados referentes à densidade do solo, teores de matéria orgânica, teores de substâncias húmicas, mercúrio original e capacidade de complexação de substâncias húmicas por íons Hg(II) em amostras coletados na bacia do Médio Rio Negro-AM.

Tabela 9 - Resultados de densidade do solo, teores de matéria orgânica, teores de substâncias húmicas, mercúrio original e capacidade de complexação de substâncias húmicas por íons Hg (II) em amostras coletados na bacia do Médio Rio Negro-AM.

Amostras/ Profundidade (cm)	Densidade do solo (g cm ⁻³)	Matéria orgânica (%)	Substâncias húmicas (%)	Hg original (µg kg ⁻¹)	Capacidade de complexação (mmol Hg g ⁻¹ SH)	
Iara	0-10	0,70	24,66 ± 0,30	6,6	280,60 ± 4,35	1,41
	10-20	0,74	19,02 ± 0,47	6,1	310,78 ± 14,90	--
	20-40	--	19,04 ± 0,35	5,0	255,43 ± 10,14	--
	40-60	--	15,98 ± 0,04	6,6	287,98 ± 10,02	--
Carvoeiro 1	0-10	1,21	9,37 ± 0,56	6,4	84,34 ± 0,00	2,49
	10-20	1,34	5,55 ± 0,05	4,1	79,10 ± 0,00	2,44
	20-40	--	5,65 ± 0,02	4,5	102,14 ± 18,73	1,35
	40-60	--	5,17 ± 0,07	5,1	96,43 ± 8,61	2,70
Carvoeiro 3	0-10	0,79	10,10 ± 0,45	7,2	106,49 ± 7,70	1,95
	10-20	0,93	7,62 ± 0,07	5,7	133,58 ± 5,69	2,19
	20-40	--	5,52 ± 0,01	3,9	110,78 ± 5,01	1,66
	40-60	--	5,42 ± 0,03	2,3	110,62 ± 5,17	2,88
Tucandera	0-10	1,06	11,73 ± 0,33	5,3	133,76 ± 0,00	1,15
	10-20	1,35	9,84 ± 0,10	4,5	141,57 ± 1,72	--
	20-40	--	8,98 ± 0,15	4,7	138,21 ± 3,40	--
	40-60	--	6,94 ± 0,01	5,4	186,50 ± 7,22	--
Ramada	0-10	0,97	19,14 ± 0,03	6,3	205,08 ± 10,02	2,04
	10-20	1,04	13,96 ± 0,13	5,0	243,61 ± 5,93	--
	20-40	--	12,93 ± 0,07	3,4	252,54 ± 2,02	--
	40-60	--	11,39 ± 0,03	1,8	220,95 ± 1,95	--
Araçá 1	0-10	1,19	14,40 ± 0,04	5,4	150,86 ± 2,24	2,33
	10-20	1,36	9,21 ± 0,89	4,5	154,85 ± 4,06	--
	20-40	--	8,16 ± 0,08	4,9	147,39 ± 2,18	--
	40-60	--	7,42 ± 0,42	6,7	164,91 ± 13,22	--
Araçá 2	0-10	--	13,27 ± 0,67	5,2	156,21 ± 6,14	1,70
	10-20	--	10,06 ± 0,17	5,0	144,02 ± 3,82	--
	20-40	--	10,91 ± 0,07	4,9	142,99 ± 1,98	--
	40-60	--	10,42 ± 0,16	3,7	140,06 ± 3,93	--
SRM 2709*				1,40 ± 0,05		

* Padrão de solo certificado: SRM 2709: Hg 1,41 ± 0,08 µg. kg⁻¹

** sombreado: regiões não alagáveis

A Tabela 9 apresenta os rendimentos das SH extraídas de solos da Amazônia em diferentes profundidades. Verifica-se que o rendimento das extrações das SH variou de 1,8 – 7,2 % (m/m) e estes valores podem ser considerados razoáveis considerando os teores de matéria orgânica presente nos solos (5,42 - 24,66%, m/m).

