

ERIK SARTORI JEUNON GONTIJO

**DISTRIBUIÇÃO, COMPLEXAÇÃO E MOBILIDADE DE ÍONS
ARSÊNIO EM ÁGUAS SUPERFICIAIS DO QUADRILÁTERO
FERRÍFERO-MG/BRASIL: ÊNFASE NAS INTERAÇÕES COM
SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS**

Sorocaba
2017

ERIK SARTORI JEUNON GONTIJO

**DISTRIBUIÇÃO, COMPLEXAÇÃO E MOBILIDADE DE ÍONS
ARSÊNIO EM ÁGUAS SUPERFICIAIS DO QUADRILÁTERO
FERRÍFERO-MG/BRASIL: ÊNFASE NAS INTERAÇÕES COM
SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS**

Tese apresentada como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências Ambientais da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" na Área de Concentração Diagnóstico, Tratamento e Recuperação Ambiental

Orientador: Prof. Dr. André Henrique Rosa
Coorientador: Prof. Dr. Hubert Mathias Peter Roeser

Sorocaba
2017

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Unesp
Instituto de Ciência e Tecnologia – Câmpus de Sorocaba

Gontijo, Erik Sartori Jeunon.

Distribuição, complexação e mobilidade de íons arsênio em águas superficiais do Quadrilátero Ferrífero-MG/Brasil: ênfase nas interações com substâncias húmicas aquáticas / Erik Sartori Jeunon Gontijo, 2017.

96 f.: il.

Orientador: André Henrique Rosa

Coorientador: Hubert Mathias Peter Roeser

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Ciência e Tecnologia (Câmpus de Sorocaba), 2017.

1. Substâncias húmicas. 2. Filmes finos. 3. Redes neurais (Computação). 4. Arsênio. I. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Ciência e Tecnologia (Câmpus de Sorocaba). II. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: DISTRIBUIÇÃO, COMPLEXAÇÃO E MOBILIDADE DE ÍONS ARSENIO EM ÁGUAS SUPERFICIAIS DO QUADRILÁTERO FERRÍFERO-MG/ BRASIL: ENFASE NAS INTERAÇÕES COM SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS.

AUTOR: ERIK SARTORI JEUNON GONTIJO

ORIENTADOR: ANDRÉ HENRIQUE ROSA

COORDENADOR: HUBERT MATHIAS PETER ROESER

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em CIÊNCIAS AMBIENTAIS, área: Diagnóstico, Tratamento e Recuperação Ambiental pela Comissão Examinadora:



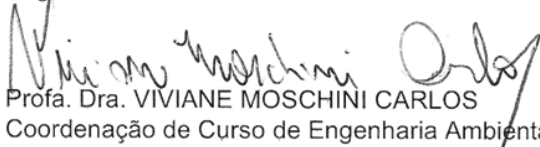
Prof. Dr. ANDRÉ HENRIQUE ROSA
Departamento de Engenharia Ambiental / Instituto de Ciência e Tecnologia - UNESP – Sorocaba



Prof. Dr. KURT FRIESE
Department Lake Research / Helmholtz Centre for Environmental Research - UFZ



Prof. Dr. PAULO SÉRGIO TONELLO
Engenharia Ambiental / UNESP – Sorocaba



Prof. Dra. VIVIANE MOSCHINI CARLOS
Coordenação de Curso de Engenharia Ambiental - ICTS/ UNESP / UNESP-Sorocaba



Prof. Dr. RICARDO PEROBELLI BORBA
Departamento de Geologia e Recursos Naturais do IGE/UNICAMP / Universidade Estadual de Campinas

Sorocaba, 27 de março de 2017

Dedico este trabalho a minha mãe Jussara, exemplo de amor, força e confiança. Sempre me apoiou e ajudou a atingir meus objetivos. Dedico também ao meu pai Milton e minha irmã Karen, que sempre me acompanharam e torceram por mim durante todos esses anos. Dedico aos meus avós José Jeunon e Terezinha, exemplos de vida e amor duradouro.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao professor Dr. André Rosa pela amizade, ajuda, força e paciência durante os quatro anos de pesquisa.

Ao professor Dr. Hubert Roeser pela amizade e força nos trabalhos de campo na região de Ouro Preto para coleta de água e experimentos de DGT e extração de substâncias húmicas no laboratório de saneamento (UFOP).

À Cláudia Watanabe e Adnivia Monteiro pela amizade, apoio e companhia em laboratório, além da grande ajuda nos experimentos envolvendo extração de substâncias húmicas, análise de metais no forno de grafite e ICP-OES, sem contar os conselhos e as quentes discussões sobre metodologias e análises.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (UFOP) pelo apoio no transporte de Ouro Preto para os pontos de coleta de água e uso de laboratório.

À professora Dr. Gilmore da Silva pela ajuda nas análises multivariadas e discussões dos resultados.

À Deyse Reis pela grande ajuda nos campos de Ouro Preto e análises de laboratório. Amiga sempre prestativa e disposta a ajudar. Aproveito para agradecer os outros amigos que também ajudaram nos trabalhos de campo: Edilson, Laura, Francismário e Murilo.

Aos amigos/colegas de laboratório pelo companheirismo e apoio. Sempre contribuíram para que os dias de trabalho ficassem mais divertidos: Jhones, Estefânia, Carolina Bueno, Ely, Mineia, Ignacio, Grillo e Anderson.

I thank the professor Dr. Kurt Friese for helping me during my stay in Germany. The support of all UFZ staff was also very important during my time in UFZ, especially Michael Herzog and Peter Herzprung. I express my gratitude to Department Seeforschung for supporting me in a German course, field trips and trips to conferences and for purchasing materials for my research. I thank the help and

companion of some friends/colleagues, who supported me in the first steps in Magdeburg and during all my period in UFZ: Xiaoqing, Valerie, Gunsmaa, Jeske, Jing Shui, Lino, Katja, Eva, Seif, Tallent, Karoline, Vanessa, Marieke, Florian and Andrew. Ich danke allen, die mir geholfen haben!

I thank Otto von Guericke Universität Magdeburg, especially Ms. Liane Hilfert for supporting me in the ^{13}C NMR and elemental analysis.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, processo 2012/17727-8) pela bolsa e apoio financeiro durante os quatro anos de doutorado. Agradeço também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Serviço Alemão de Intercâmbio Acadêmico (*Deutscher Akademischer Austauschdienst*, DAAD) pela bolsa e apoio durante meu período na Alemanha (CAPES/DAAD, processo BEX10452/14-1).

GONTIJO, E. S. J. **Distribuição, complexação e mobilidade de íons arsênio em águas superficiais do Quadrilátero Ferrífero-MG/Brasil**: ênfase nas interações com substâncias húmicas aquáticas. 2017. 96 f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais). Instituto de Ciência e Tecnologia de Sorocaba – UNESP. Universidade Estadual Paulista, 2017.

RESUMO

O As está distribuído em diversas formas químicas em sistemas aquáticos, o que determina o seu comportamento e destino no ambiente. Nesse contexto, as substâncias húmicas (SH) têm um importante papel por serem capazes de complexar esse metaloide e alterar sua mobilidade e biodisponibilidade. O Fe também tem grande importância por poder formar complexos ternários SH-Fe-As. Apesar da química do As já ter sido bem estudada, o seu comportamento em ambientes ricos em SH e Fe ainda não é totalmente compreendido. Os objetivos desse trabalho foram investigar a distribuição do As, Al e Fe em águas superficiais de uma região mineira no sudeste do Brasil (Quadrilátero Ferrífero, QF) e entender como características de SH extraídas de diferentes regiões (Brasil e Alemanha) afetam a complexação do As(V) na presença de Fe(III). Amostras de águas foram coletadas em 12 pontos do QF, filtradas (0,45 µm) e ultrafiltradas (1 kDa) para separar as frações particulada (>0,45 µm), coloidal (<0,45 µm e >1 kDa) e livre (<1 kDa) de As, Al e Fe. A técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT) foi usada em 5 dos 12 pontos para estudar a fração lábil dos elementos estudados. Carbono orgânico total (COT) e dissolvido (COD) também foram medidos. SH foram extraídas de quatro pontos (um no Brasil nas estações seca e chuvosa e três na Alemanha) para testar a influência de diferentes tipos de SH e Fe(III) na complexação do As(V). As SH foram caracterizadas e foram feitos testes de complexação utilizando sistema de ultrafiltração com membrana de 1 kDa. Todos os dados foram analisados pela rede neural de Kohonen. Os resultados mostraram que a maior parte do Al e Fe total no QF estava presente na fração particulada e o As na fração livre. A maior parte do Al e Fe dissolvido estava na fração coloidal e inerte, diferente do As que era mais lábil e potencialmente biodisponível. A maioria das amostras apresentou comportamento similar nas estações seca e chuvosa no QF. Diferenças entre os resultados de ultrafiltração e DGT foram atribuídos a distinções metodológicas e processos químicos. Os resultados de caracterização dos extratos mostraram que a maior parte do As e Fe estavam predominantemente nas frações de maior tamanho molecular. Todos os extratos de SH complexaram quantidades similares de As(V) nos testes de complexação, exceto o extrato do rio Selke, onde foi encontrado menos As(V) livre (mais complexado). Essa diferença foi atribuída ao S e à grupos N-C aromático na estrutura de SH. Isso reforça que a qualidade das SH é um importante fator capaz de influenciar o comportamento do As em ambientes ricos em matéria orgânica e Fe, que também pareceram ser fatores limitantes nas interações com o As. A rede neural de Kohonen foi uma ferramenta importante nas investigações de distribuição do As e complexação do As(V) por Fe(III) e SH.

Palavras-chave: substâncias húmicas, difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT), rede neural de Kohonen, arsênio, água

GONTIJO, E. S. J. **Distribution, complexation and mobility of arsenic ions in surface waters from Quadrilátero Ferrífero – MG/Brazil**: emphasis on interactions with aquatic humic substances. 2017. 96 f. Thesis (PhD in Environmental Sciences). Instituto de Ciência e Tecnologia de Sorocaba – UNESP. Universidade Estadual Paulista, 2017.

ABSTRACT

As is distributed in different chemical forms in aquatic systems. These different forms control its behaviour and fate in the environment. The humic substances (HS) have an important role in the As cycle since they can complex this metalloid and change its mobility and bioavailability. Fe is also important because it can form ternary complexes HS-Fe-As. Although the As chemistry is well studied, the behaviour of As in HS and Fe-rich environments is not totally known. This thesis aimed to investigate the distribution of As, Al and Fe in surface waters from a mining region in the southeast of Brazil (Quadrilátero Ferrífero, QF) and understand how characteristics of HS extracted from different regions (Brazil and Germany) affect the complexation of As(V) in the presence of Fe(III). Water samples were taken in 12 points in QF, filtered (0.45 μm) and ultrafiltered (1 kDa) to separate the fractions particulate (>0.45 μm), colloidal (<0.45 μm and >1 kDa) and free (<1 kDa) of As, Al and Fe. The technique of diffusive gradients in thin films (DGT) was used in 5 of the 12 points to study the labile fraction of the elements studied. Total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC) were also measured. HS were extracted from four points (one in Brazil in dry and rainy seasons and three in Germany) to analyse the influence of HS from different origins and Fe(III) on the complexation of As(V). The HS were characterised and complexation experiments were performed using an ultrafiltration system with 1 kDa membrane. All data were analysed using the Kohonen neural network. The results showed that most of total Al and Fe in QF was in the particulate fraction and As was in the free fraction. Most of the dissolved Al and Fe was in the colloidal and inert fraction, while As was more labile and potentially more bioavailable. Most samples had similar behaviour in the dry and rainy seasons in the QF. Differences between results of ultrafiltration and DGT were attributed to methodological distinctions and chemical processes. The results of characterisation of extracts showed that most of As and Fe was in the fractions of higher molecular size. All HS extracts complexed similar amounts of As(V), except Selke, where a lower amount of free As(V) was detected (more complexed). This difference was attributed to S and N-aromatic C groups in HS structure. It supports that the quality of HS is an important factor able to influence the behaviour of As in environments rich in organic matter and Fe. The Kohonen neural network was an important tool in the investigation of the distribution of As and As(V) complexation by Fe(III) and HS.

Keywords: humic substances, diffusive gradients in thin films (DGT), Kohonen neural network, arsenic, water

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Perfil de um dispositivo DGT	26
Figura 2 – Mapa mostrando os pontos de coleta (S) na bacia do Alto do Rio Doce no Quadrilátero Ferrífero (QF), Minas Gerais, Brasil.....	32
Figura 3 – Foto à esquerda (A) mostra a Cascatinha (ponto S4) e a foto à direita (B) dá destaque a coloração escura das suas águas	32
Figura 4 – Medição de parâmetros físico-químicos <i>in situ</i> na região do QF	33
Figura 5 – Mapa mostrando alguns pontos escolhidos na área dos rios Caraça e Conceição para imersão de DGT	35
Figura 6 – Montagem e imersão de DGT em um ponto de amostragem.....	36
Figura 7 – Esquema da ultrafiltração das amostras com membranas de 1 kDa.....	38
Figura 8 – Sistema de ultrafiltração tangencial utilizado nos experimentos	38
Figura 9 – Resumo dos principais pontos da metodologia	39
Figura 10 – Resultados de carbono orgânico total e dissolvido para as águas coletadas nas estações seca e chuvosa	43
Figura 11 – Curvas de atomização e pirólise para solução de As de 50 µg L ⁻¹	44
Figura 12 – Curvas de atomização e pirólise para solução de As de 50 µg L ⁻¹ e na presença de 50 mg L ⁻¹ de SHA (expressa em COD)	45
Figura 13 – Mapas de Kohonen das amostras ultrafiltradas: comparação dos dados acima do LD e acima do LQ.....	45
Figura 14 – Mapas de Kohonen das amostras ultrafiltradas e DGT: comparação dos dados acima do LD e acima do LQ	46
Figura 15 – Rede neural de Kohonen: mapas das amostras	47
Figura 16 – Mapas das variáveis para as amostras ultrafiltradas.....	48
Figura 17 – Mapas das variáveis para as amostras ultrafiltradas e DGT	49
Figura 18 – Distribuição de Al, As e Fe nas amostras de água coletadas nos 12 pontos no Quadrilátero Ferrífero (Brasil).....	52
Figura 19 – Concentração das espécies dissolvida, livre e lábil nos pontos onde os DGT foram imersos	53
Figura 20 – Mapa de localização dos pontos de amostragem no Brasil e na Alemanha....	59
Figura 21 – Foto do ponto de coleta no rio Warme Bode (A) e coleta de água para extração de substâncias húmicas no rio Holtemme (B)	60

Figura 22 – Sistema filtração/ultrafiltração (Millipore Pellicon®) das amostras em 0,45 µm e 1 kDa com a bomba peristáltica	61
Figura 23 – Sistema de extração de substâncias húmicas aquáticas e extrato obtido antes e depois da concentração em evaporador rotativo a vácuo	62
Figura 24 – Fracionamento dos extratos das substâncias húmicas extraídas	65
Figura 25 – Sistema de ultrafiltração e frações obtidas após fracionamento	65
Figura 26 – Testes de complexação do As com a matéria orgânica na presença de Fe	67
Figura 27 – Equipamento utilizado para medição da fluorescência e absorbância UV/VIS	68
Figura 28 – ¹³ C RMN de todas as substâncias húmicas extraídas.....	73
Figura 29 – Valores de integração das áreas dos espectros de ¹³ C RMN das substâncias húmicas e estimativa de alifaticidade e aromaticidade.....	73
Figura 30 – Resultados das análises ópticas e espectroscópica e distribuição de TCO, As e Fe para as 4 frações de substâncias húmicas	75
Figura 31 – As ultrafiltrado (<1 kDa) em membranas de celulose regenerada em diferentes pH. Os resultados foram usados para avaliar a quantidade de As retido no sistema de ultrafiltração (a partir de uma solução de 100 µg L ⁻¹ de As).....	77
Figura 32 – Resultados dos testes de complexação com diferentes concentrações de carbono e diferentes extratos	78
Figura 33 – Rede neural de Kohonen com os resultados dos testes de caracterização e complexação	79
Figura 34 – Resultados médios das intensidades na região tipo ácido húmico (excitação / emissão = 321-345/409-439 nm)	82
Figura 35 – EEM das amostras com diferentes concentrações de As e Fe (10 mg L ⁻¹ TCO).	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Coeficientes de difusão de alguns metais e metaloides.....	35
Tabela 2 – Tempos de imersão dos DGT (amostras das estações seca e chuvosa)....	37
Tabela 3 – Definição operacional das frações estudadas.....	38
Tabela 4 – Limites de detecção e quantificação para as frações total, dissolvida e livre de alguns metais e metaloides analisados no ICP-OES (expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$).....	39
Tabela 5 – Resultados dos parâmetros físico-químicos, ânions e fósforo	42
Tabela 6 – Características de cada grupo de amostras a partir de interpretação da rede neural de Kohonen (amostras ultrafiltradas e ultrafiltradas + DGT)	50
Tabela 7 – Resultados dos parâmetros físico-químicos e data de amostragem.....	71
Tabela 8 – Resultados de As, Al e Fe nas águas naturais dos rios estudados	72
Tabela 9 – Resultados da análise elementar (livre de cinza) e propriedades ópticas e espectroscópicas dos extratos de substâncias húmicas aquáticas.....	72
Tabela 10 – Resultados de carbono estável e nitrogênio das substâncias húmicas extraídas.....	75
Tabela 11 – Resultados medidos e teóricos para o TCO, As e Fe para o extrato de substâncias húmicas e as soluções preparadas para os testes de complexação.....	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF – ácidos fúlvicos