A partir dos dados apresentados na Tabela 9 verifica-se similaridade entre os teores das SH extraídas dos solos coletados em diferentes localidades da Bacia do Médio Rio Negro-AM, indicando uma distribuição aproximadamente uniforme das SH nos solos da bacia. As principais variações estão associadas à distribuição no perfil e característica alagável ou não alagável do solo.

Comparando-se o rendimento das extrações em função da profundidade, observa-se para algumas amostras de solos (Araçá 2, Carvoeiro 3 e Ramada) uma diminuição do teor de SH extraída com a profundidade. Este comportamento, provavelmente está associado ao fato dessas amostras terem sido coletadas em regiões alagáveis, e desta forma as SH presentes nas camadas inferiores do perfil do solo tenderiam a ser arrastadas para as camadas superiores do solo e/ou lixiviadas para o sistema aquático.

Para as amostras coletadas em regiões não alagáveis (Araçá 1, Tucandeira e Carvoeiro 1), observaram-se menores porcentagens de SH extraídas na profundidade de 10-20 cm. Neste perfil, o processo de humificação é mais intenso levando provavelmente à maior oxidação da matéria orgânica e conseqüente diminuição das SH (STEVENSON, 1994).

Tabela 9 apresenta também resultados referentes à concentração de mercúrio nas amostras de solo. Os resultados das concentrações de Hg obtidos para as amostras de referência aproximam-se de seus valores certificados, comprovando a exatidão do método utilizado.

Os teores de mercúrio encontrado nas amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM são compatíveis com os encontrados na literatura (ALLOWAY, 1995; FADINI & JARDIM, 2001). Observaram-se variações entre as concentrações de mercúrio em função dos pontos de coleta e inexistência de relação entre os teores e a profundidade de coleta das amostras.

Para correlacionar os teores de mercúrio com as características dos diferentes perfis de solos, traçaram-se curvas entre estas variáveis e obtiveram-se os valores das regressões lineares, conforme ilustram as Figuras 25-28.

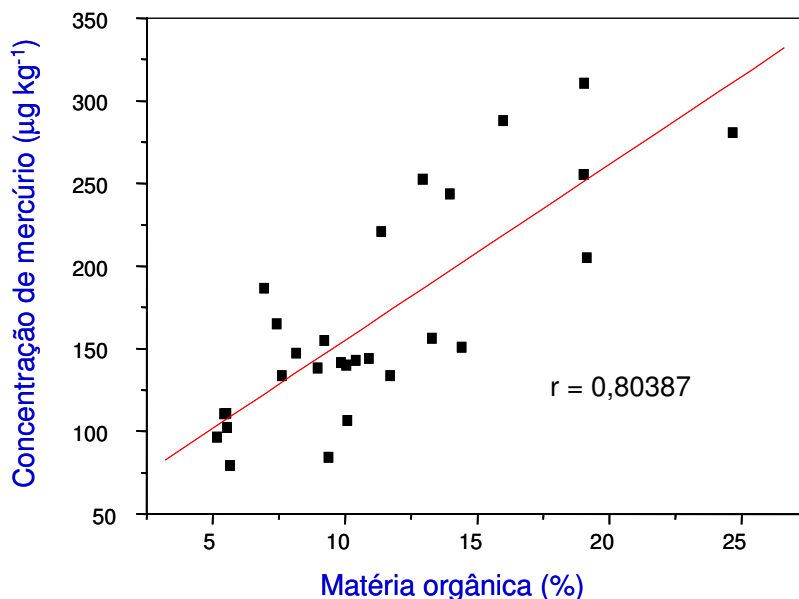


Figura 25 - Correlações entre as porcentagens de matéria orgânica e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM.