AH – ácidos húmicos

ALK – alcalinidade

Cl⁻ – cloreto

c_e – concentração de um elemento medida após eluição do gel ligante de dispositivo de DGT

c_a – concentração do analito nas águas

COD – carbono orgânico dissolvido

COND - condutividade

COT – carbono orgânico total

D – coeficiente de difusão do analito no gel difusivo de dispositivo de DGT

DGT – *diffusive gradients in thin films* (difusão em filmes finos por gradiente de concentração)

E2 – absorbância em 254 nm

E3 – absorbância em 365 nm

EEM – Excitation–emission matrix (matriz de excitação-emissão)

E_f – fator de eluição

FC – fração coloidal

F_c – fator de concentração

FD – fração dissolvida

FI – *fluorescence index* (índice de fluorescência)

F_{in} – fração inerte

FL_b – fração lábil

FL – fração livre (<1 kDa)

F_{Ptc} – fração particulada

FT – fração total

GFAAS – *graphite furnace atomic absorption spectroscopy* (espectrômetro de absorção atômica com sistema de atomização por forno de grafite)

HI – *humification index* (índice de humificação)

ICP-OES – *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry* (espectrometria de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado)

IHSS – *International Humic Substances Society*

LD – limite de detecção

LQ – limite de quantificação

M – massa do analito

MOD – matéria orgânica dissolvida

MON – matéria orgânica natural

ND – não determinado

OD – oxigênio dissolvido

ORP – potencial de oxirredução

pH – potencial hidrogeniônico

QF – Quadrilátero Ferrífero

RPPN – Reserva Particular do Patrimônio Natural

SH – substâncias húmicas

SHA – substâncias húmicas aquáticas

SO₄²⁻ – sulfato

SOM – *self organising maps* (mapa auto organizável ou rede neural de Kohonen)

STD – sólidos totais dissolvidos

t – tempo de imersão dos dispositivos DGT

TCO – teor de carbono orgânico

TEMP – temperatura

TU – turbidez

UFT – ultrafiltração tangencial

USEPA – *United States Environmental Protection Agency* (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos)

V_e – volume de eluente

V_g – volume de gel ligante em dispositivo de DGT

β/α – *freshness index* (índice β/α)

SUMÁRIO

Apresentação	17
Capítulo 1 – Interações entre substâncias húmicas e arsênio: métodos de estudo e conceitos gerais	18
1.1. Introdução	19
1.2. Substâncias húmicas	20
1.3. Arsênio	21
1.4. Substâncias húmicas aquáticas e a complexação com arsênio.....	23
1.5. Estudo da influência das substâncias húmicas na especiação de metais....	25
1.6. Quadrilátero Ferrífero.....	27
1.7. Justificativa.....	28
1.8. Objetivos	28
1.8.1. Objetivos gerais.....	28
1.8.2. Objetivos específicos.....	29
Capítulo 2 – Aplicação das técnicas de difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT) e ultrafiltração com fluxo tangencial (UFT) no estudo da biodisponibilidade e distribuição de arsênio em águas superficiais do Quadrilátero Ferrífero (Brasil)	30
2.1. Introdução	31
2.2. Materiais e métodos.....	31
2.2.1. Amostragem e análises físico-químicas	31
2.2.2. Difusão em filmes finos por gradiente de concentração	34
2.2.3. Ultrafiltração e determinação das frações dissolvida e livre	37
2.2.4. Avaliação do comportamento eletrotérmico do As no forno de grafite...	40
2.2.5. Análise multivariada por meio da rede neural de Kohonen	40
2.3. Resultados e discussão	41
2.3.1. Análises físico-químicas, ânions, carbono e fósforo.....	41
2.3.2. Avaliação do comportamento eletrotérmico do As no forno de grafite...	43
2.3.3. Comparação dos dados acima do limite de detecção e quantificação utilizado análise multivariada	45
2.3.4. Análise multivarida dos dados	47
2.3.5. Análise da distribuição de As, Al e Fe e influência da matéria orgânica	51
2.4. Conclusões do capítulo	55

Capítulo 3 – Dinâmica e distribuição de As(V) em ambientes tropicais e temperados: efeitos do Fe(III) e da qualidade das substâncias húmicas aquáticas	57
3.1. Introdução	58
3.2. Materiais e Métodos	58
3.2.1. Amostragem e caracterizações preliminares	58
3.2.2. Ultrafiltração.....	60
3.2.3. Extração de substâncias húmicas aquáticas	61
3.2.4. Análise elementar	62
3.2.5. Ressonância magnética nuclear (¹³ C RMN)	63
3.2.6. Análise isotópica	64
3.2.7. Fracionamento dos extratos de substâncias húmicas em diferentes faixas de massa molecular.....	64
3.2.8. Experimentos de complexação usando ultrafiltração.....	66
3.2.9. Medidas ópticas espectroscópicas	67
3.2.10. Fluorescence quenching	69
3.2.11. Análise multivariada	69
3.3. Resultados e discussão	71
3.4. Conclusões do capítulo	83
Capítulo 4 – Conclusões gerais	85
Referências	87

Apresentação

Esta Tese de Doutorado é apresentada na forma de capítulos para permitir melhor entendimento do leitor em relação as etapas experimentais desenvolvidas e resultados obtidos. O primeiro capítulo é uma breve revisão da literatura e apresenta uma base teórica relacionada as substâncias húmicas (SH), As e os principais aspectos das interações entre eles, além da influência do Fe e técnicas de especiação. O segundo capítulo trata de experimentos com águas coletadas em campo na região do Quadrilátero Ferrífero (QF, Minas Gerais, Brasil) com o propósito de investigar a dinâmica e o comportamento do As na presença de matéria orgânica no ambiente. Nesse capítulo foi utilizada a técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (*diffusive gradients in thin films*, DGT) para investigação das espécies lábeis e inertes e ultrafiltração com fluxo tangencial para estudo das espécies livres (< 1 kDa). Ambas as técnicas foram comparadas. No terceiro capítulo, SH foram extraídas de rios no Brasil e Alemanha para estudar o comportamento e distribuição do As(V) e a influência das características da matéria orgânica de diferentes fontes, origens e condições ambientais. No quarto capítulo são apresentadas as principais conclusões obtidas que permitiram melhor entender a dinâmica do arsênio, complexação, transporte e disponibilidade em águas naturais de regiões tropicais e temperadas.

**Capítulo 1 – Interações entre substâncias húmicas e arsênio:
métodos de estudo e conceitos gerais**

1.1. Introdução

O consumo de água pelo homem tem crescido consideravelmente com o aumento da população humana. Se mantida essa tendência, a escassez e a deterioração desse recurso serão fatores críticos que limitarão o crescimento econômico, produção de alimentos e acesso a serviços de saúde e higiene, especialmente em países em desenvolvimento. Como apenas uma pequena porção da água na Terra é doce e prontamente disponível para uso humano, a sua qualidade tem sido uma preocupação, visto que o próprio homem usa corpos d'água como fonte de despejo de efluentes industriais e domésticos

Os contaminantes em águas podem trazer prejuízos não só para o homem, mas para todo ambiente afetado, o que inclui a vida aquática e terrestre que dependem desse recurso para sobreviver. Os efeitos desses contaminantes dependem de muitos fatores, como suas propriedades físicas, químicas e a sua concentração. Os organismos podem ser afetados tanto indiretamente, por meio do consumo de oxigênio causado pela biodegradação da matéria orgânica, quanto diretamente, por meio da exposição a químicos tóxicos (HARRISON, 1999). E essa toxicidade pode ser modificada pela presença de outras substâncias presentes nos corpos d'água. Um exemplo é a matéria orgânica natural (MON) dissolvida, especialmente sua fração húmica, que é conhecida por alterar a mobilidade e disponibilidade de nutrientes e contaminantes, incluindo metais e metaloides. As SH são misturas orgânicas complexas presentes em sistemas aquáticos naturais e que são originadas da degradação de restos vegetais e animais por intermédio de microrganismos (ROCHA *et al.*, 2000; MCDONALD *et al.*, 2004).

O As é um metaloide muito tóxico e que é responsável pela contaminação de águas superficiais e subterrâneas ao redor do mundo. Em Bangladesh, por exemplo, foi reportado que cerca de 85 milhões de pessoas estão ameaçadas devido aos altos níveis de As na água utilizada para consumo (SHARMA, OFNER e KAPPLER, 2010). Na América do Sul, pelo menos 4 milhões de pessoas dependem de água contaminada por esse metaloide na Argentina, Bolívia, Chile, México e Peru, onde a fonte primária desse elemento é geogênica. A exposição crônica ao As nesses países está associada a problemas neurológicos e dermatológicos (BUNDSCHUH *et al.*, 2009). No Brasil, também existem relatos de áreas contaminadas por esse metaloide no estado de Minas Gerais, onde a fonte do As também é geogênica e a mineração

tem tido um importante papel na liberação desse elemento para o ambiente (BORBA, FIGUEIREDO e MATSCHULLAT, 2003; VARCJAO *et al.*, 2011). Nesse meio, as SH podem formar complexos com As e alterar sua mobilidade, disponibilidade e toxicidade (MIKUTTA e KRETZSCHMAR, 2011). Apesar do problema ser conhecido, são poucos os trabalhos que investigam o papel das SH na mobilidade, disponibilidade e toxicidade do As para o homem e os seres vivos. Assim, esse trabalho é uma contribuição nessa temática ainda não muito conhecida.

1.2. Substâncias húmicas

As SH são ácidos orgânicos polares com diferentes tamanhos e massas moleculares provenientes da degradação de restos vegetais e animais por intermédio de microrganismos. Elas são a forma de carbono orgânico não viva mais abundante em ambientes aquáticos e terrestres (THURMAN e MALCOLM, 1981; ROCHA e ROSA, 2003; ROSA *et al.*, 2005).

As SH podem ser separadas em três frações de acordo com a solubilidade em diferentes valores de pH. Os ácidos húmicos (AH) são definidos como a fração das SH que não são solúveis em água com pH inferior a 2. Os ácidos fúlvicos (AF) são a fração das SH que são solúveis em qualquer faixa de pH. A humina é a fração que é insolúvel em água em qualquer faixa de pH. Ressalta-se que esse último componente do húmus não é significativo em corpos d'água. Porém, ela pode estar presente em teores consideráveis em sedimentos lacustres e marinhos (HESSEN e TRANVIK, 1998; MCDONALD *et al.*, 2004).

Com o aumento das preocupações com o ambiente e a conscientização pela manutenção da qualidade da água para consumo humano, o interesse pelo estudo das substâncias húmicas aquáticas (SHA) por pesquisadores do mundo inteiro tem crescido consideravelmente nos últimos anos (JANOS, 2003; ROCHA e ROSA, 2003). A causa desse destaque dado as SHA por desempenharem grande influência em rios e lagos ao afetar as teias alimentares tanto diretamente, no uso pelos organismos, quanto indiretamente, por mecanismos como pH, turbidez (TU), complexação de metais e transporte de contaminantes (MCDONALD *et al.*, 2004).

Segundo THURMAN e MALCOLM (1981), as SHA compreendem cerca de um terço a metade do carbono orgânico dissolvido (COD) em águas naturais. Esses compostos podem ter origem alóctone, quando são transportados por lixiviação ou

erosão de solos para rios, lagos e oceanos, ou autóctone, quando são formados a partir da degradação de constituintes celulares de organismos nativos (ROCHA e ROSA, 2003). Apesar das similaridades, é importante ressaltar que as SHA originadas em diferentes ambientes apresentam características particulares. A estação do ano ou a natureza da água (rios, lagos e oceanos) também são fatores determinantes no processo de formação das SHA (ROCHA e ROSA, 2003). REDMAN, MACALADY e AHMANN (2002) ainda destacam que o comportamento físico e químico de AH e AF variam de forma significativa dentre as diversas áreas geográficas ao redor do mundo.

1.3. Arsênio

O As é um metaloide de ocorrência natural que pode ser encontrado na atmosfera, solos, hidrosfera e organismos vivos. No ambiente, suas formas mais abundantes são o arsenato (As(V), que compõe espécies como o oxiânion H_2AsO_4^-) e o arsenito (As(III), na forma de espécies como o H_3AsO_3), dependendo das condições oxirredutoras do meio. Entretanto, assim como o Hg, o As também pode ocorrer como formas metiladas (ácido metilarsênio e ácido dimetilarsênio) a partir da ação de bactérias. O conhecimento dessas espécies químicas de As é muito importante, pois a toxicidade desse metaloide é fortemente dependente da sua forma química. O As(III) é a espécie mais tóxica, seguido pelo As(V), onde as formas orgânicas são menos tóxicas do que as formas inorgânicas. É importante destacar que a concentração de As em águas naturais geralmente varia entre 1 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ (RAWLINS *et al.*, 1997; MANAHAN, 2000; CHOU *et al.*, 2007; BUNDSCHUH *et al.*, 2009; MARQUES, 2010).

No meio aquático o As se bioconcentra primeiramente em algas. Posteriormente, pequenos invertebrados, seguidos de peixes e seres que se alimentam de invertebrados ou algas podem acumulá-lo em seus tecidos. Os predadores podem bioacumular contaminantes tanto pela água como pelo consumo de outros organismos, o que resulta na biomagnificação do As ao longo da cadeia alimentar. Destaca-se que o As se acumula principalmente no exoesqueleto de invertebrados e fígados de peixes (CHOU *et al.*, 2007).

Recentemente, o As tem sido foco de atenção e preocupação global devido à sua elevada toxicidade para o homem devido aos seus efeitos carcinogênicos para os seres humanos, mesmo quando presente em baixas concentrações (MARQUES,

2010). Segundo MANAHAN (2000), a ingestão de cerca de 100 mg desse elemento já é suficiente para levar ao envenenamento. A exposição crônica também é problemática e pode levar ao desenvolvimento de câncer de pele, bexiga, fígado, rins, pulmões e próstata, além de doenças cardíacas e a enfermidade conhecida como doença do pé preto (MATSCHULLAT, 2000). Existem diversos registros na literatura sobre os problemas quase epidêmicos relacionados à exposição crônica de homens ao As a partir do contato humano com águas contaminadas por esse metaloide ao redor do mundo (CHATTERJEE *et al.*, 1995; DAS *et al.*, 1995; MATSCHULLAT *et al.*, 2000; NG, WANG e SHRAIM, 2003).

Apesar do As poder ser mobilizado por meio da combinação de processos naturais como o intemperismo das rochas, emissões vulcânicas e a atividade biológica, o homem também tem tido um importante papel em sua movimentação nos últimos anos por meio da mineração, queima de combustíveis fósseis, uso de pesticidas arsenicais, herbicidas, além do uso desse elemento como aditivo de alimentos para animais, particularmente para criação de aves. É importante mencionar que o impacto pelo uso de compostos de As no ambiente permanecerão por muitos anos, mesmo que localmente (SMEDLEY e KINNIBURGH, 2002).

Embora não seja um dos maiores componentes nas rochas, o As está presente em diferentes concentrações em alguns minerais. Visto que a estrutura química desse metaloide é muito próxima à do S, os maiores teores de As tendem a ocorrer em minerais sulfetados, com destaque para a pirita (FeS_2), onde o As entra na estrutura desses minerais como substituto do S. A pirita, por exemplo, se forma em zonas redutoras, onde o As solúvel pode ser incorporado. Como este mineral não é estável em ambientes aeróbios, o mesmo sofre oxidação, resultando na formação de óxidos de Fe e, posteriormente, na liberação de grandes quantidades de sulfato (SO_4^{2-}), acidez e elementos traços associados, incluindo o As (SMEDLEY e KINNIBURGH, 2002).

Altas concentrações de As também são encontradas em muitos óxidos minerais e óxidos metálicos hidratados (como a goethita, $\text{FeO}[\text{OH}]$). Os teores desse metaloide podem aparecer como parte da estrutura mineral ou como espécies adsorvidas. Destaca-se ainda que a adsorção do As(V) em óxidos metálicos hidratados é particularmente forte e que as quantias adsorvidas podem ser significativas, mesmo quando a concentração de As em solução é baixa (SMEDLEY e KINNIBURGH, 2002). A adsorção do As também pode ocorrer em óxidos de Al e Mn hidratados, em argilas

e na superfície da calcita, que é um mineral comum em muitos sedimentos. É importante mencionar que as reações de adsorção são responsáveis por concentrações baixas e não tóxicas do As encontrado em águas naturais (SMEDLEY e KINNIBURGH, 2002).

1.4. Substâncias húmicas aquáticas e a complexação com arsênio

Um fator extremamente importante que influencia o ciclo biogeoquímico do As é a MON, especialmente as SH (REDMAN, MACALADY e AHMANN, 2002), que são capazes de interferir fortemente na adsorção do As, além de afetar a sua mobilidade. (BUSCHMANN, J. *et al.*, 2006). Entretanto, os parâmetros que regem esses efeitos ainda não são bem conhecidos (REDMAN, MACALADY e AHMANN, 2002).

Em sistemas aquáticos, as SH podem influenciar o As de diversas maneiras. Elas podem, por exemplo, competir por sítios de adsorção em superfícies minerais, complexar (diretamente ou via complexos ternários) ou participar em reações de oxirredução envolvendo organismos (MLADENOV *et al.*, 2015). Alguns desses tipos de interação podem potencializar a liberação de As de rochas, solos e sedimentos para o ambiente, além de aumentar sua mobilidade (SHARMA, OFNER e KAPPLER, 2010). Destaca-se que alguns metais (particularmente o Fe) podem ter um importante papel nessa interação entre SH e As (MIKUTTA e KRETZSCHMAR, 2011).

O As pode ligar-se às SH tanto diretamente quanto por meio de pontes catiônicas (complexos ternários) (LENOBLE *et al.*, 2015). A associação direta parece não ser significativa devido a carga de ambos em pH neutro. Alguns autores até mencionam que o As(V), por exemplo, não é capaz de se ligar às SH, já que ambos são negativos em torno de pH 7 (SHARMA, OFNER e KAPPLER, 2010). Entretanto, existem estudos que revelam possíveis mecanismos de ligação direta entre o As e as SH. BUSCHMANN, J. *et al.* (2006) sugerem que essa interação direta pode ser explicada pela alta carga formal central do As(V) (que geralmente aparece como oxiânion) e estabilização por meio de fenolatos e outros grupos funcionais e/ou ligações de hidrogênio (H). Outros autores sugerem que também é possível que o As(III) se ligue as SH por meio de grupos tióis (CATROUILLET *et al.*, 2015).

Os principais fatores que podem influenciar esses processos de complexação são o estado de oxidação do As, pH do meio, concentração das espécies de As, força iônica e a presença de outros íons (THANABALASINGAM e PICKERING, 1986;

WARWICK, INAM e EVANS, 2005; LENOBLE *et al.*, 2015). A maior parte dos estudos envolvendo As geralmente foca nas espécies inorgânicas (As(III) e As(V)).

Em relação ao efeito do pH, o trabalho de LENOBLE *et al.* (2015) mostrou que a quantidade de As(III) ligada às SH não alterou significativamente nos pH testados (2, 4, 6, 8 e 10), o que indicou um mesmo mecanismo de complexação (direta). O máximo de ligação foi registrado no pH 8. A complexação entre As(III) e SH foi atribuída a competição entre íons H^+ e SH em pH mais baixos e entre a carga central positiva do As e íons OH^- em pH mais altos. BUSCHMANN, J. *et al.* (2006) encontraram resultados similares, mas a maior quantidade ligada ocorreu no pH 7,2, já que os experimentos foram feitos nos pH 4,6; 6,1; 7,2 e 8,4. WARWICK, INAM e EVANS (2005), que testaram uma faixa de pH mais ampla (3-12) já observaram que a quantidade de As(III) complexado foi mais baixa no pH 5 e foi crescendo até o máximo em pH 12, o que foi atribuído a mudanças na especiação do As(III) em torno do pH 8-9 (de espécie neutra para negativa). Do outro lado, os mecanismos de complexação para o As(V) são diferentes dos observados para o As(III), conforme observado nos experimentos. Em torno dos pH 7 e 8, a quantidade de As(V) ligada as SH atingiu o máximo, provavelmente devido a mudança para espécies mais negativas no pH 6,5 (de $H_2AsO_4^-$ para $HAsO_4^{2-}$).

A presença de outros íons em sistemas aquáticos também é um fator muito importante e pode influenciar fortemente na quantidade de As ligado às SH. Esses processos envolvem a competição pelos mesmos sítios ligantes, o aumento da densidade de sítios ligantes ou a formação de complexos ternários (CATROUILLET *et al.*, 2016). Nesse contexto, o Fe tem um importante papel na dinâmica de formação de complexos ternários. Experimentos com sacos de diálise (1 kDa) mostraram que as interações das SH com As(V) não são significantes na ausência de Fe(III) (RITTER *et al.*, 2006). Entretanto, na presença de Fe houve uma relação entre o As ligado e a concentração de Fe. Alguns trabalhos observaram que praticamente não há complexação do As por SH na presença de Fe livre. Entretanto, foram constatadas consideráveis concentrações de As(V) associadas com Fe-SH (SHARMA, OFNER e KAPPLER, 2010). O estudo de LIU, FERNANDEZ e CAI (2011), por exemplo, mostrou que na presença de Fe(III), as SH podem se ligar a consideráveis teores de As(III) tendo como resultado o complexo As(III)-Fe-SH, que pode ter um importante papel na mobilidade e biodisponibilidade de As em ambientes ricos em SH e Fe. SHARMA, OFNER e KAPPLER (2010) também mostraram a mesma tendência, quando falam

da inabilidade do As se ligar diretamente às SH e que os principais mecanismos de associação do As com a MON no ambiente são por meio de coloides ferridrita ($[\text{Fe}^{+3}]_2\text{O}_3 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$)-SH e complexos Fe(III)-SH. Esse último trabalho ainda destaca que a presença de outros cátions divalentes e trivalentes como Ca^{2+} e $\text{Mn}^{2+/4+}$ podem formar complexos ternários de As com outro metal ligado às SH.

1.5. Estudo da influência das substâncias húmicas na especiação de metais

A análise da concentração total de um dado metal no ambiente não revela seu real nível de contaminação, já que sua mobilidade e toxicidade estão relacionados com sua forma química (BUFFLE, 1991; FORSBERG *et al.*, 2006). Por isso, a fração dissolvida ($<0,45 \mu\text{m}$) de um dado elemento está mais associada a biodisponibilidade do que a fração total (GOVEIA *et al.*, 2010). Entretanto, mesmo essa fração dissolvida fornece informações incompletas sobre a biodisponibilidade/toxicidade de um elemento. A matéria orgânica dissolvida, especialmente as SH, pode formar complexos com metais, alterando sua labilidade, mobilidade e toxicidade. Desse modo, é importante estudar frações específicas de metais e metaloides e suas interações com as SH para melhor entender seu papel no ambiente (TONELLO *et al.*, 2007).

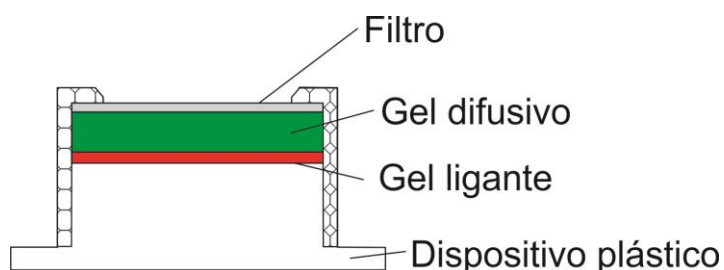
O fracionamento da amostra por meio de membranas de diferentes porosidades é uma maneira de estudar a distribuição de metais e metaloides em sistemas aquáticos. A partir desse fracionamento temos a definição operacional de frações de acordo com o tamanho. Essas frações são geralmente definidas como particulada (FPtc, $>0,45 \mu\text{m}$), dissolvida (FD, $<0,45 \mu\text{m}$), coloidal (FC, $<0,45 \mu\text{m}$ e $>1 \text{kDa}$) e livre (FL, $<1 \text{kDa}$). Embora essa última fração possa ser definida como 'livre', os elementos nessa fração aparecem complexados com pequenos ligantes orgânicos ou inorgânicos ou como íons hidratados (FORSBERG *et al.*, 2006; TONELLO *et al.*, 2007).

A ultrafiltração tangencial (UFT) é um exemplo de técnica que pode ser usada para caracterizar espécies de diferentes tamanhos ou pesos moleculares. Normalmente são usadas membranas de pequena porosidade (por exemplo, 1kDa) para distinguir as espécies livres das coloidais. Nesse tipo de sistema, as espécies livres serão determinadas no filtrado ($< 1 \text{kDa}$) e as espécies coloidais pela diferença entre as espécies dissolvidas e livres ($0,45 \mu\text{m} - 1 \text{kDa}$, considerando a definição

operacional usada neste trabalho) (WEN *et al.*, 1997; ROMÃO *et al.*, 2003). Entretanto, o método possui algumas desvantagens como o longo tempo gasto na etapa da filtração. Além disso, isso limita o uso desse método no estudo de variações temporais da composição da água (FORSBERG *et al.*, 2006).

Outra técnica utilizada no estudo de especiação de metais é a difusão em filmes finos por gradiente de concentração (*diffusive gradients in thin films*, DGT), que consiste basicamente em um amostrador passivo simples composto de um filtro de 0,45 µm, um gel difusivo e um gel ligante acomodados em um dispositivo plástico em forma de pistão (TONELLO, 2009), como mostrado na Figura 1. O DGT tem a vantagem de medições *in situ* e é utilizado para determinar espécies lábeis em águas. Outra vantagem é possibilidade de pré-concentrar metais e metaloides e permitir que sejam medidos, mesmo que estejam presentes em concentrações muito baixas (ZHANG e DAVISON, 1995; PANTHER *et al.*, 2008). A fração lábil (FLb) medida por essa técnica inclui os metais livres e espécies metálicas que dissociam durante o tempo de imersão (LIU, LEAD e ZHANG, 2013).

Figura 1 – Perfil de um dispositivo DGT



Fonte: Adaptado de TONELLO (2009)

Na prática, o DGT é imerso em um corpo d'água por um período de tempo conhecido, onde os metais e metaloides irão se acumular no gel ligante após passar pelo gel difusivo. Aqui, é importante destacar que o princípio dessa técnica é baseado na Primeira Lei de Fick (difusão em estado estacionário). O gel ligante geralmente utilizado é de poliacrilamida impregnado com resina de troca iônica Chelex-100 e é usado na determinação de muitos metais, como Al, Cd e Fe (ZHANG e DAVISON, 1995). No caso do As, o gel ligante comumente utilizado é o de ferridrita, que pode ser usado em ambientes contendo até 10 mg L⁻¹ de AH (PANTHER *et al.*, 2008).

1.6. Quadrilátero Ferrífero

O Quadrilátero Ferrífero (QF) é uma área com cerca de 7000 km² localizada no estado de Minas Gerais, na porção sudeste do Brasil. Essa região é considerada geologicamente clássica devido aos seus depósitos de Au, Fe e Mn, que vêm sendo explorados desde o século XVIII. O QF é considerado o prolongamento sul da serra do Espinhaço e possui quatro unidades litoestratigráficas principais: complexos metamórficos de granitos-gnaisses, Supergrupo Rio das Velhas (sequência de *greenstone belt*), Supergrupo Minas e Grupo Itacolomi (BORBA *et al.*, 2000; ROESER e ROESER, 2010).

O As está presente no QF principalmente nos depósitos de auríferos, onde esse metaloide ocorre tanto em minerais como a arsenopirita (FeAsS) e a loellingite (FeAs₂), quanto como impurezas em minerais sulfetados como a pirita (BORBA *et al.*, 2000). Cabe ressaltar que a região possui uma anomalia positiva para o As e que a extensão dessas anomalias tem aumentado as preocupações relativas ao impacto ambiental e, em especial, para a saúde humana. Os principais locais onde as concentrações de As são altas são os pontos próximos aos depósitos de Au de Morro Velho, Raposos, Cuiabá e São Bento localizados na região das cidades de Nova Lima, Santa Bárbara e Barão de Cocais, na área das bacias do Rio das Velhas e Conceição. Outro importante ponto é o de Passagem de Mariana próximo as cidades de Ouro Preto e Mariana, na bacia do rio do Carmo. Destaca-se que essas anomalias de As em solos e sedimentos nessa região motivaram a abertura de duas fábricas de trióxido de As em Nova Lima (que chegou a produzir cerca de 100 t de As₂O₃ por mês) e Passagem de Mariana, que já estão fechadas há algum tempo (DESCHAMPS *et al.*, 2002; PALMIERI, 2006).

Segundo DESCHAMPS *et al.* (2002), apesar da presença de minerações provavelmente não contribuirão mais significativamente com a contaminação de solos e sedimentos, existe o risco de intoxicação humana por As no QF vinculado às velhas pilhas de rejeito, a ocupação de solos poluídos e ao consumo de águas superficiais e subterrâneas contaminadas por As. O trabalho realizado por MATSCHULLAT *et al.* (2000), por exemplo, mostra que o perigo é real na região mineira próxima a Nova Lima, Santa Bárbara e Barão de Cocais, onde se constatou a presença de As no corpo de habitantes locais, especialmente em crianças entre 7 a 14 anos, onde a concentração encontrada para alguns indivíduos foi acima de 40 µg L⁻¹

na urina. Esses valores podem causar efeitos adversos à saúde desses indivíduos em longo prazo. As pesquisas ainda mostraram que os teores mais altos de As em águas superficiais, solos e em pilhas de rejeitos foram elevados na área de mineração de Nova Lima (com concentração variando entre 2,1 a 350 $\mu\text{g L}^{-1}$). Na região de Santa Bárbara as concentrações registradas foram um pouco mais baixas (variando entre 0,4 e 3,1 $\mu\text{g L}^{-1}$) quando comparadas às da região de Nova Lima. Destaca-se que o valor máximo permitido de As em água potável para consumo humano pela portaria nº2914/2011 (BRASIL, 2011) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS) é de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ (NG, WANG e SHRAIM, 2003; WHO, 2011).

1.7. Justificativa

O QF é uma área clássica da mineração que tem sido impactada pelo homem nos últimos três séculos, o que contribuiu para aumentar a concentração de íons As no ambiente e elevar a probabilidade de contaminação de populações humanas que residem na região, o que já foi constatado em trabalhos recentes (MATSCHULLAT *et al.*, 2000; ROESER e ROESER, 2010). Embora o problema do As seja bem conhecido, o papel das SHA na distribuição desse metaloide em águas superficiais nunca foi estudado no QF. Mesmo as pesquisas envolvendo a investigação da matéria orgânica é bem recente nessa área, sendo poucos os trabalhos já publicados (SILVA, 2010; CRAVEIRO, 2011; GONTIJO *et al.*, 2014). O comportamento do As em sistemas aquáticos na presença de SHA também não é totalmente compreendido e mais estudos são necessários, especialmente em regiões tropicais ricas em Fe e Al, já que esses metais têm importante papel na interação do As com as SH (BUSCHMANN, JOHANNA *et al.*, 2006; SHARMA, OFNER e KAPPLER, 2010; DE OLIVEIRA *et al.*, 2015).

1.8. Objetivos

1.8.1. Objetivos gerais

- Estudar a distribuição do As, Al e Fe nas frações total, dissolvida, coloidal, livre, lábil e inerte em águas superficiais de alguns rios do QF;

- Entender como as características de SHA de diferentes regiões (tropical e temperada) afetam a complexação do As(V) na presença e ausência de Fe(III).

1.8.2. Objetivos específicos

- Caracterizar as águas coletadas em diferentes corpos hídricos no QF;
- Estudar a distribuição do As, Al e Fe utilizando as técnicas de DGT e UFT;
- Comparar resultados de DGT e UFT;
- Extrair e caracterizar as SHA de águas coletadas no Brasil (QF, nas estações chuvosa e seca) e na Alemanha;
- Fracionar as SHA extraídas por meio de membranas de diversos tamanhos moleculares e estudar a distribuição do carbono orgânico e de As, Al e Fe originalmente presentes;
- Analisar os dados obtidos aplicando técnica multivariada e discutir a influência das características estruturais de SHA formadas em diferentes estações do ano e em diferentes zonas climáticas (tropical e temperada) na complexação do As e suas implicações na mobilidade e biodisponibilidade desse elemento.

Capítulo 2 – Aplicação das técnicas de difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT) e ultrafiltração com fluxo tangencial (UFT) no estudo da biodisponibilidade e distribuição de arsênio em águas superficiais do Quadrilátero Ferrífero (Brasil)

2.1. Introdução

Os elementos químicos aparecem em sistemas aquáticos em diferentes formas químicas, que possuem diferentes comportamentos (FORSEBERG *et al.*, 2006; TONELLO *et al.*, 2007). Dentre essas diferentes formas químicas, metais e metalóides podem estar adsorvidos em partículas em suspensão, complexados, adsorvidos ou assimilados por organismos vivos ou ainda como íons livres (hidratados) (BUFFLE, 1991; LIU, LEAD e ZHANG, 2013).

Apesar da problemática do As ser bem conhecida, o seu comportamento na presença da MOD coloidal não é totalmente compreendido. Além disso, o estudo da sua distribuição em águas do QF ainda não foi muito explorado, já que somente a determinação de espécies totais e dissolvidas não é suficiente para avaliar a sua potencial biodisponibilidade e efeitos na toxicidade.

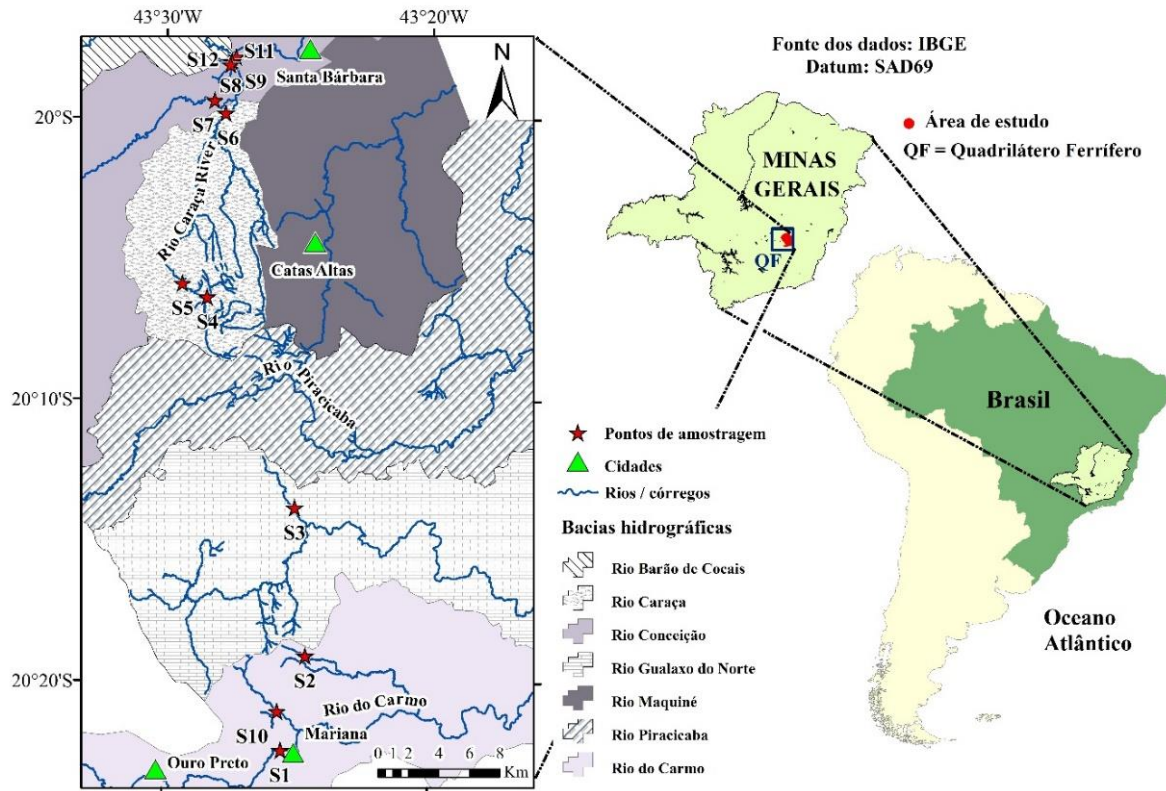
Dessa forma, o objetivo dessa parte do trabalho foi estudar a distribuição do As, Al e Fe nas frações total, dissolvida, coloidal, livre, lábil e inerte em alguns rios do QF e identificar prováveis associações (complexação) entre a MOD e As utilizando DGT e UFT. Análise multivariada por meio da rede neural de Kohonen (conhecida como mapa auto organizável – *self-organising map*, SOM) foi usada para investigar essas associações e possíveis relações entre outras variáveis. Além disso, resultados da fração livre da UFT foram comparados com a fração lábil medida pelo DGT.