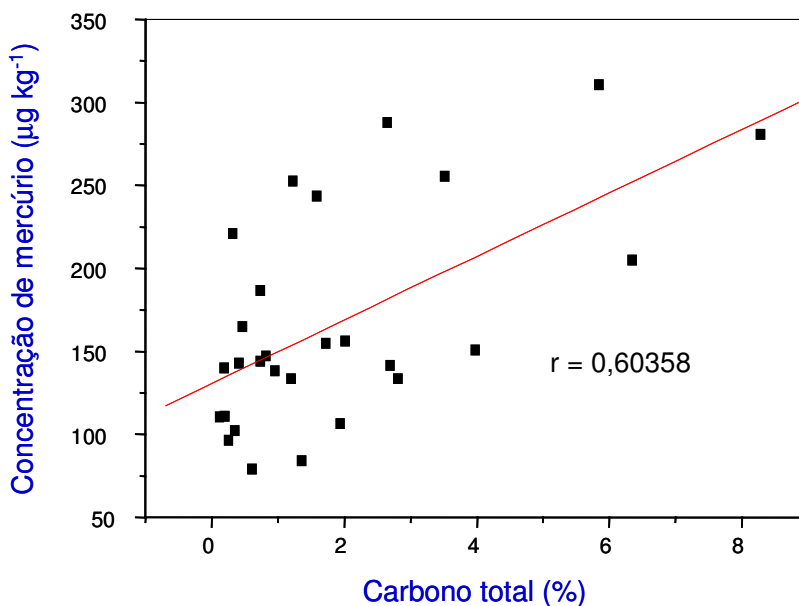


Figura 26 - Correlações entre as porcentagens de carbono total e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM.

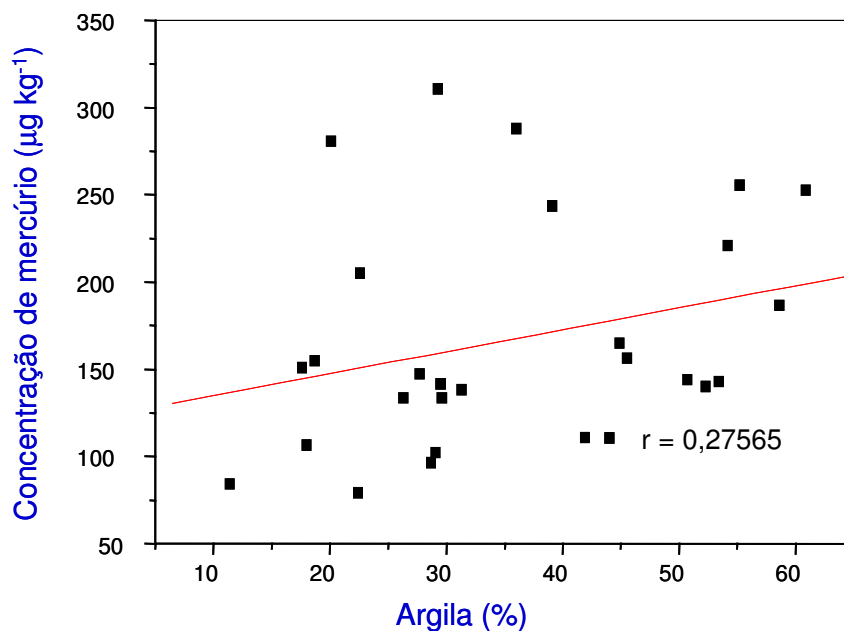


Figura 27 - Correlações entre as porcentagens de argila e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM.

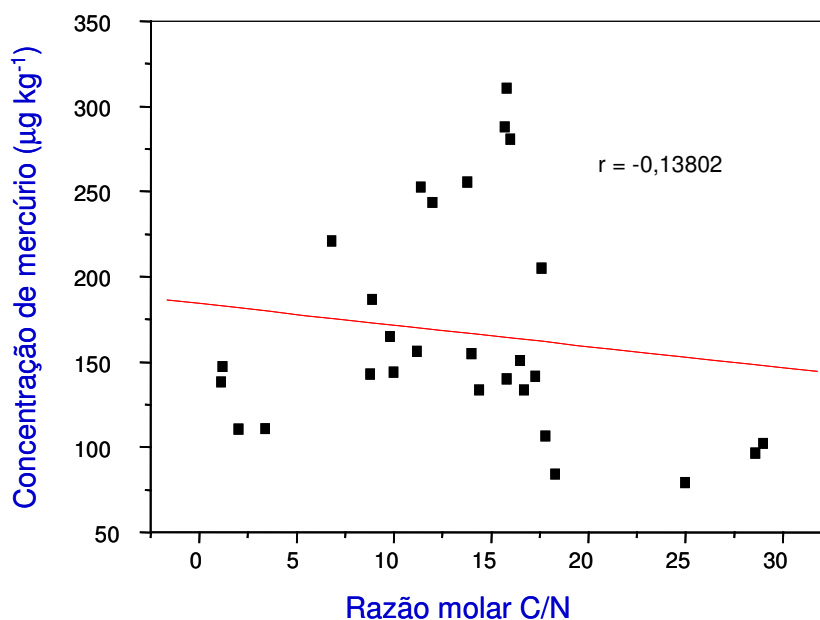


Figura 28 – Correlações entre razões atômicas C/N e concentrações de mercúrio nas amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM.

A partir dos coeficientes de correlações entre mercúrio e algumas características dos solos, mostradas nas Figuras 25-28, observaram-se

melhores correlações entre mercúrio com matéria orgânica (Figura 25) e carbono total (Figura 26). Alguns autores têm preferido correlacionar mercúrio apenas com carbono total. Entretanto, a matéria orgânica presente em solos possui outros elementos como enxofre, grupos nitrogenados e oxigenados os quais também influenciam nos processos de complexação/redução de metais (STEVENSON, 1994).

FADINI & JARDIM (2001) estudando amostras de solo da Bacia do Médio Rio Negro-AM obtiveram melhor correlação entre mercúrio e alumínio/ferro presentes nas amostras de solo ao invés de matéria orgânica. Porém, outros autores verificaram melhores correlações entre mercúrio e matéria orgânica, principalmente para solos ácidos, nos quais a matéria orgânica, principalmente na forma de substâncias húmicas, compreende a principal classe de compostos que atua nos processos de complexação, redução e transporte de mercúrio para o ambiente (ALLOWAY, 1995).

A Tabela 10 apresenta os valores aproximados das áreas referentes aos locais de coleta de solos na região amazônica e capacidade de complexação de Hg(II) calculada para cada área.

A Tabela 10 apresenta os valores aproximados das áreas referentes aos locais de coleta de solos na região amazônica e capacidade de complexação de Hg(II) calculada para cada área.

Tabela 10 - Área aproximada dos pontos de coletas, volume, massa e quantidade de Hg(II) complexado por substâncias húmicas em solos na Bacia do Médio Rio Negro – AM na profundidade 0-10 cm.

Locais de coleta	Área $10^3 (\text{km}^2)$	Volume de solo $10^{13} (\text{m}^3)$	Densidade (g cm^{-3})	Massa de solo $10^{10} (\text{kg})$	Matéria orgânica (%)	Capacidade de retenção de Hg (g Hg kg^{-1} solo)	Capacidade de retenção de Hg $10^5 (\text{ton Hg área}^{-1})$
Iara	3,03	3,03	0,70	2,122	24,66	34,87	7,40
Carvoeiro 1	2,36	2,36	1,21	2,854	9,37	23,40	6,68
Carvoeiro 3	2,36	2,36	0,79	1,863	10,10	19,75	3,68
Tucandeira	3,03	3,03	1,06	3,213	11,73	13,53	4,35
Ramada	3,03	3,03	0,97	2,941	19,14	39,16	11,52
Araçá 1	80,95	80,95	1,19	96,32	14,40	33,65	324,14
Araçá 2	80,95	80,95	1,19	96,32	13,27	22,63	217,94

* sombreado: regiões não alagáveis

Para determinação da capacidade de retenção de Hg(II) em cada região foram feitos cálculos baseados nos valores das área aproximada de cada ponto de coleta de amostras, resultados de densidade, porcentagens de matéria orgânica e de capacidade de complexação de SH por íons mercúrio.

Para o cálculo do volume de solo em cada área, foi utilizado os valores das áreas aproximadas de cada ponto de coleta e a profundidade de coleta das amostras de solo (0-10 cm), conforme a equação:

➤ Cálculo do volume de solo:

$$V_{solo} = A(m^2) \times profundidade(m);$$

onde V_{solo} representa o volume em m^3 de solo em cada área; A representa a área total em m^2 de cada local de coleta; *profundidade (m)* a profundidade em metros de coleta de cada solo.

Para o cálculo da massa de solo presente em cada região foram utilizados os resultados referentes à densidade e volume de solo.