2.2. Materiais e métodos

2.2.1. Amostragem e análises físico-químicas

Amostras de água foram coletadas em 12 pontos (Figura 2) no leste do QF, na região do alto rio Doce. Foram coletadas amostras em fevereiro de 2014 (período chuvoso) e em outubro de 2014 (período seco). Os pontos foram selecionados considerando a acessibilidade, provável presença de As e SH (águas de coloração marrom, ver Figura 3). Os pontos localizados na região próximos do rio do Carmo e do rio Conceição foram importantes porque estão localizados perto das principais minas de ouro da região (onde geralmente são encontrados minerais que contêm As), como descrito por BORBA, FIGUEIREDO e MATSCHULLAT (2003).

Figura 2 – Mapa mostrando os pontos de coleta (S) na bacia do Alto do Rio Doce no Quadrilátero Ferrífero (QF), Minas Gerais, Brasil.



Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

Figura 3 – Foto à esquerda (A) mostra a Cascatinha (ponto S4) e a foto à direita (B) dá destaque a coloração escura das suas águas



Fonte: autoria própria

Em cada ponto foram coletadas amostras de água em 2 frascos plásticos previamente limpos de aproximadamente 1 L. Em um dos frascos as amostras foram acidificadas com HNO_3 até $\text{pH} < 2$ para análise dos elementos na fração total (FT). As amostras do outro frasco foram levadas para laboratório para os procedimentos de filtração e ultrafiltração e análise da alcalinidade total (ALK), cloreto (Cl^-) e sulfato (SO_4^{2-}) usando métodos potenciométrico, argentométrico e turbidimétrico, respectivamente (GREENBERG, CLERESCI e EATON, 2005). Todas as amostras foram mantidas em refrigerador até análise.

Para caracterização físico-química das amostras coletadas, os parâmetros condutividade (CON), oxigênio dissolvido (OD), pH, potencial de oxirredução (ORP), sólidos totais dissolvidos (STD), temperatura (TEMP) e turbidez (TU) foram medidos *in situ* usando sondas Ultrameter (Myron L Company) e Hanna HI9829 (para OD) (ver Figura 4). Esses parâmetros foram analisados especialmente porque podem afetar a distribuição de metais e metaloides em águas naturais.

Figura 4 – Medição de parâmetros físico-químicos *in situ* na região do QF



Fonte: autoria própria

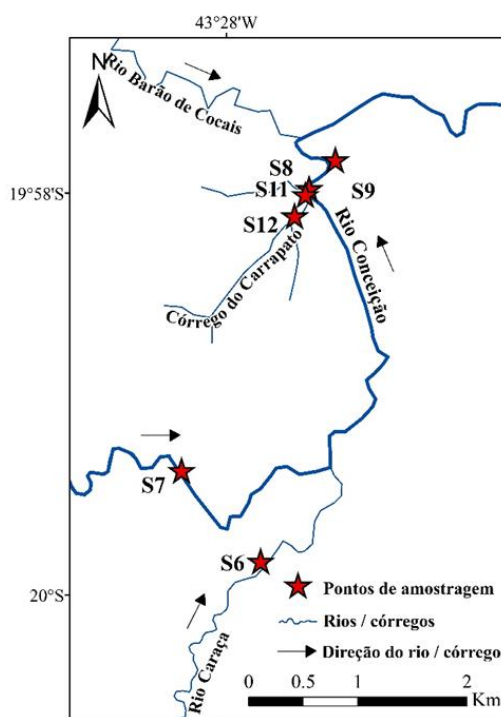
Para determinação do COT e COD (após filtração em membrana de $0,45 \mu\text{m}$), as amostras foram armazenadas em frascos de vidro âmbar (60 mL) previamente limpos e acidificadas com H_3PO_4 concentrado, seguindo recomendação de GREENBERG, CLERESCI e EATON (2005). O COT e o COD foram determinados em um analisador de COT Analytik Jena multi N/C 3100.

2.2.2. Difusão em filmes finos por gradiente de concentração

A técnica de DGT foi usada com o objetivo de determinar as espécies lábeis e inertes em algumas amostras *in situ* e, desse modo, ajudar a entender o comportamento da MON na mobilidade e biodisponibilidade do As em sistemas naturais. Assim, 5 dos 12 pontos de amostragem foram selecionados para imersão de dispositivos de DGT. O ponto S1 (rio do Carmo) foi escolhido por possuir concentrações mais altas de As, valor conhecido após análises preliminares. O ponto S4 (córrego Cascata / Cascatinha) foi escolhido por possuir maior teor de SHA (águas com coloração marrom). O córrego Cascata deságua no rio Caraça, que tem sua foz no rio Conceição. Como já existe um histórico de pesquisas relacionadas ao As no rio Conceição/Santa Bárbara (MATSCHULLAT *et al.*, 2000), os pontos S6 (rio Caraça) e os pontos S7 e S9 (rio Conceição/Santa Bárbara) foram selecionados para tentar entender a dinâmica do As com a entrada de material orgânico proveniente do rio Caraça (ponto S6) e Cascatinha (ponto S4). O ponto S7 é localizado a montante do encontro com o rio Caraça (sem *input* de COD) e o ponto S8 é localizado a jusante do encontro com o rio Caraça (com *input* de COD). A Figura 5 contextualiza melhor onde foram escolhidos esses pontos para imersão de DGT.

Todos os DGT foram montados usando dispositivos tipo pistão adquiridos da DGT *research* (Lancaster, UK). Uma membrana de 0,45 μm , gel difusivo e gel ligante compunham cada unidade. A área de exposição de cada unidade era 3,14 cm^2 . O gel ligante utilizado foi o chelex 100 com o objetivo de medir os metais lábeis Al, Fe e Zn. A espessura de gel difusivo (hidrogel de poliacrilamida) foi de 0,88 mm e a espessura da membrana filtrante de nitrato de celulose (0,45 μm) era de 0,13 mm. Gel de ferridrita foi usado como gel ligante com o objetivo de medir os elementos lábeis As e P. Todos os coeficientes de difusão usados nos cálculos (25 °C) são exibidos na Tabela 1. Antes dos cálculos esses coeficientes foram corrigidos usando a temperatura média medida no momento em que os DGT foram colocados e retirados. A Figura 6 mostra o processo de montagem dos DGT e os mesmos após retirada da água.

Figura 5 – Mapa mostrando alguns pontos escolhidos na área dos rios Caraça e Conceição para imersão de DGT



Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

Legenda: As setas indicam direção do fluxo dos córregos e rios; os pontos onde os DGT foram imersos foram S6, S7 e S9

Tabela 1 – Coeficientes de difusão de alguns metais e metaloides

Elemento	Coeficiente de difusão (D) ($10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) / 25 °C	Fator de eluição (%)	Fonte
Al	4,75	80	DGT Research (2014)
As*	5,43	100	PANTHER <i>et al.</i> (2008)
Fe	6,11	80	DGT Research (2014)
P	6,05	100	ZHANG <i>et al.</i> (1998); PANTHER <i>et al.</i> (2011)
Zn	6,08	80	DGT Research (2014)

Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

*Média de D para As(III) e As(V)

Figura 6 – Montagem e imersão de DGT em um ponto de amostragem



Fonte: autoria própria

Legenda: (A) Montagem dos DGT (ferridrita); (B) DGT após período de tempo imerso nas águas

A concentração (c_e) de todos os elementos foram medidas depois da eluição do gel ligante. Os géis Chelex 100 foram eluídos com 2 mL de HNO_3 (1 mol L^{-1}). Os géis de ferridrita foram eluídos com 2 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado e diluídos depois de 24 horas de agitação. Assim, a massa acumulada de analito (M) foi calculada usando a equação (1), onde E_f é o fator de eluição, V_e é o volume de eluente e V_g é o volume de gel ligante.

$$M = C_e(V_e - V_g)/E_f \quad (1)$$

Depois de determinar M, a concentração do analito (C_a) nas águas dos córregos e rios foi calculada pela equação (2) usando a espessura do gel difusivo e do filtro de nitrato de celulose (Δg), a área do gel difusivo (A), o tempo de imersão (t) e o coeficiente de difusão do analito no gel difusivo (D). Todos os tempos de imersão são exibidos na Tabela 2.

$$C_a = M\Delta g/DtA \quad (2)$$

Tabela 2 –Tempos de imersão dos DGT (amostras das estações seca e chuvosa)

Amostra	Tempo (s)
S1D	341940
S4D	327660
S6D	272400
S7D	273000
S9D	272100
S1R	779880
S4R	770400
S6R	701100
S7R	699660
S9R	696900

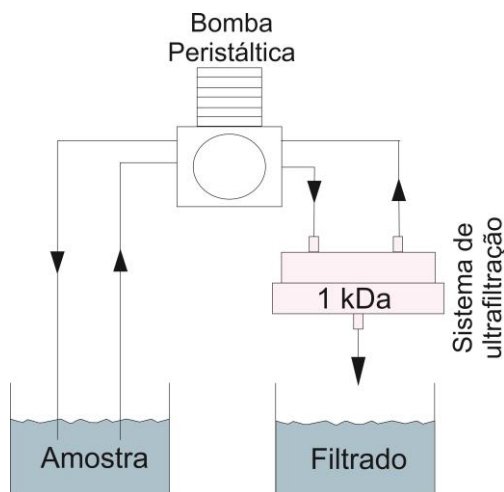
Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

2.2.3. Ultrafiltração e determinação das frações dissolvida e livre

Amostras para as análises das FD e FL foram inicialmente filtradas membranas de nitrato de celulose (0,45 μm). Cerca de 300 a 450 mL do filtrado foi reservado para análise da FD. Cerca de 150 mL da amostra pré-filtrada foi ultrafiltrada utilizando um sistema de UFT de teflon. O experimento de UFT está representado na Figura 7 e uma foto do sistema de teflon é mostrada na Figura 8. A ultrafiltração foi feita utilizando membranas de celulose regenerada de 1 kDa (Millipore). Antes da ultrafiltração, o sistema foi limpo com solução de NaOH (0,1 mol L⁻¹) e HCl (<0,01 mol L⁻¹). Depois de cada passo o sistema de UFT foi enxaguado abundantemente com água ultrapura (18,2 M Ω .cm). As membranas foram reutilizadas depois de limpas e eram armazenadas em geladeira em solução de etanol 10%. Um resumo da definição de todas as frações dos elementos analisados é exibido na Tabela 3.

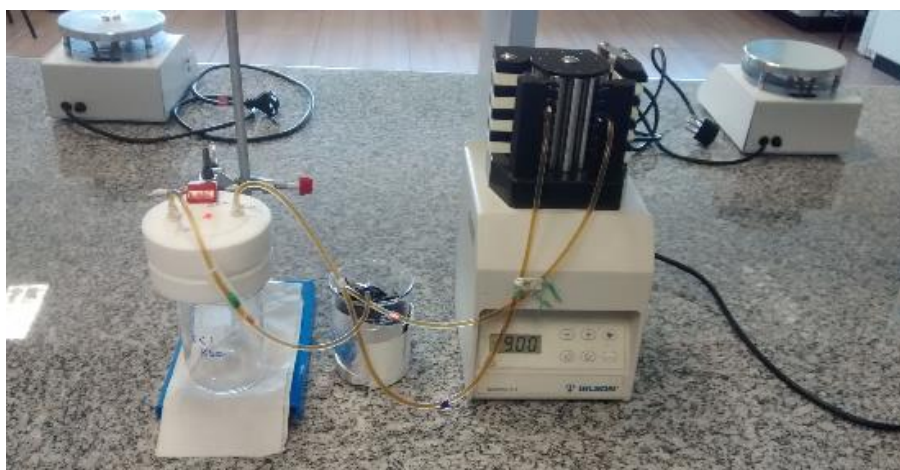
As digestões ácidas das FT e da FD foram feitas com base em método 3005A da US *Environmental Protection Agency* (USEPA, 1992). Os ácidos (HCl e HNO₃) utilizados foram previamente purificados usando um sistema *sub-boiling*. Além disso, as amostras foram pré-concentradas no processo de digestão das amostras. O fator de concentração (Fc) de 6 foi usado nas amostras das frações FT e FD. Todas as análises foram feitas em duplicata ou triplicata. As amostras da FL foram acidificadas com HNO₃ (até 2%) e pré-concentradas (Fc=4).

Figura 7 – Esquema da ultrafiltração das amostras com membranas de 1 kDa



Fonte: autoria própria

Figura 8 – Sistema de ultrafiltração tangencial utilizado nos experimentos



Fonte: autoria própria

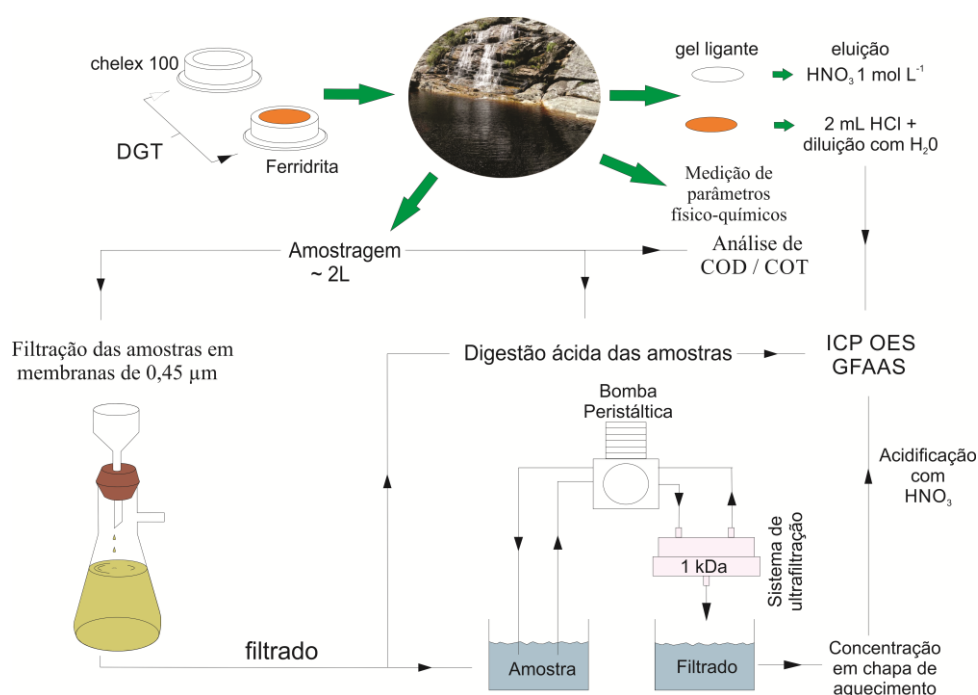
Tabela 3 – Definição operacional das frações estudadas

Fração	Método	Características
Total (FT)	Água bruta (digerida com HCl e HNO ₃)	Água não filtrada; inclui as frações partícula e dissolvida
Particulada (FPtc)	Calculada FT - FD	Fração > 0,45 µm
Dissolvida (FD)	Filtração	Fração < 0,45 µm
Coloidal (FC)	Calculada: FD - FL	Fração < 0,45 µm e >1 kDa
Livre (FL)	Ultrafiltração	Fração <1 kDa
Lábil (FLb)	DGT	Fração < 0,45 µm eluída do gel ligante do DGT. O DGT é capaz de medir os metais/metaloídes livres (FL) e os complexos lábeis (TONELLO <i>et al.</i> , 2007)
Inerte (FLn)	Calculada: FD - FLb	Fração dissolvida e não lábil

Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

Todos os metais analisados e P foram determinados a partir de amostras mineralizadas (digeridas) e pré-concentradas usando um espectrômetro de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). O As foi determinado em um espectrômetro de absorção atômica com sistema de atomização por forno de grafite (GFAAS) VARIAN AA240Z. A Figura 9 mostra os principais pontos da metodologia.

Figura 9 – Resumo dos principais pontos da metodologia



Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

Para as análises de As na presença de COD pelo GFAAS foi necessário a realização de testes de otimização do forno de grafite, que são detalhados na seção 2.2.4. Os limites de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) de todos os elementos analisados (para ICP-OES) são exibidos na Tabela 4. O LD e o LQ para o As total medidos no GFAAS foram respectivamente 1,43 e 4,76 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os mesmos limites do As para FT foram usados para a FD e a FL.