➤ Cálculo da massa de solo

$$d = \frac{m_{solo}}{V_{solo}};$$

onde: d representa a densidade do solo ($g\ cm^{-3}$); m_{solo} a massa de solo (g); V_{solo} o volume do solo.

Com os resultados de matéria orgânica pode-se estimar a porcentagem de SH presentes nas diferentes regiões amazônicas estudadas, sendo que, de acordo com a literatura, cerca de 50% da matéria

orgânica presente nos solos é composta de SH, dessa forma, foi possível estimar também a capacidade de retenção de Hg(II) por região.

Os resultados referentes à capacidade de retenção de Hg(II) em solos mostram que a região amazônica é capaz de reter na forma de complexos com a matéria orgânica, principalmente SH, de 3,68 a 324,14 toneladas de Hg(II), dependendo da área estudada, não o disponibilizando para possíveis reações/transformações que podem ocorrer no solo, e assim ser transferido para os outros compartimentos (água e ar).

Iramaia Corrêa Bellin. "Interações entre íons Hg(II) e substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro, Amazônia"

CONCLUSÕES

- a) Os teores de matéria orgânica determinados nas amostras de solos diminuem com o aumento da profundidade;
- b) Os valores das razões atômicas C/N diminuem com a profundidade, exceto para as amostras de Carvoeiro 1 e Tucandeira, indicando que a decomposição da matéria orgânica do solo é influenciada pelo tipo de solo e sazonalidade de cheias/vazantes na região;
- c) A partir das análises granulométricas verificou-se um aumento de argila em função do perfil;
- d) Os resultados de concentração de spins indicaram consideráveis diferenças entre os níveis de humificação das SH extraídas de diferentes solos amazônicos;
- e) A aplicação da espectroscopia de ressonância magnética nuclear ^{13}C permitiu observar semelhanças em relação às porcentagens dos diferentes tipos de carbono presentes nas estruturas das SH e observar, a mesma seqüência decrescente de porcentagens de tipos de carbono: alifático > éteres/hidroxilas > carboxilas/ésteres/amidas > aromáticos > fenóis $\cong$ carbonilas de aldeídos e cetonas;
- f) O procedimento analítico baseado em ultrafiltração apresentou-se interessante para caracterização da interação entre Hg(II) e substâncias húmicas. Observaram-se diferenças significativas entre os valores das CC de Hg(II) por SH para as amostras estudadas. Estas provavelmente estão associadas às características distintas das amostras, as quais foram coletadas em regiões não alagável e alagável. Observou-se variação dos valores de CC em função da profundidade, para a profundidade 40-60 cm houve um aumento da CC indicando que o Hg pode estar associados à parte mineral do solo;

- h) O procedimento analítico de ultrafiltração utilizado possibilitou determinar constantes de troca entre íons Hg(II) adicionados e as espécies metálicas originalmente complexadas pelas substâncias húmicas;
- i) A seguinte ordem de estabilidade dos complexos formados com SH para as amostras estudadas pode ser estabelecida: SH-Mg > SH-Zn > SH-Cd > SH-Fe > SH-Cu >> Hg-SH;
- j) As características estruturais das SH influenciam na estabilidade dos complexos SH-metal;
- k) Todos os parâmetros que haviam sido interpretados individualmente foram analisados simultaneamente através da análise quimiométrica, onde pode-se observar a formação de dois grupos bem distantes, indicando que a capacidade de complexação de mercúrio pode estar relacionada mais a algumas características das substâncias húmicas, como por exemplo concentração de spins e razões atômicas C/N e C/O, do que a outras.
- l) Através de cálculos utilizando-se algumas características dos solos e parâmetros de complexação pode-se estimar a quantidade de mercúrio que os solos da região amazônica é capaz de reter, de 3,68 a $324 \times 10^5 \text{ ton Hg área}^{-1}$, dependendo da região, isto devido a grande quantidade de matéria orgânica presente nesses solos.