Tabela 4 – Limites de detecção e quantificação para as frações total, dissolvida e livre de alguns metais e metalóides analisados no ICP-OES (expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$)

Frações		Al	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	P	Sr	Zn
FT	LD	38,3	167,8	1,0	40,8	80,5	41,3	0,4	37,0	0,9	13,1
	LQ	127,8	559,3	3,5	135,9	268,5	137,7	1,4	123,2	3,0	43,5
FD	LD	32,5	85,9	1,6	19,4	10,2	3,5	0,4	23,3	2,6	2,5
	LQ	108,2	286,5	5,3	64,8	34,1	11,7	1,2	77,6	8,5	8,2
FL	LD	4,5	69,0	2,0	31,6	7,8	0,6	0,1	21,1	2,7	2,4
	LQ	15,1	230,1	6,6	105,3	26,0	2,0	0,5	70,6	8,8	7,8

Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

2.2.4. Avaliação do comportamento eletrotérmico do As no forno de grafite

O objetivo deste estudo foi estabelecer as melhores temperaturas nas etapas de pirólise e atomização para determinação do As no forno de grafite. A avaliação do comportamento eletrotérmico do As utilizando um GFAAS (VARIAN AA240Z) foi baseada no trabalho de DE OLIVEIRA *et al.* (2011). Os experimentos foram feitos com uma solução de As de concentração $50 \mu\text{g L}^{-1}$ na ausência e presença de modificador de paládio ($\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$). Também foram feitos testes tanto na presença de 50 mg L^{-1} de SHA (em termos de COD), quanto na sua ausência utilizando as melhores condições encontradas nos primeiros testes feitos na ausência de matéria orgânica. O objetivo foi verificar se há influência da presença de SHA nas temperaturas de pirólise e atomização escolhidas.

Em todos os testes, a temperatura da etapa de atomização foi inicialmente fixada em 2600°C e variou-se a temperatura da etapa de pirólise entre 300°C e 1800°C . Com a curva temperatura vs. absorvância montada, escolheu-se a temperatura que teve a melhor resposta na determinação de As (maior absorvância). Com essa melhor temperatura na fase de pirólise fixada, iniciaram-se os testes variando a temperatura de 1900°C a 2800°C na etapa de atomização, onde também foi escolhida a temperatura com melhor resposta na determinação do As. Ressalta-se que a temperatura da etapa de limpeza foi sempre 100°C maior que a temperatura da fase de atomização em todos os experimentos.

2.2.5. Análise multivariada por meio da rede neural de Kohonen

Os dados foram analisados usando os SOM. O *software* MatLab 2015b (MathWorks, Natick, MA) e o SOM toolbox (domínio público) foram usados para análise exploratória dos dados.

Primeiramente, a SOM foi utilizada para investigar a distribuição do As nos 12 pontos estudados incluindo os resultados de UFT e parâmetros físico-químicos. Algumas frações de outros elementos como Al, Ca, K, Fe, Mn, Sr e Zn foram incluídas por poderem influenciar na distribuição do As. Uma segunda investigação usando SOM foi feita somente nos pontos onde os DGT foram imersos, com todas as frações obtidas por filtração e ultrafiltração tangencial e a fração lábil.

Antes de processar os resultados, os dados foram autoescalados ao longo de todas as variáveis com o objetivo de normalizar a variância das amostras e redefinir as médias como zero. Esse passo é importante porque os SOM usam a métrica Euclidiana para calcular a distância entre os vetores. Assim, se uma variável tem valores mais altos que outras, ela vai dominar a organização do mapa (por causa do impacto das medidas na distância entre os vetores). Portanto é desejável que todas as variáveis tenham o mesmo nível de importância o que torna esse passo obrigatório (DA SILVA, AUGUSTO e POPPI, 2008).

A estrutura de cada unidade (neurônio) no SOM foi hexagonal e a forma dos mapas foi planar. Algumas arquiteturas (pelos menos 5 no intervalo de 2 x 2 a 9 x 9) foram testadas. Em seguida, a arquitetura com a melhor distribuição (mais informativa) foi escolhida. Esta escolha está relacionada a discriminação das amostras. Amostras em um mesmo neurônio são consideradas similares de acordo com as variáveis e as amostras analisadas. Amostras em neurônios próximos ou vizinhos também são consideradas similares. Conseqüentemente, todas as amostras permanecem juntas em mapas com poucas unidades e ficaram muito separadas em amostras com muitos neurônios em mapas com muitas unidades. Por isso é importante encontrar a melhor distribuição (KOWALSKI *et al.*, 2013).

Na possibilidade de que alguns elementos (Al, As, Fe e P) estivessem em concentrações abaixo do limite de quantificação (LQ), mas acima do limite de detecção (LD) em algumas frações, O SOM foi também usado para verificar se os dados entre o LD e o LQ poderiam ser usados na análise multivariada (se tinham mesma tendência/comportamento). Mais dados quantitativos estariam disponíveis com o uso dos dados acima do LD, caso muitos dados estivessem abaixo do LQ e os testes indicasse o mesmo comportamento em ambos os tratamentos. Os testes foram feitos com os resultados das amostras de ultrafiltração e dos experimentos com DGT (com as frações de UFT incluídas).

2.3. Resultados e discussão

2.3.1. Análises físico-químicas, ânions, carbono e fósforo

O pH medido foi próximo da neutralidade na maioria dos pontos pesquisados. As amostras mais ácidas foram a S2, S4 e S5, especialmente durante a estação chuvosa (ver Tabela 5). As águas mais alcalinas foram observadas nos pontos S1 e S12. Destaca-se que no ponto S1 também foram registrados maiores teores de SO_4^{2-} , Cl^- e P total, o que é indicativo do lançamento de efluente doméstico no rio. O ORP mais alto foi registrado no ponto S4 (águas mais oxidantes), diferente dos pontos S2 e S12, onde foram medidos os menores valores de ORP (águas mais redutoras). Os resultados físico-químicos, ânions e P ainda serão discutidos junto com a análise multivariada.

Tabela 5 – Resultados dos parâmetros físico-químicos, ânions e fósforo

Amostra	TEMP (°C)	pH	ORP (mV)	COND (μs)	OD (mg L^{-1})	ALK mg $\text{CaCO}_3 \text{L}^{-1}$	SO_4^{2-} (mg L^{-1})	Cl^- (mg L^{-1})	P total ($\mu\text{g} \text{L}^{-1}$)
S1R	21,3	6,9	142	166	7,1	50,0	17,3	4,93	131
S2R	20,7	5,1	210	7	6,4	2,3	<1,0	<0,15	<LD
S3R	24,5	6,3	205	7	7,9	4,0	<1,0	0,33	<LD
S4R	21,8	4,9	265	8	7,5	2,0	<1,0	<LD	9,0
S5R	20,0	5,6	198	7	7,7	2,3	<1,0	<0,15	7,9
S6R	22,6	6,4	164	18	7,3	10,0	<1,0	0,33	10,8
S7R	23,6	7,1	161	126	7,2	17,5	24,2	0,33	12,3
S8R	24,6	6,8	203	103	8,0	17,5	18,0	0,66	7,0
S9R	24,9	7,0	185	109	8,5	14,5	15,5	0,66	11,5
S10R	29,9	6,9	181	65	7,7	20,0	1,1	<0,15	14,4
S11R	23,9	6,8	134	193	6,1	ND	ND	ND	<LD
S12R	23,0	7,1	192	163	ND	50,5	32,6	ND	<LD
S1D	20,8	7,2	196	292	6,3	48,7	40,6	9,38	263
S2D	22,4	5,9	81	31	6,9	21,5	1,2	0,99	108
S3D	21,1	6,6	164	7	7,5	1,7	<1,0	<0,15	<LD
S4D	20,6	6,4	197	6	5,8	0,7	<1,0	<0,15	9,8
S5D	18,6	5,7	225	85	6,4	1,4	<1,0	1,97	7,3
S6D	21,0	6,6	186	24	5,9	8,4	<1,0	<0,15	51,8
S7D	21,0	7,0	206	117	6,4	12,5	34,5	<0,15	9,5
S8D	21,2	7,4	181	113	5,8	12,9	28,8	<0,15	86,4
S9D	21,3	7,1	163	112	6,6	12,1	30,4	<0,15	10,4
S10D	23,7	7,3	126	49	7,0	16,3	1,9	<0,15	29,4
S11D	19,9	7,2	91	168	3,9	24,0	9,5	3,45	120
S12D	20,2	7,7	80	146	6,7	50,8	12,6	0,99	10,6

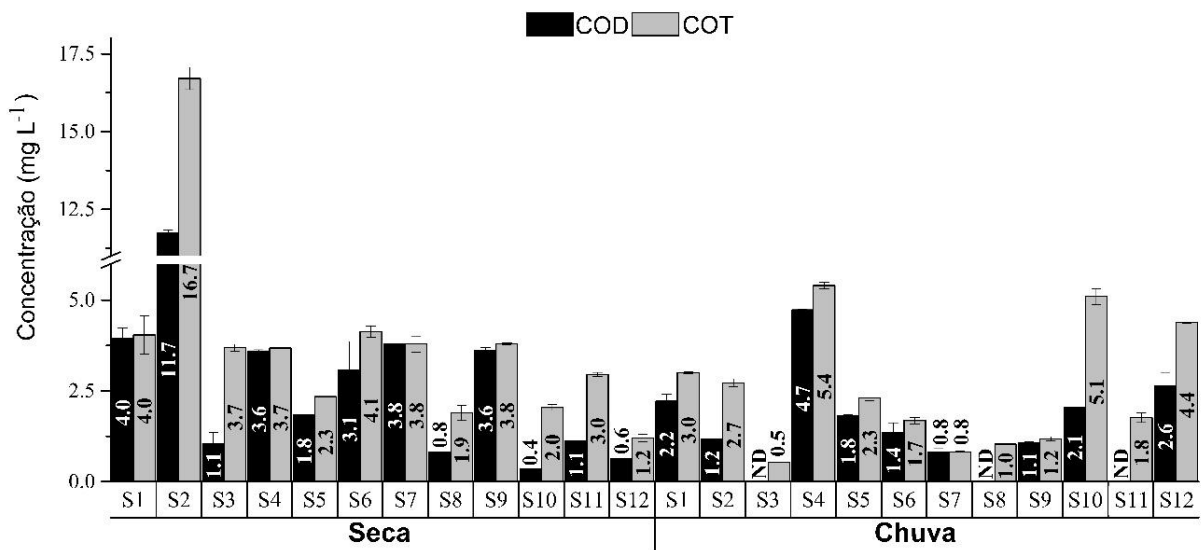
Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

Legenda: Os sufixos R e D no final do número da amostra indica se a amostra foi coletada na estação chuvosa (R- fevereiro/2014) e seca (D-outubro/2014), respectivamente; ND: não determinado

O carbono orgânico total e dissolvido nas amostras ficou, em geral, abaixo de 6 mg L^{-1} (ver Figura 10), exceto para o ponto S2 (estação seca). Na estação chuvosa, o ponto S4 teve a maior concentração de carbono (COT e COD). Os pH mais baixos

em conjunto com a cor marrom das águas desse ponto é indicativo da presença de maiores teores de SHA. A maior parte do COT está dissolvido para a maioria das amostras (COT é aproximadamente igual ao COD) e é, portanto, mais móvel e potencialmente biodisponível. Entretanto, alguns pontos tiveram uma porcentagem maior de COT na fração particulada (pontos S2, S3, S10, S11 e S12 em ambas estações).

Figura 10 – Resultados de carbono orgânico total e dissolvido para as águas coletadas nas estações seca e chuvosa



Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

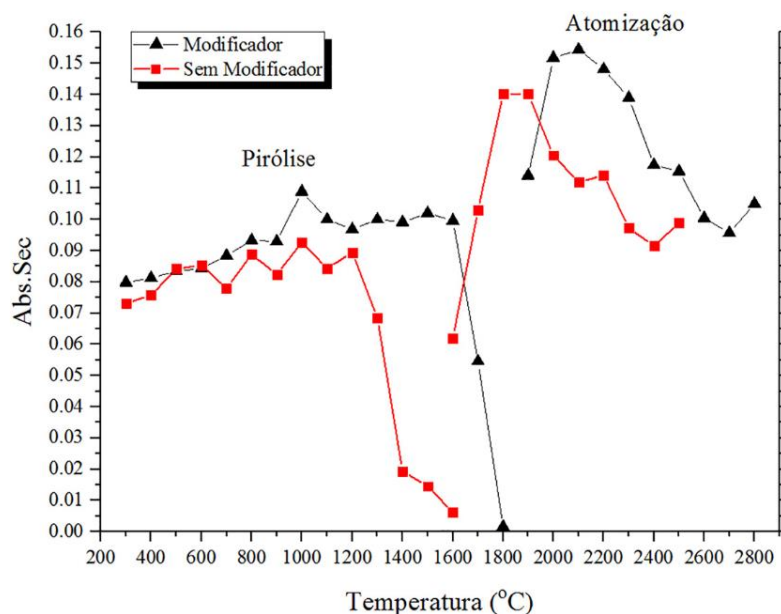
Legenda: ND= não determinado

2.3.2. Avaliação do comportamento eletrotérmico do As no forno de grafite

As curvas para as etapas de pirólise e atomização no forno de grafite são mostradas na Figura 11. A avaliação foi feita na presença e ausência de modificador (Pd). É possível observar que a resposta do equipamento na curva de pirólise cai consideravelmente após 1600°C na presença de modificador e a partir de 1200°C na ausência de modificador. Para a etapa de atomização, a resposta diminui em temperaturas inferiores à 2000°C na presença de modificador e 1800°C na ausência de modificador. Observa-se que o sinal foi mais estável e maior na presença de modificador, onde pôde-se atingir temperaturas mais altas nas etapas de pirólise e atomização. Desse modo optou-se por fazer as análises de As na presença de

modificador de Pd. Já as temperaturas que tiveram melhor resposta para determinação do As nas etapas de pirólise e atomização foram, respectivamente, 1000°C e 2100°C. Esses valores foram usados ao longo das determinações de As neste trabalho.

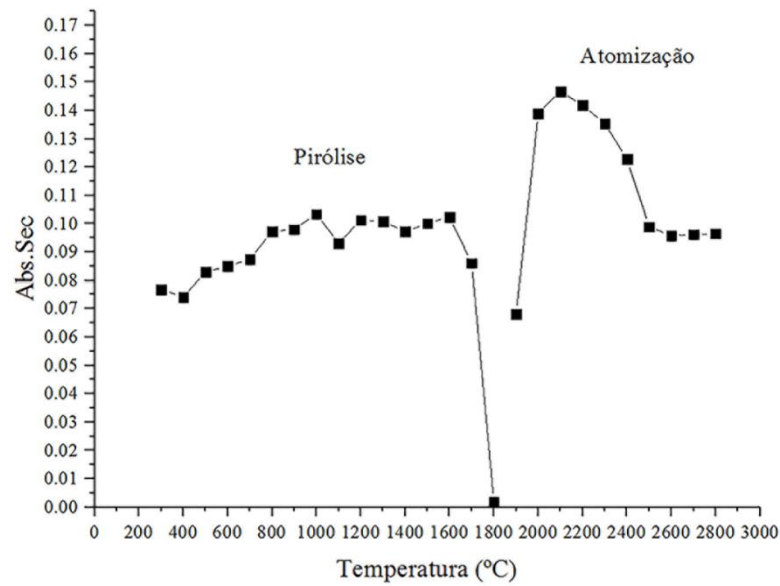
Figura 11 – Curvas de atomização e pirólise para solução de As de 50 µg L⁻¹



Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

Os testes na presença de SHA (50 mg L⁻¹ em termo de COD) somente foram feitos na presença de modificador de Pd. Os resultados dos testes são exibidos na Figura 12, onde foi observado que as melhores temperaturas de pirólise e atomização foram 1000°C e 2100°C, respectivamente. Assim, tanto nas leituras feitas no forno de grafite na presença de SHA quanto na ausência desta foram utilizadas as mesmas temperaturas nas etapas de pirólise e atomização.

Figura 12 – Curvas de atomização e pirólise para solução de As de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ e na presença de 50 mg L^{-1} de SHA (expressa em COD)

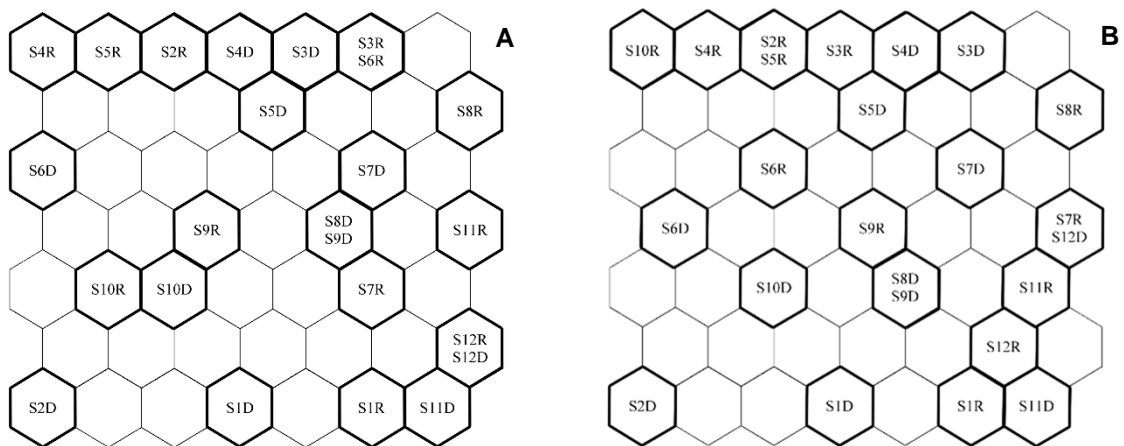


Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

2.3.3. Comparação dos dados acima do limite de detecção e quantificação utilizado análise multivariada

Os mapas de Kohonen comparando os dados considerando o LD e o LQ são mostrados na Figura 13 (ultrafiltração) e Figura 14 (ultrafiltração + DGT)

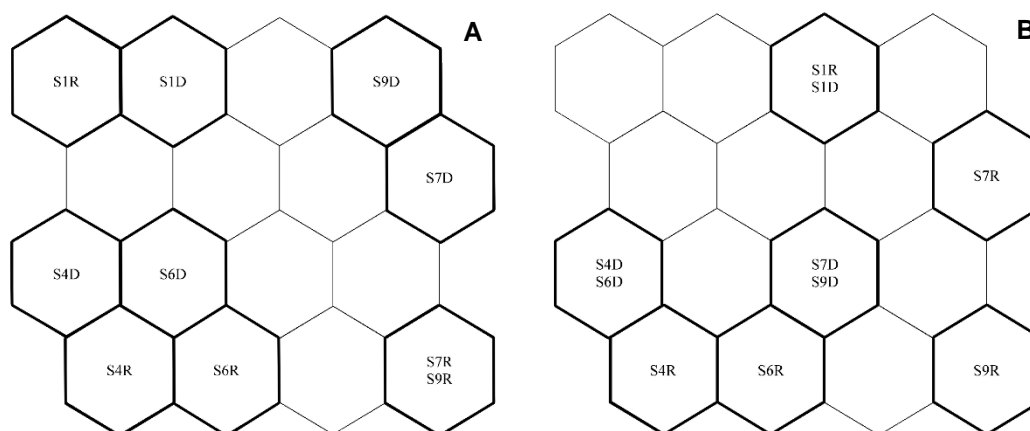
Figura 13 – Mapas de Kohonen das amostras ultrafiltradas: comparação dos dados acima do LD e acima do LQ



Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

Legenda: Amostras nos neurônios foram destacadas. Amostras coletadas na época chuvosa possuem o sufixo -R e coletadas na estação seca possuem o sufixo -D. O mapa da esquerda (A) mostra os resultados com uso de valores acima do LD; o mapa da direita (B) usa valores acima do LQ.

Figura 14 – Mapas de Kohonen das amostras ultrafiltradas e DGT: comparação dos dados acima do LD e acima do LQ



Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

Legenda: Amostras nos neurônios foram destacadas. Amostras coletadas na época chuvosa possuem o sufixo -R e coletadas na estação seca possuem o sufixo -D. O mapa da esquerda (A) mostra os resultados com uso de valores acima do LD; o mapa da direita (B) usa valores acima do LQ.

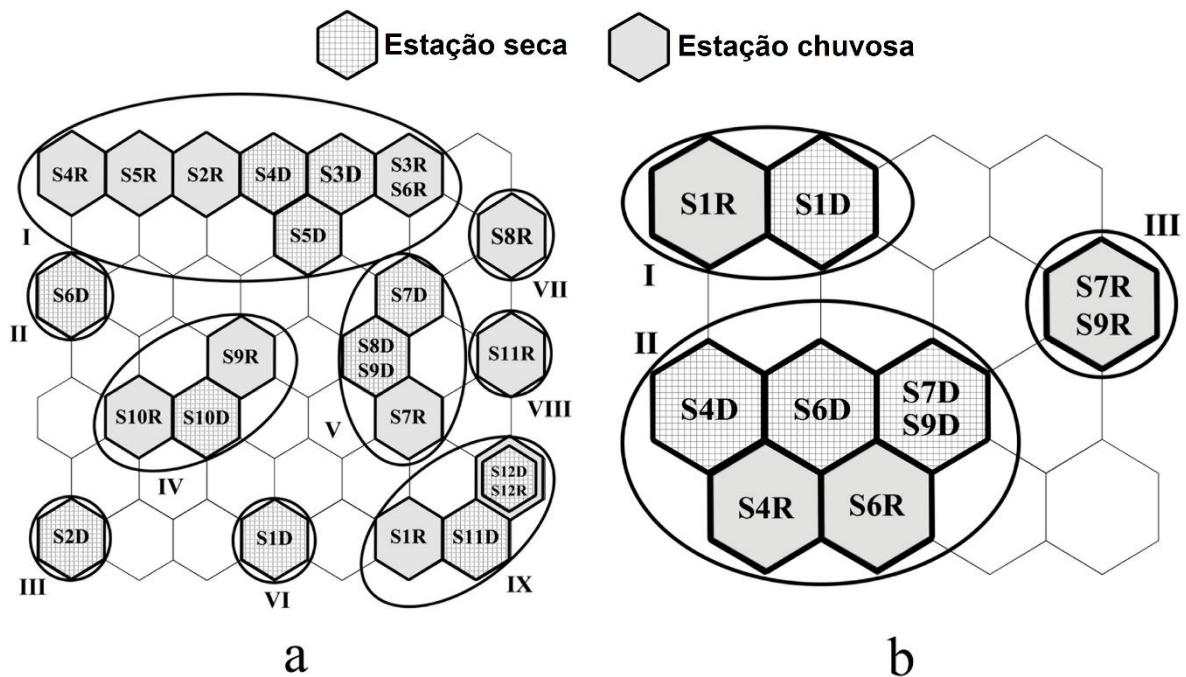
Observando os grupos de dados das duas figuras (UFT e UFT+DGT) pôde-se observar que a distribuição das amostras para o tratamento com o LD e o LQ foi similar. A amostra S2D, por exemplo, foi menos similar que as outras amostras em ambos os mapas da Figura 13, o que configura uma das similaridades na distribuição. Pequenas diferenças também podem ser observadas entre ambos os tratamentos, como para as amostras S1R e S1D, que são muito similares (mesmo neurônio) somente se os valores acima do LQ são usados no conjunto de dados UFT+DGT (ver Figura 14B). Uma maior diferença foi detectada para as amostras S10D e S10R na Figura 13, já que foram muito similares considerando o LD (mesmo grupo), mas não foram consideradas similares se o LQ foi considerado (grupos diferentes). Entretanto, pode-se dizer que as amostras coletadas na estação seca e chuvosa são similares em ambos os mapas.

De forma geral, o conjunto de dados com valores acima do LD foi escolhido para análise multivariada porque possui maior quantidade de dados quantitativos, além da possibilidade de inclusão de novas variáveis (P) no conjunto de dados considerando UFT+DGT. De forma geral ambos tratamentos seguiram as mesmas tendências.

2.3.4. Análise multivariada dos dados

As arquiteturas dos SOM que tiveram melhor distribuição das amostras foram 7×7 e 4×4 para os dados de UFT (Figura 15a), e UFT+DGT (Figura 15b), respectivamente. Os grupos de amostras similares foram circulado e numerados. Os neurônios com as amostras nas estações seca e chuvosa também foram destacados para verificar influência da sazonalidade.

Figura 15 – Rede neural de Kohonen: mapas das amostras



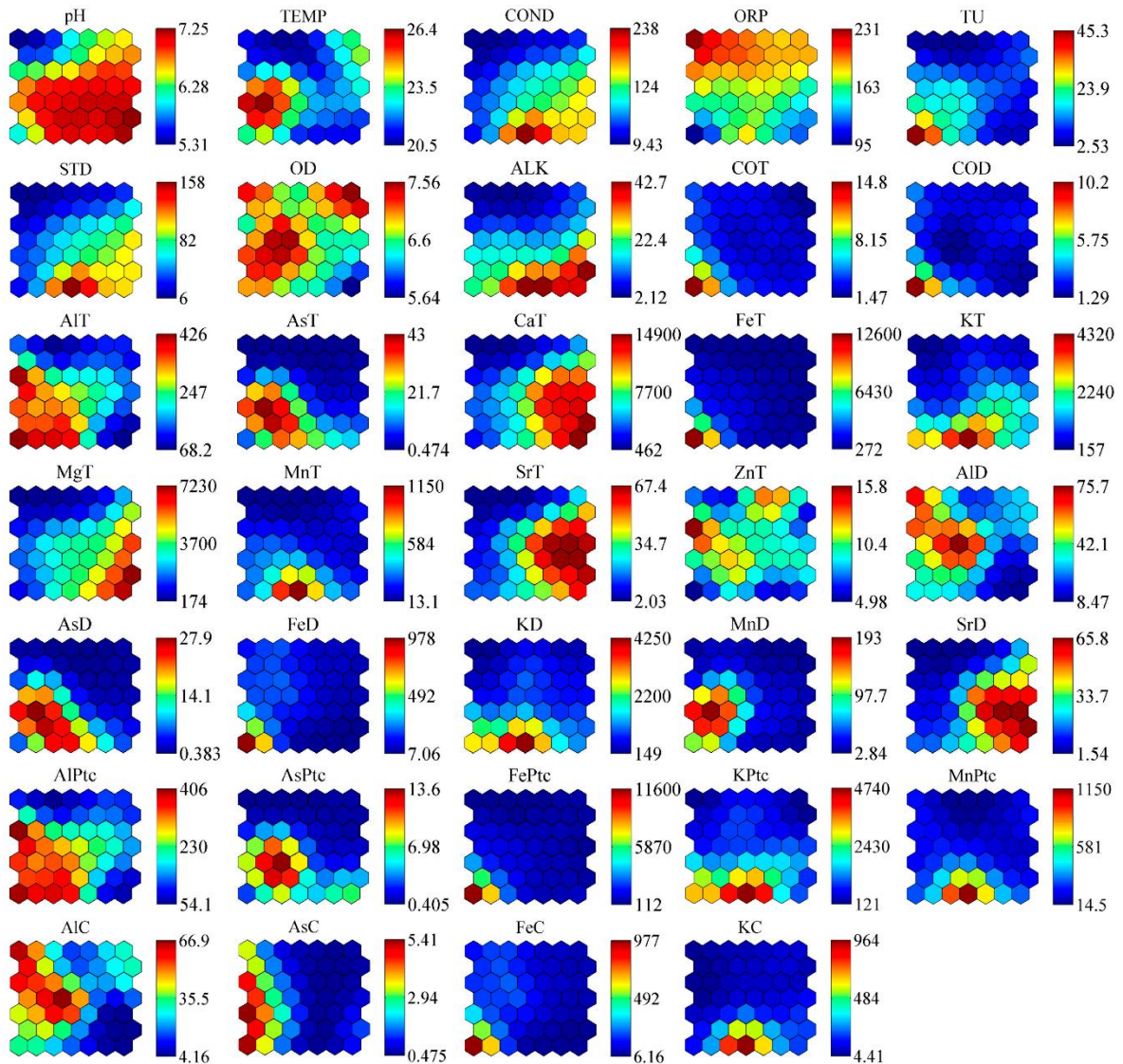
Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

Legenda: a – mapa das amostras ultrafiltradas; b – mapa das amostras ultrafiltradas com as análises de DGT (incluindo P). Amostras no mesmo neurônio ou em neurônios próximos foram consideradas similares e foram circulado e separadas em grupos. Amostras coletadas na época chuvosa possuem o sufixo -R e coletadas na estação seca possuem o sufixo -D.

Os mapas das variáveis estudadas são exibidos na Figura 16 (experimentos de UFT) e Figura 17 (experimentos UFT+DGT) e ajudam identificar as variáveis mais importantes para cada amostra e as relações entre elas. A partir da análise da Figura 15a, as amostras puderam ser separadas em 9 grupos distintos. A investigação das variáveis responsáveis pela posição de cada amostra ou grupo foi feita comparando as amostras/grupos desse mapa com as suas posições correspondentes nos mapas

das variáveis (Figura 16). A partir da Figura 15b as amostras foram separadas em 3 grupos distintos. Assim como feito para o mapa da Figura 15a, as análises dos mapas foram feitas comparando as amostras nesse mapa com a posição correspondente no mapa das variáveis (Figura 17).

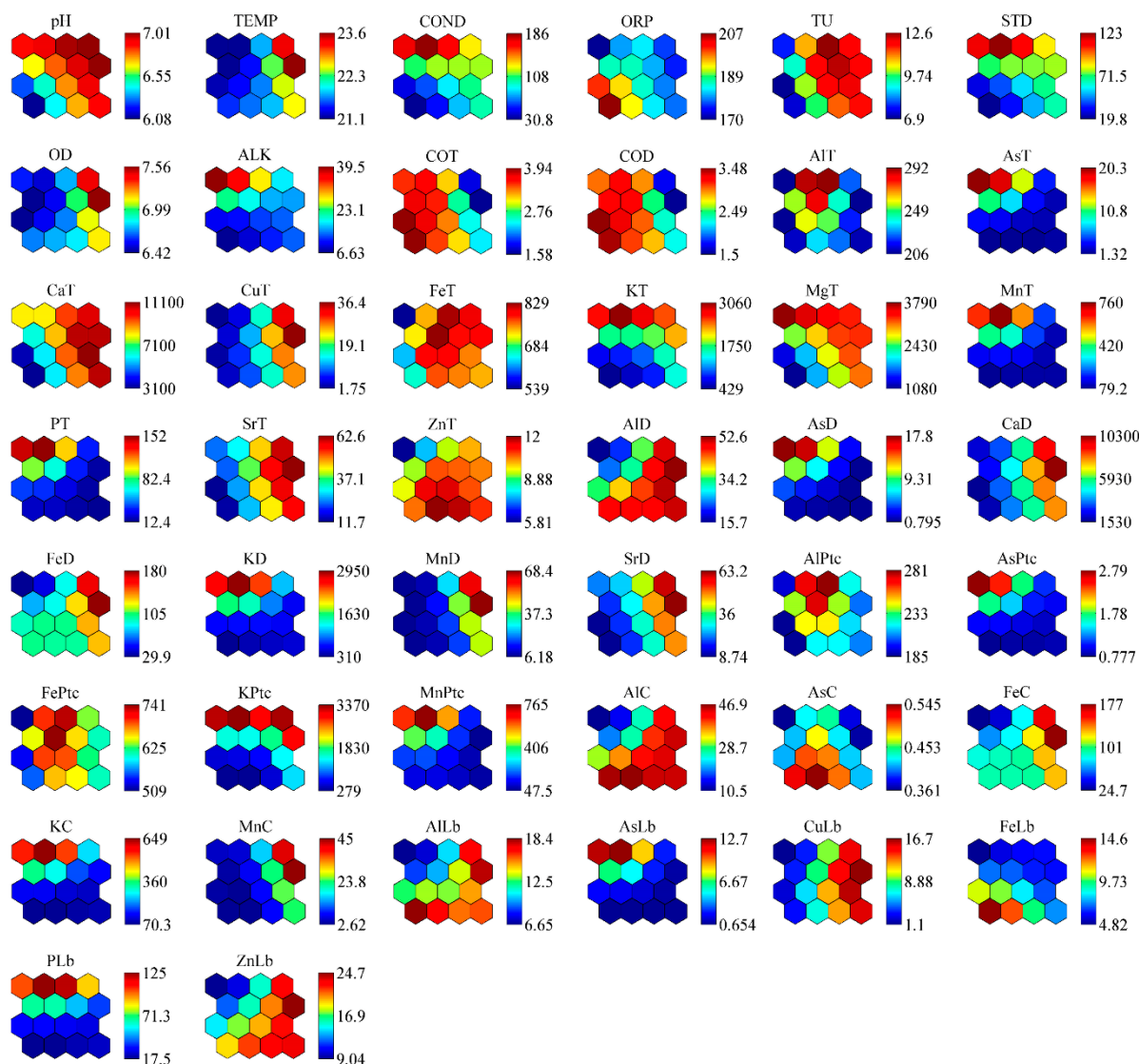
Figura 16 – Mapas das variáveis para as amostras ultrafiltradas



Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

Legenda: Cores vermelhas representam maior intensidade para uma dada variável; cores azuis indicam menores intensidades. Os sufixos T, D, Ptc e C referem-se respectivamente as frações total, dissolvida, particulada e coloidal.

Figura 17 – Mapas das variáveis para as amostras ultrafiltradas e DGT



Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

Legenda: Cores vermelhas representam maior intensidade para uma dada variável; cores azuis indicam menores intensidades. Os sufixos T, D, Ptc, C e Lb referem-se respectivamente as frações total, dissolvida, particulada, coloidal e lábil.

Para facilitar a interpretação dos mapas foi feita uma descrição das variáveis responsáveis pela formação de cada grupo (ver Tabela 6). Não foi observada uma separação evidente entre as amostras coletadas nas estações seca e chuvosa. Além disso, algumas amostras coletadas em um mesmo ponto ficaram situadas em um mesmo neurônio ou um mesmo grupo (por exemplo, as amostras S3R, S3D, S4R, S4D, S5R, S5D pertencem ao grupo I; amostras S10D e S10R também estão em um mesmo grupo – grupo IV – na Figura 15a; ver também a Tabela 6), o que é indicativo de similaridade. Portanto, a sazonalidade não teve influência na maioria dos pontos de coleta. O ponto S2 foi uma exceção e uma grande diferença pôde ser observada

entre as amostras coletadas nas estações seca e chuvosa (ambas amostras coletadas estão em grupos diferentes e distantes entre si). Essa diferença pode ser atribuída especialmente aos níveis mais altos de matéria orgânica e Fe (ver Figura 16, na posição correspondente a amostras S2D para as variáveis COD e Fe). As condições no ponto S2 também foram visivelmente diferentes nas duas estações durante os trabalhos de campo. Na estação chuvosa o córrego estava com uma vazão maior, enquanto que na estação seca a vazão estava muito baixa. Para amostras em um mesmo grupo, a similaridade entre a maioria das amostras analisadas foi ainda maior na Figura 15b (que contém dados de UFT+DGT).