Iramaia Corrêa Bellin. "Interações entre íons Hg(II) e substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro, Amazônia"

REFERÊNCIAS

Iramaia Corrêa Bellin. "Interações entre íons Hg(II) e substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro, Amazônia"

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

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

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

AIKEN, G. R. Isolation and concentration techniques for aquatic humic substances. In: AIKEN, G. R.; McKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L.; MacCARTHY, P. (Ed.). **Humic substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation and characterization**. New York: John Wiley & Sons, 1985. p. 363-385.

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

BISINOTI, M. C. **Biogeoquímica aquática do mercúrio orgânico na Bacia do Rio Negro, Amazônia**. 2005. 169 f. Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química, Universidade de Campinas, Campinas, 2005.

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

BOND, A. M. **Modern polarographic methods in analytical chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1980. p. 435-472.

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

BUFFLE, J.; STAUB, C. Measurement of complexation properties of metal-ions in natural conditions by ultrafiltration - measurement of equilibrium-constants for complexation of zinc by synthetic and natural ligands. **Analytical Chemistry**, v. 56, n. 14, p. 2837-2842, 1984.

BUFFLE, J.; GRETER, F. L.; HAERDI, W. Measurement of complexation properties of humic and fulvic acids in natural-waters with lead and copper ion-selective electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 49, n. 2, p. 216-222, 1977.

BUFFLE, J.; DELADOEY, P.; GRETER, F. L.; HAERDI, W. Study of the complex-formation of copper(II) by humic and fulvic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 116, n. 2, p. 255-274, 1980.

BURBA, P. Labile/inert species in aquatic humic substances an ion-exchange study. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, v. 348, p. 301-311, 1994.

BURBA, P.; ROCHA, J. C.; SCHULTE, A. Cellulose TETPA: a chelating collector designed for multielement preconcentration in flow systems. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, v. 346, p. 414-419, 1993.

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

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

BURBA, P.; ASTER, B.; NIFANT'EVA, T.; SHKINEV, V.; SPIVAKOV, B. Y. Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: a concise overview: part 1- Analytical fractionation by means of sequential-stage ultrafiltration. **Talanta**, v. 45, p. 977-988, 1998.

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

DE OLIVEIRA, S. M. B.; MELFI, A. J.; FOSTIER, A. H.; FORTI, M. C.; FAVARO, D. I. T.; BOULET, R. Soils as an important sink for mercury in the Amazon. **Water, Air, Soil Pollut**, v. 26, p. 321-337, 2001.

DOREA, J. G.; BARBOSA, A.; FERRARI, I.; SOUZA, J. Mercury in hair and in fish consumed by Riparian women of the Rio Negro, Amazon, Brazil. **Journal Environmental Health Research**, v. 13, p. 239-248, 2003.

DE SENE, J. J. **Estudos de interações do íon mercúrio(II) com substâncias húmicas aquáticas**. 1997. 118 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1997.

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

FADINI, P. S.; JARDIM, W. F. Is the Negro River Basin (Amazon) impacted by naturally occurring mercury? **Science Total Environmental**, v. 275, p. 71-82, 2001.

FLORENCE, T. M. Electrochemical approaches to trace-element speciation in waters - a review. **Analyst**, v. 111, n. 5, p. 489-505, 1986.

Iramaia Corrêa Bellin. "Interações entre íons Hg(II) e substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro, Amazônia"

FOSTIER, A. H.; FORTI, M. C.; GUIMARÃES, J. R. D.; MELFI, A. J.; BOULET, R.; ESPIRITO SANTO, C. M.; KRUG, F. J. Mercury fluxes in a natural forested Amazonian catchments (Serra do Navio, Amapa State, Brazil) Science. **Total Environmental**, v. 260, p. 201-211, 2000.

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

HAN, S. H.; GILL, G. A. Determination of mercury complexation in coastal and estuarine waters using competitive ligand exchange method. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 17, p. 6607-6615, 2005.

HASWELL, S. J. **Practical guide to chemometrics**. New York: Marcel Dekker, 1992. 895 p.

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

HUFFMAN JR., E. W. D.; STUBER, H. A. Analytical methodology for elemental analysis of humic substances. In: AIKEN, G. R.; MCKNIGHT, M. D.; WERSHAW, R. L.; MACCARTHY, P. (Ed.). **Humic substances in soil, sediment and water**: geochemistry, isolation and characterization. New York: Wiley, 1985. 680 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Amazônia Brasileira**. Rio de Janeiro: Conselho Nacional de Geografia, 1944.