Tabela 6 – Características de cada grupo de amostras a partir de interpretação da rede neural de Kohonen (amostras ultrafiltradas e ultrafiltradas + DGT)

Grupo- No	Amostras	Características
Amostras ultrafiltradas		
I	S2R, S6R e S3, S4 e S5 para seca e chuva	pH mais baixos e ORP mais altas em relação as demais amostras
II	S6D	Similar ao grupo I, mas tem maiores teores de AIT e ZnT
III	S2D	pH mais baixo, TU mais alta, maiores valores de COT, COD e Fe (todas as frações) e menor teor de As (todas as frações)
IV	S9R e S10 (seca e chuva)	Maiores valores de OD, AID, AIC, AsT, AsD, AsPtc e MnD
V	S7 (seca e chuva), S8D e S9D	Maiores valores de CaT, SrT e SrD
VI	S1D	COND mais alta e valores mais altos de STD, KT, KD, KPtc, KC, MnT, MnPtc e AsD
VII	S8R	Maiores valores de OD
VIII	S11R	Maiores valores de SrT e SrD
IX	S1R, S11D e S12 (seca e chuva)	Maiores valores de ALK, CaT, MgT e SrT
Amostras ultrafiltradas + DGT		
I	S1 (seca e chuva)	Maiores valores de COND, STD, ALK, AsT, MgT, MnT, PT, AsD, KD, AsPtc, KPtc, KPtc, KC, AsLb e PLb
II	S4, S6 (seca e chuva), S7D e S9D	pH e STD mais baixos, menores concentrações de CaT, KT, MgT, mas valores mais altos de ORP e concentrações mais altas de AIC, AsC, AILb e FeLb
III	S7R e S9R	Maiores teores de pH, T, MnC e AILb

Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

Uma maior quantidade de Fe coloidal (FeC) foi detectado nas amostras S7R e S9R (grupo III, Figura 15b), mas uma menor quantidade de COD (observando essas variáveis na Figura 17). Além disso, a quantidade de Fe total e pH nesses pontos foi maior que nas outras amostras na Figura 15b. Esse comportamento pode ser explicado pelo pH e concentração, que influencia a especiação o Fe (SUNDMAN *et*

al., 2014). Em pH mais altos, por exemplo, a quantidade de Fe complexada com a matéria orgânica é menor, o que induz a precipitação desse metal em águas naturais (ALLARD *et al.*, 2004; SUNDMAN *et al.*, 2014). Na Figura 17 foi observado que os pontos com maior quantidade de Fe coloidal (S7R e S9R) apresentaram menos As lábil. Uma possível explicação para isso é a formação de complexos ternários entre matéria orgânica, Fe e As.

Analisando outros elementos, os pontos com maior concentração de Ca (S1D, S7D, S9D, S1R, S7R e S9R) tiveram maior concentração de Mg e Sr, indicando origem litológica comum, já que esses metais são elementos litófilos e geralmente aparecem juntos em rochas (GONTIJO *et al.*, 2014). O comportamento do Al foi similar ao do Fe. Uma menor quantidade de COD foi medida nos pontos de amostragem que tinham mais Zn lábil.

2.3.5. Análise da distribuição de As, Al e Fe e influência da matéria orgânica

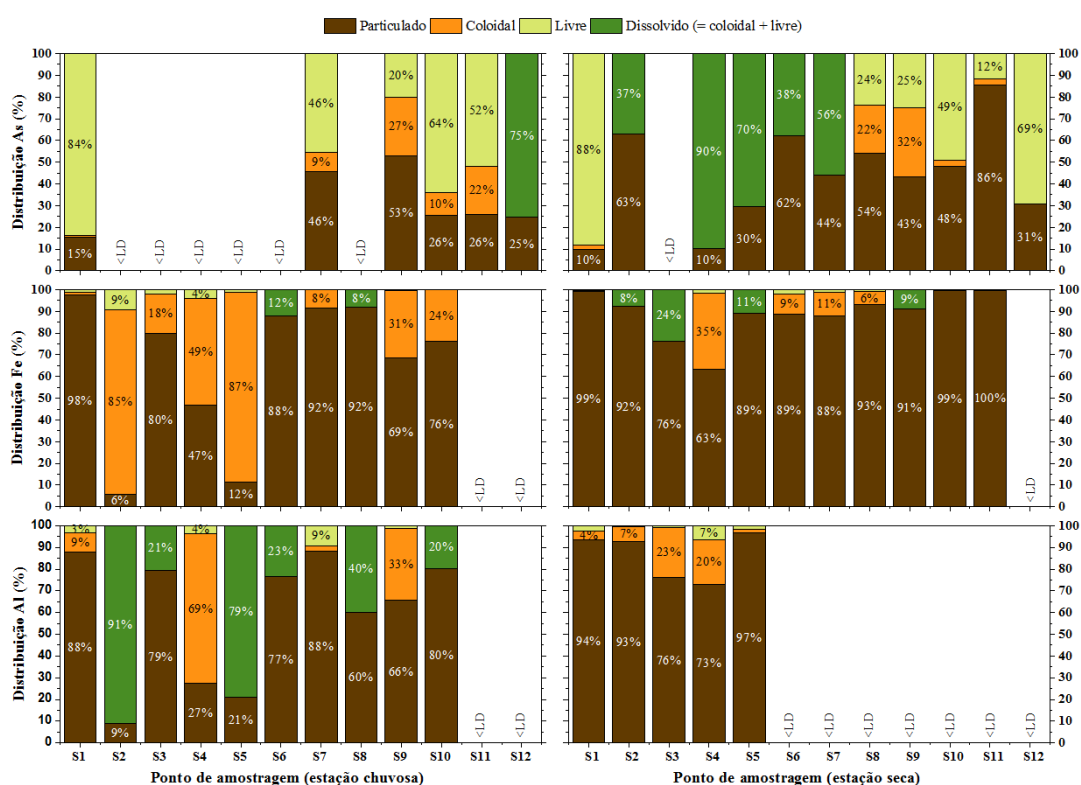
A distribuição do Al, As e Fe entre as frações particulada, coloidal e livre para todas as amostras é exibida na Figura 18. Em alguns pontos não foi possível calcular a distribuição porque a fração dissolvida e livre não foram detectadas. Quando só a fração livre não foi detectada, os resultados foram exibidos como fração dissolvida (coloidal + livre).

A maior parte do Fe nas amostras analisadas estava na FPtc (entre 60 e 100% para a maioria das amostras). A FC foi a segunda principal fração com proporção variando entre cerca de 5 a 90% do Fe total, dependendo da amostra. Na FC o Fe pode aparecer como oxi-hidróxidos de Fe, argilas ou complexos orgânicos coloidais (VASYUKOVA *et al.*, 2010; LIU, LEAD e ZHANG, 2013). A fração com menor proporção foi a FL, com menos de 10% em relação ao Fe total. As SHA podem formar associações e manter o Fe (incluindo oxi-hidróxidos coloidais) suspenso em solução na fase dissolvida, o que contribui para explicar essa proporção entre as FL e FC (RITTER *et al.*, 2006; LIU, LEAD e ZHANG, 2013). Comportamento similar relacionado a distribuição foi observado para o Al.

Em geral, o As exibiu comportamento diferente dos metais Al e Fe com relação a sua distribuição nas amostras estudadas, já que sua fração mais abundante foi a FL. A ligação direta do As com as SHA não ser muito significativa é um dos fatores que pode ajudar a explicar essa distribuição. Entretanto, as amostras S9R, S11R, S8D

e S9D tiveram teor maior de As na fração coloidal (entre 20 e 32%). A formação de complexos ternários pelo *input* de SHA proveniente do ponto S4 pode explicar essa maior porcentagem de As coloidal nos pontos S8 e S9. Além disso, o Fe coloidal também deve ter tido importante papel ao se ligar com As (especialmente complexos ternários). A quantidade de As dissolvida foi baixa (menor que $1 \mu\text{g L}^{-1}$) nas amostras S2D, S4D, S5D, S6D e S7D e, por isso não foi possível calcular a quantidade do metaloide nas frações coloidal e livre nessas amostras.

Figura 18 – Distribuição de Al, As e Fe nas amostras de água coletadas nos 12 pontos no Quadrilátero Ferrífero (Brasil)



Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

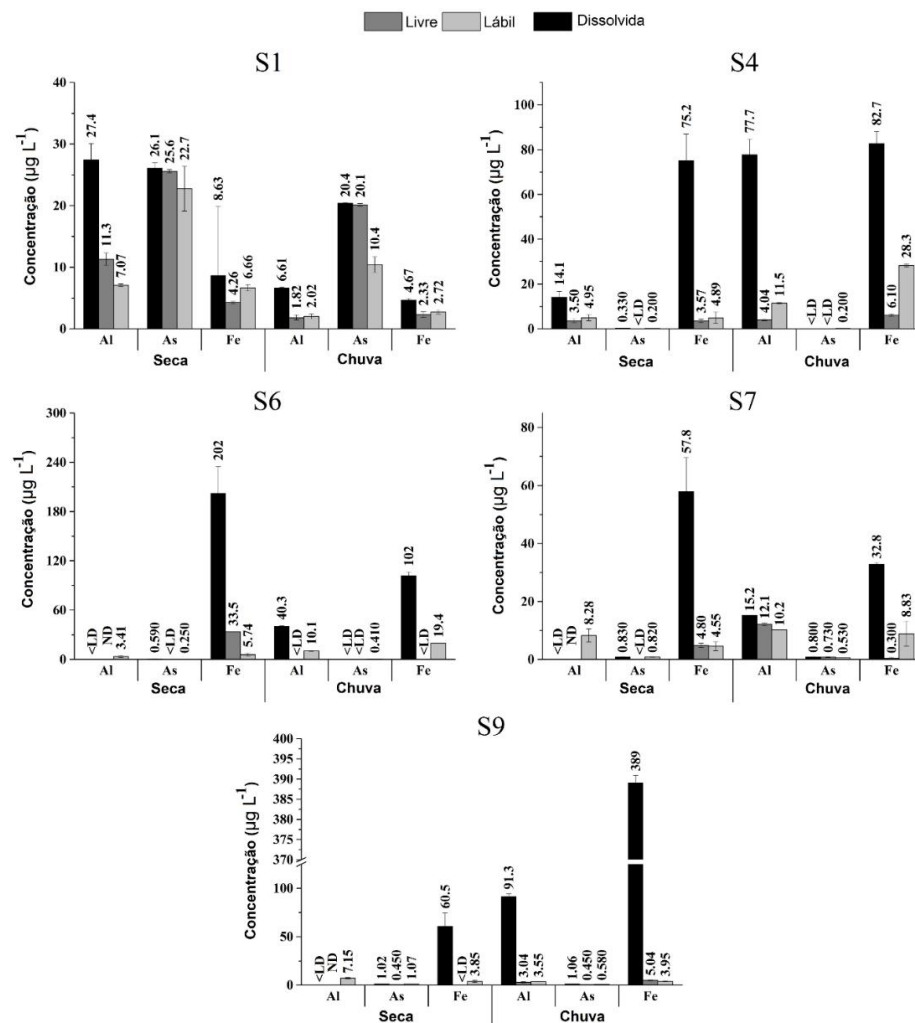
Legenda: LD: limite de detecção; para algumas amostras não foi possível determinar a distribuição porque a concentração da fração total ou dissolvida estava abaixo do LD. Quando a fração coloidal ou livre não pôde ser calculada (devido a fração livre estar abaixo do LD), os valores são dados como fração dissolvida.

Considerando a sazonalidade, observou-se que a concentração de Fe total na estação seca no ponto S2 ($14,7 \text{ mg L}^{-1}$) foi muito maior quando comparada com a estação chuvosa ($360 \mu\text{g L}^{-1}$). Isso provavelmente está ligado a litologia e ocorreu quase exclusivamente na fração particulada (em geral houve aumento da fração particulada para todas as amostras). Comportamento similar foi observado para o Al. Esse efeito foi mais pronunciado na amostra S2, que teve somente 9% de Al

particulado e 6% de Fe particulado durante a estação chuvosa. Na estação seca, a quantidade desses metais na fração particulada cresceu cerca de 10 vezes (93% e 92% para Al e Fe, respectivamente). Além disso, sabe-se que o Fe tende a precipitar como oxí-hidróxidos de Fe(III) quando em concentrações e pH mais altos (KAEDING, 1973; SUNDMAN *et al.*, 2014). Esse comportamento de distribuição pode também explicar as diferenças entre as estações seca e chuvosa detectadas no SOM (entre as amostras S2D e S2R) (Figura 15a).

A concentração das espécies de Al, As e Fe dissolvido, livre (dos experimentos de ultrafiltração) e lábil (dos experimentos de DGT) das amostras dos pontos S1, S4, S6, S7 e S9 são mostradas na Figura 19.

Figura 19 – Concentração das espécies dissolvida, livre e lábil nos pontos onde os DGT foram imersos



Fonte: adaptado de GONTIJO *et al.* (2016)

Legenda: LD: limite de detecção; ND: não determinado; a fração indicada como lábil inclui espécies livres e lábeis.

De forma geral, o conceito de biodisponibilidade está ligado à proporção de um elemento que está disponível para um dado organismo. Entretanto, como diferentes seres vivos têm diferentes mecanismos de internalização, o uso genérico desse termo pode ser um problema, já que espécies lábeis não são necessariamente biodisponíveis (ZHANG e DAVISON, 2015). Ainda assim, o DGT pode ser utilizado para avaliar a biodisponibilidade de um elemento e é esperado que as espécies retidas no dispositivo se correlacionem bem com um elemento internalizado pela biota, dependendo da taxa de internalização do organismo e do tempo de imersão do DGT. Assim, surge o conceito de potencial biodisponibilidade, que é uma definição importante a ser usada neste trabalho e é definida as espécies lábeis que foram fixadas no gel ligante do DGT (ZHANG e DAVISON, 2015).

A partir desses conceitos podemos dizer que o As é potencialmente biodisponível para os organismos nas amostras analisadas, já que a maior parte do As dissolvido é lábil (Figura 19). Isso é especialmente importante para amostra do ponto S1, onde a concentração de As é 2 vezes maior do que o recomendado para consumo humano ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) pela organização mundial da saúde (OMS) e pela legislação brasileira e águas naturais (BRASIL, 2005; WHO, 2011). Entretanto, a maior parte do Al e Fe estão na fração inerte, predominantemente complexados (fração coloidal, como oxi-hidróxidos de Fe coloidais e/ou associações com SHA) e, portanto, são menos biodisponíveis.

As diferenças observadas entre os resultados de ultrafiltração e DGT podem ser explicados tanto por processos químicos quanto por distinções metodológicas. Em relação aos processos químicos, parte da fração coloidal (complexada) de um elemento pode ser lábil durante o período de imersão do DGT. Conseqüentemente, esse elemento vai ter concentrações maiores na fração lábil nos experimentos com DGT do que na fração livre medida por ultrafiltração com membrana de 1 kDa (por exemplo. Fe nas amostras S1D teve maior concentração na fração lábil que na fração livre, Figura 19). A mesma observação é válida para Fe e Al na amostra S4R (a fração lábil do DGT inclui espécies livres e lábeis). Sobre distinções metodológicas, enquanto os resultados da UFT referem-se a um momento único de amostragem, o DGT acumula as espécies lábeis em um período de tempo mais longo e contínuo. Isso pode explicar as diferenças entre as concentrações mais altas de elementos na fração livre quando comparadas com as concentrações mais baixas na fração lábil, como observado para o As na amostra S1R e para o Fe na amostra S6D (Figura 19). Se a

concentração desses elementos variar durante o tempo de imersão, a concentração medida do gel ligante será a média da concentração no tempo de imersão.

A técnica do DGT tem algumas vantagens de pré-concentração quando comparada com a ultrafiltração, especialmente para metais em concentrações muito baixas (ZHANG e DAVISON, 1995). Isso pode explicar o porquê do Fe ter sido detectado para algumas amostras nas análises de DGT, mas não na ultrafiltração (e.g. S9R). De outro lado, mudanças na especiação de Al, As e Fe antes da ultrafiltração podem explicar essas diferenças.

2.4. Conclusões do capítulo

- De forma geral, o Al e o Fe apareceram predominantemente na fração particulada (menos móvel) e o As na fração livre (mais móvel) nos estudos de distribuição no QF.
- A fração coloidal do As não foi significativa nas amostras coletadas. Entretanto, a proporção de As coloidal chegou a cerca de 20 a 30% em alguns pontos, provavelmente devido a influência especialmente das concentrações de Fe e SHA.
- Análise exploratória multivariada mostrou que os pontos com maior quantidade de Fe complexado (coloidal) tiveram menor concentração de As lábil.
- A análise multivariada (SOM) mostrou que as amostras coletadas nas estações seca e chuvosa tiveram comportamento similar para maioria das amostras (a sazonalidade não foi um fator importante) considerando as variáveis medidas. Entretanto, foi detectada algumas diferenças na distribuição dos elementos As, Al e Fe entre as 4 frações (particulada, dissolvida, coloidal e livre).
- A maior parte do As dissolvido nos pontos pesquisados é potencialmente biodisponível, já que é lábil. Isso é importante especialmente em áreas onde o As é encontrado em concentrações maiores, o que pode ser perigoso para os organismos vivos. Concentrações mais baixas de Al e Fe na fração lábil podem ser explicadas pela complexação com a matéria orgânica (SH).
- As diferenças detectadas entre os resultados das espécies livres (UFT) e lábeis (DGT) foram atribuídas a labilidade de espécies coloidais e o período em que a medida é feita (a ultrafiltração cobre um momento único e o DGT um período

mais longo e contínuo). Os experimentos de UFT não foram feitos *in situ* e, desse modo, parte das diferenças também pode ser atribuída a mudanças na especiação durante transporte para o laboratório. Assim, o DGT fornece um valor mais preciso da biodisponibilidade dos elementos analisados. Mesmo assim, ambas as técnicas são complementares, já que a UFT fornece informação sobre as espécies livres e o DGT fornece informações sobre as espécies lábeis (livre + lábeis).