KILDUFF, J.; WEBER JR., W. J. Transport and separation of organic macromolecules in ultrafiltration processes. **Environmental Science and Technology**, v. 26, p. 569-577, 1992.

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

LACERDA, L. D.; SOUZA, M.; RIBEIRO, M. G. The effects of land use change on mercury distribution in soils of Alta Floresta, Southern Amazon. **Environmental Pollution**, v. 129, p. 247-255, 2004.

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

MALM, O. Gold mining as a source of mercury exposure in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**, v. 77, n. 2, p. 73-78, 1998.

MARTIN-NETO, L.; ROSSEL, R.; SPOSITO, G. Correlation of spectroscopic indicators of humification with mean annual rainfall along a temperature grassland climosequence. **Geoderma**, v. 81, p. 305-311, 1998.

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

MATHUTHU, A. S.; EPHRAIM, J. H. Calcium-binding by fulvic-acids studied by an ion-selective electrode and an ultrafiltration method. **Talanta**, v. 40, n. 4, p. 521-526, 1993.

MAURICE-BOURGOIN, L.; QUEMERAIS, B.; TURCQ, P. M.; SEYLER, P. Transport, distribution and speciation of mercury in the Amazon River at the confluence of black and white waters of the Negro and Solimoes Rivers. **Hidrological Processes**, v. 17, n. 7, p. 1405-1417, 2003.

MINDERMAN, G. Addition, decomposition and accumulation of organic matter in forests. **Journal of Ecology**, v. 56, p. 360-366, 1960.

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

NEUBECKER, T. A.; ALLEN, H. E. The measurement of complexation capacity and conditional stability-constants for ligands in natural-waters. **Water Research**, v. 17, p. 1, 1983.

NIFANT'EVA, T. J.; SHKINEV, V. M.; SPIVAKOV, B. Y.; BURBA, P. Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: a concise overview. Part 2. Evaluation of conditional stability constants by using ultrafiltration. **Talanta**, v. 48, n. 2, p. 257-267, 1999.

NURNBERG, H. W. Voltammetric trace analysis in ecological chemistry of toxic metals. **Pure and Applied Chemistry**, v. 54, n. 4, p. 853-878, 1982.

PARDO, R.; BARRADO, E.; VEJA, M.; DEBAN, L.; TASCÓN, M. L. Voltametric complexation capacity of waters of the Pisuerga river. **Water Research**, v. 28, p. 2139-2146, 1990.

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

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

Iramaia Corrêa Bellin. "Interações entre íons Hg(II) e substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro, Amazônia"

POOLE, C. P.; FARACH, H. A. **Theory of magnetic resonance**. New York: Wiley – Interscience, 1972.

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

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

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

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

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

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

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

ROMÃO, L. P. C. **Utilização da ultrafiltração em fluxo tangencial como nova metodologia para determinação da capacidade de complexação e constante de equilíbrio de íons Cu(II) por matéria orgânica natural.**

2003. 80 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003

ROSA, A. H. **Desenvolvimento de metodologia para extração de substâncias húmicas de turfas utilizando-se hidróxido de potássio.**

1998. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1998.

ROSA, A. H. **Substâncias húmicas:** extração, caracterização, novas perspectivas e aplicações. 2001. 87 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.

ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; FURLAN, M. Substâncias húmicas de turfa: estudo dos parâmetros que influenciam no processo de extração alcalina. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 472-476, 2000.

ROSA, A. H.; VICENTE, A. A.; ROCHA, J. C.; TREVISAN, H. C. A new application of humic substances: activation of supports for invertase immobilization. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 368, p. 730-733, 2000.

ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; BURBA, P. Extraction and exchange behaviour of metal species in therapeutically applied peat. **Talanta**, v. 58, p. 969-978, 2002.

ROSA, A. H.; DE OLIVEIRA, L. C.; BELLIN, I. C.; ROCHA, J. C.; ROMÃO, L. P. C.; DIAS, N. L. Influence of alkaline extraction on the characteristics of humic substances in Brazilian soils. **Thermochimica Acta**, v. 433, n. 1/2, p. 77-82, 2005a.

ROSA, A. H.; SIMÕES, M. L.; DE OLIVEIRA, L. C.; ROCHA, J. C.; NETO, L. M.; MILORI, D. M. B. P. Multimethod study of the degree of humification of humic substances extracted from different tropical soil profiles in Brazil's Amazonian region. **Geoderma**, v. 127, n. 1/2, p. 1-10, 2005b.

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

RUZIC, I. Theoretical aspects of the direct titration of natural waters and its information yield for trace metal speciation. **Analytical Chimica Acta**, v. 140, p. 99-113, 1982.

SAAR, R. A.; WEBER, J. H. Fulvic-acid - modifier of metal-ion chemistry. **Environmental Science & Technology**, v. 16, n. 9, p. 510 A -517 A, 1982.

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

SCATCHARD, G.; COLEMAN, J. S.; SHEN, A. L. Physical chemistry of protein solutions. VII. The binding of some small anions to serum albumin. **Journal American Chemistry Society**, v. 79, p. 12-20, 1957.

SCHNITZER, M.; SKINNER, S. I. M. Alkali versus acid extraction of soil organic matter. **Soil Science**, v. 105, p. 392-396, 1968.

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

Iramaia Corrêa Bellin. "Interações entre íons Hg(II) e substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro, Amazônia"

SEIN, L. C.; 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.

SILVA-FORSBERG, M. C.; FORSBERG, B. R.; ZEIDEMANN, V. K. Mercury contamination in humans linked to river chemistry in the Amazon basin. **Ambio**, v. 28, p. 519-521, 1999.

SINGER, L. S. Synthetic ruby as a secondary standard for the measurement of intensities in Electron Paramagnetic Resonance. **Journal Applied Physics**, v. 30, p. 1463-1464, 1959.

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

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

STAUB, C.; BUFFLE, J.; HAERDI, W. Measurement of complexation properties of metal ions in natural conditions by ultrafiltration: influence of various factors on the retention of metals and ligands by neutral and negatively charged membranes. **Analytical Chemistry**, v. 56, p. 2843-2849, 1984.

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

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

Iramaia Corrêa Bellin. "Interações entre íons Hg(II) e substâncias húmicas extraídas de diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro, Amazônia"

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry**: genesis, composition, reactions. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1994. 435 p.

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

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

TANI, Y.; SOMA, M.; HARSANYI, E. G.; UMEZAWA, Y. Effect of dissolved oxygen on the response of Cu(II) íon-selective electrodes in metal buffer solutions. **Analytica Chimica Acta**, v. 395, p. 53-63, 1999.

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

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

TOWN, R. M.; POWELL, H. K. J. Ion-selective electrode potentiometric studies on the complexation of copper(II) by soil-derived humic and fulvic acids. **Analytica Chimica Acta**, v. 279, p. 221-233, 1993.

TOWNSHEND, A. (Ed). **Encyclopedia of analytical science**. London: Academic Press, 1995. p. 2017-2027.

TSCHÖPEL, P.; KOTZ, L.; SHULZ, W.; VEBER, M.; TÖLG, G. Zur Ursache und Vermeidung systematischer Fehler bei Elementbestimmungen in wässrigen Lösungen im ng/mL – und pg/mL. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, v. 302, p. 1-14, 1980.

TUSCHALL JR., J. R.; BREZONIK, P. L. Application of continuous-flow ultrafiltration and competing ligand/differential spectrophotometry for measurement of heavy metal complexation by dissolved organic matter. **Analytical Chimica Acta**, v. 149, p. 47-58, 1983.

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

YIN, Y.; ALLEN, H. E.; HUANG, C. P.; SANDERS, P. F. Interaction of Hg(II) with soil-derived humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 341, p. 73-82, 1997.

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

ZHANG, Y. J.; BRYAN, N. D.; LIVENS, F. R.; JONES, M. N. Complexing of metal ions by humic substances. In: GAFFNEY, J. S.; MARLEY, N. A. (Ed.). **Humic and fulvic**: isolation, structure and environmental role. Washington: American Chemical Society, 1996. p. 194-206.