Capítulo 3 – Dinâmica e distribuição de As(V) em ambientes tropicais e temperados: efeitos do Fe(III) e da qualidade de substâncias húmicas aquáticas

3.1. Introdução

As SH em sistemas aquáticos podem ter origem autóctone (a partir de processos dentro do próprio rio ou lago) ou alóctone. As características de cada uma dessas fontes é dependente de inúmeros fatores como a bacia hidrográfica onde o material foi originado, tipo de vegetação, o clima ou a sazonalidade (STEINBERG, 2003; MCDONALD *et al.*, 2004). Além da fonte, os processos que ocorrem na própria água são importantes a partir do momento que as SH atingem um sistema aquático (WAGNER *et al.*, 2015). Por isso, é importante estudar as características e grupos funcionais presentes nas estruturas das SH, já que eles podem alterar sua labilidade e reatividade no ambiente, especialmente em relação a metais e/ou metalóides contaminantes como o As (MLADENOV *et al.*, 2015). Diferentes quantidade de S em SH de diferentes lugares, por exemplo, podem determinar a quantidade de As complexado com SH (CATROUILLET *et al.*, 2015). Isso torna essencial estudar a qualidade da matéria orgânica e como mudanças em suas características no tempo e espaço afetam a distribuição e o comportamento do As em sistemas aquáticos. Nesse aspecto, conforme já comentado no primeiro capítulo, o Fe tem um importante papel na mobilização e interações do As com as SH e deve ser considerado em estudos envolvendo esse metalóide. A ultrafiltração foi a técnica utilizada para distinguir as espécies livres (FL, <1 kDa) das espécies complexadas na FC (>1 kDa e < 0,45 μ m). O tópico tratado é de grande importância, visto que os processos que controlam a dinâmica do As em ambientes ricos em SH e Fe ainda precisam ser melhor compreendidos, o que também é uma contribuição para estudos de biodisponibilidade e mobilidade.

Os objetivos dessa etapa do trabalho foram estudar a qualidade da matéria orgânica de rios dos Brasil e da Alemanha para entender como SH de diversas fontes afetam o comportamento do As(V) (mais comum em condições oxidantes) em águas superficiais, em diferentes concentrações de Fe(III).

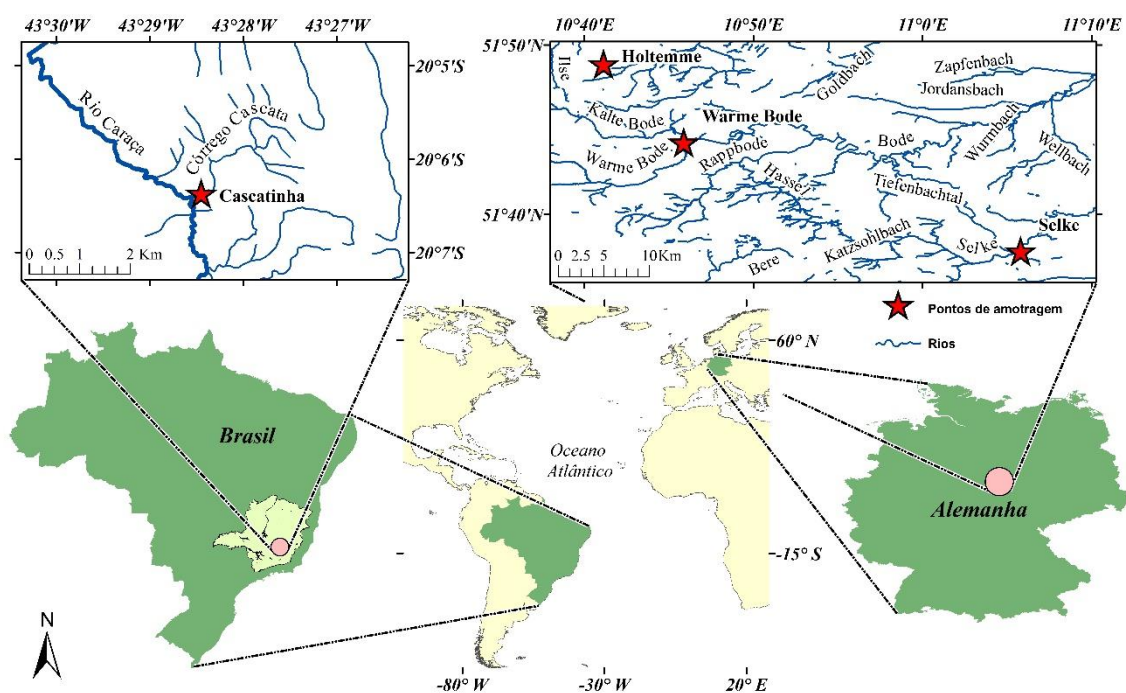
3.2. Materiais e Métodos

3.2.1. Amostragem e caracterizações preliminares

Quatro pontos de coleta foram selecionados para extração de SHA no Brasil (Cascatinha, em 2014) e na Alemanha (Holtemme, Selke e Warme Bode, em 2015).

Na Cascatinha as amostras foram coletadas em dois períodos distintos (seca e chuva) (Figura 20). Os pontos foram selecionados com base na presença de SHA (águas de coloração marrom) e/ou As. Diferentes fontes de material húmico foram selecionadas para estudar influência das características das SHA na complexação do As(V) em águas superficiais. A Cascatinha está localizada em uma Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN Santuário do Caraça) na serra do Caraça (Minas Gerais Brasil), que é um lugar onde podem ser excluídas interferências antrópicas (ROESER e FRIESE, 2007). O ponto possui baixas concentrações de Fe total ($0,2 \text{ mg L}^{-1}$) e elevadas concentrações de COD ($4,7 \text{ mg L}^{-1}$) (GONTIJO *et al.*, 2014; GONTIJO *et al.*, 2016). O rio Holtemme nasce no Parque Nacional do Harz (Alemanha) e drena áreas úmidas (turfeiras), o que resulta em concentrações mais altas de COD (KAMJUNKE *et al.*, 2013; HERZSPRUNG *et al.*, 2017). O rio Warme Bode também está localizado na região do Harz e é um dos formadores do rio Bode, que tem o rio Holtemme como um dos seus tributários. O rio Selke é um dos principais tributários do rio Bode na borda sul da bacia e é conhecido pelas concentrações mais altas de As devido ao recebimento de efluentes de antigas minas (KAMJUNKE *et al.*, 2013). Apesar de menos tóxico que o As(III), o As(V) foi utilizado nos experimentos por ser mais prevalente em condições oxidantes.

Figura 20 – Mapa de localização dos pontos de amostragem no Brasil e na Alemanha



Fonte: autoria própria

Cerca de 150 L de água foram coletados e armazenados em frascos plásticos de 10 L previamente limpos para extração de SH, ultrafiltração e medidas espectroscópicas (Figura 21). As águas coletadas foram caracterizadas com os parâmetros físico-químicos condutividade, oxigênio dissolvido, pH e temperatura medidos *in situ* (utilizando sonda WTW MULTI3430). Amostras com cerca de 100 mL de água foram coletadas em frascos plásticos (100 mL) e acidificadas (HNO₃ concentrado) para análise dos elementos Al, As e Fe e com cerca de 15 mL foram coletadas em frascos de vidro âmbar para análise de COD (depois de filtração em membrana de 0,45 µm) e COT.

Figura 21 – Foto do ponto de coleta no rio Warme Bode (A) e coleta de água para extração de substâncias húmicas no rio Holtemme (B)



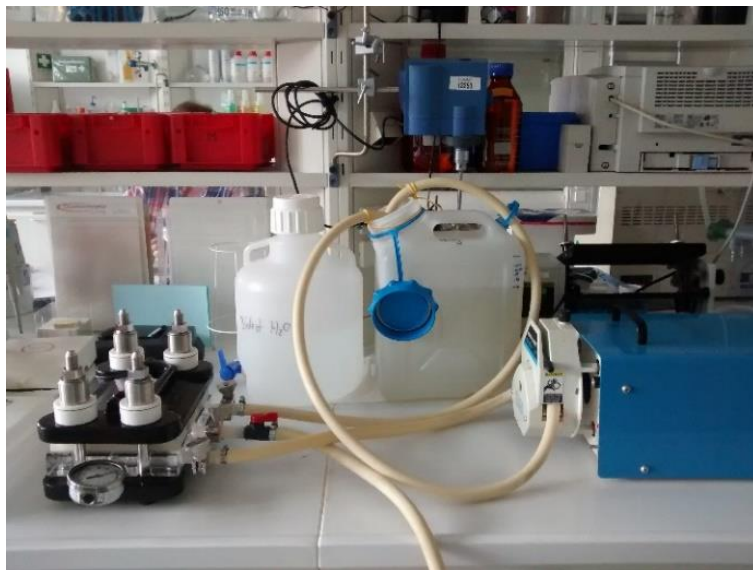
Fonte: autoria própria

3.2.2. Ultrafiltração

As amostras de água (150 L) foram filtradas sequencialmente em membranas de 0,45 µm e 1 kDa (celulose regenerada) para determinação das frações dissolvida e livre dos elementos analisados. Na Alemanha foi usado um sistema Millipore Pellicon® System (Figura 22) e no Brasil um sistema de ultrafiltração de teflon. Os sistemas e membranas foram previamente limpos com hidróxido de sódio 0,1 M e enxaguados vigorosamente com água ultrapura. Uma alíquota do permeado da primeira (0,45 µm) e segunda filtração (1 kDa) (cerca de 10 mL para cada fração) foram recolhidos para análise de Al, As e Fe nas frações dissolvida e livre, respectivamente. As alíquotas filtradas foram acidificadas com HNO₃ e armazenadas em refrigerador até as análises em um Agilent 8800 ICP-MS Triple Quad (para As) e

um ICP-OES Optima 7300DV PekinElmer (para metais). Os metais das águas da Cascatinha foram analisados em um ICP-OES (Agilent Technologies 700 Series) e o As em um forno de grafite (VARIAN AA240Z) depois de digestão ácida com pré-concentração das amostras conforme descrito no capítulo 2 (seção 2.2.3).

Figura 22 – Sistema filtração/ultrafiltração (Millipore Pellicon®) das amostras em 0,45 µm e 1 kDa com a bomba peristáltica



Fonte: autoria própria

O LD para a FT, FD e FL dos metais analisados em águas naturais para Cascatinha são os mesmos utilizados no capítulo 2 (seção 2.2.3). Os LD para o As, Al e Fe para os demais pontos de amostragem em todas as frações e experimentos foram respectivamente $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$, $20 \mu\text{g L}^{-1}$, $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (limites instrumentais).

3.2.3. Extração de substâncias húmicas aquáticas

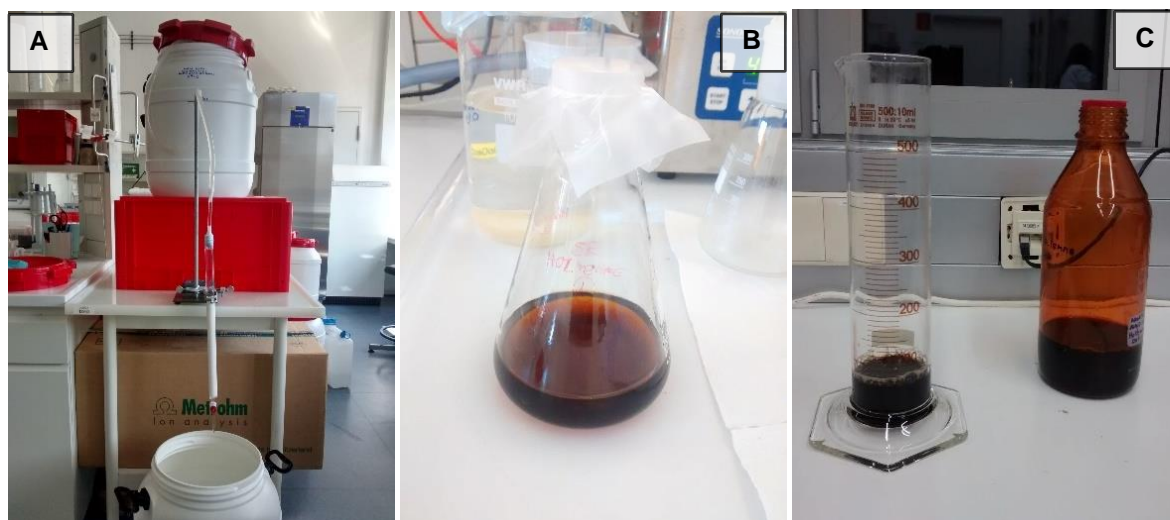
As SH foram extraídas das águas usando colunas cromatográficas preenchidas com resina Supelite® DAX-8. O método foi baseado em THURMAN e MALCOLM (1981) e recomendado pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (*International Humic Substances Society*, IHSS (2014)).

Inicialmente, as amostras foram acidificadas com HCl 6 mol L^{-1} até $\text{pH} < 2$ para que os ácidos húmicos e fúlvicos pudessem ser adsorvidos pela resina DAX-8. Antes da montagem da coluna cromatográfica, a resina DAX-8 foi purificada. A purificação consistiu em deixar a resina imersa em metanol (20 minutos), HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (24

horas) e NaOH 0,1 mol L⁻¹ (24 horas). Entre cada etapa e no final do processo a resina foi lavada vigorosamente com água. Durante todo o processo o erlenmeyer ficou em agitação em um *shaker* na velocidade de 200 rpm e em temperatura ambiente.

Depois da etapa de purificação, colunas cromatográficas foram preenchidas com a resina até uma altura equivalente a cerca de 60% da coluna preenchida. Em seguida, os galões com as amostras acidificadas foram conectados a coluna com tubos plásticos, de modo que a mesma passasse pela resina sob ação da gravidade, com vazão de aproximadamente 15 mL min⁻¹. A coluna foi eluída com NaOH 0,1 mol L⁻¹ quando a resina ficava saturada (escura), com vazão de aproximadamente 10 mL min⁻¹ (Figura 23). Depois da extração, o pH do extrato foi abaixado para valores próximos ao da amostra original com HCl 6 mol L⁻¹. Os extratos foram armazenados em frascos de vidro âmbar e mantidos refrigerados até o uso. Uma parte de cada extrato foi seca em estufa com recirculação de ar a 40°C para algumas análises de caracterização.

Figura 23 – Sistema de extração de substâncias húmicas aquáticas e extrato obtido antes e depois da concentração em evaporador rotativo a vácuo



Fonte: autoria própria

Legenda: (A) sistema de extração de substâncias húmicas montado; (B) extrato obtido no final do experimento; (C) extrato após concentração em evaporador rotativo a vácuo

3.2.4. Análise elementar

Os analisadores elementares CHN628 (LECO), CS230 (LECO) e Vario EL Cube foram utilizados para determinar a composição elementar (C, N, H, S) dos

extratos secos. O oxigênio foi calculado usando a equação $\%O=100-\%C-\%H-\%N-\%S$ (FERNANDES, 2007). O teor de cinzas também foi analisado (analisador termogravimétrico, TGA701, LECO) e correspondeu à massa remanescente depois de aquecimento da amostra em um cadinho a 750°C. A composição elementar foi corrigida usando o teor de cinzas. Informações sobre a origem e estrutura da matéria orgânica foram obtidas por meio do cálculo das razões H/C, O/C e C/N. A alifaticidade e grau de humificação da matéria orgânica foram estimados pelas razões H/C e O/C, respectivamente. Já a razão C/N foi calculada para adquirir informações relativas a origem das SH.

3.2.5. Ressonância magnética nuclear (¹³C RMN)

Espectros de RMN no estado sólido (¹³C RMN) dos extratos de SH foram obtidas por um equipamento Bruker AV 300 WB a 75.47 MHz no instituto de química da Otto Von Guericke Universität Magdeburg. A rotação do ângulo mágico (*magic angle spinning*, MAS) foi de 15 kHz com rotores de dióxido de zircônio (diâmetro de 4 mm). O tempo de contato na polarização cruzada foi de 2000 μs. O número de aquisições acumulada foi 10000. O espectro de RMN ¹³C foi dividido em diferentes regiões de acordo com o tipo de carbono (RODRÍGUEZ-MURILLO, ALMENDROS e KNICKER, 2011):

- a) 0-45 ppm: carbono de grupos alquila;
- b) 46-58 ppm: carbono de grupos metoxila;
- c) 59-65 ppm: carbono C6 em estrutura de glucopiranosida;
- d) 66-94 ppm: carbono de grupos alquila – O;
- e) 95-110 ppm: carbono C1 em estrutura de glucopiranosida;
- f) 111-146 ppm: carbono aromático – H;
- g) 147-167 ppm: carbono aromático – N;
- h) 168 – 188 ppm: carbono de grupos carboxila;
- i) 189 – 200 ppm: carbono de grupos carbonila.

Além de integrar áreas nessas regiões pré-definidas para estimar cada tipo de carbono presente na estrutura das amostras, a alifaticidade e aromaticidade dos extratos de SH foi estimada pelo cálculo da área relativa (%) no espectro entre 0-100 ppm e 111-167, respectivamente.

3.2.6. Análise isotópica

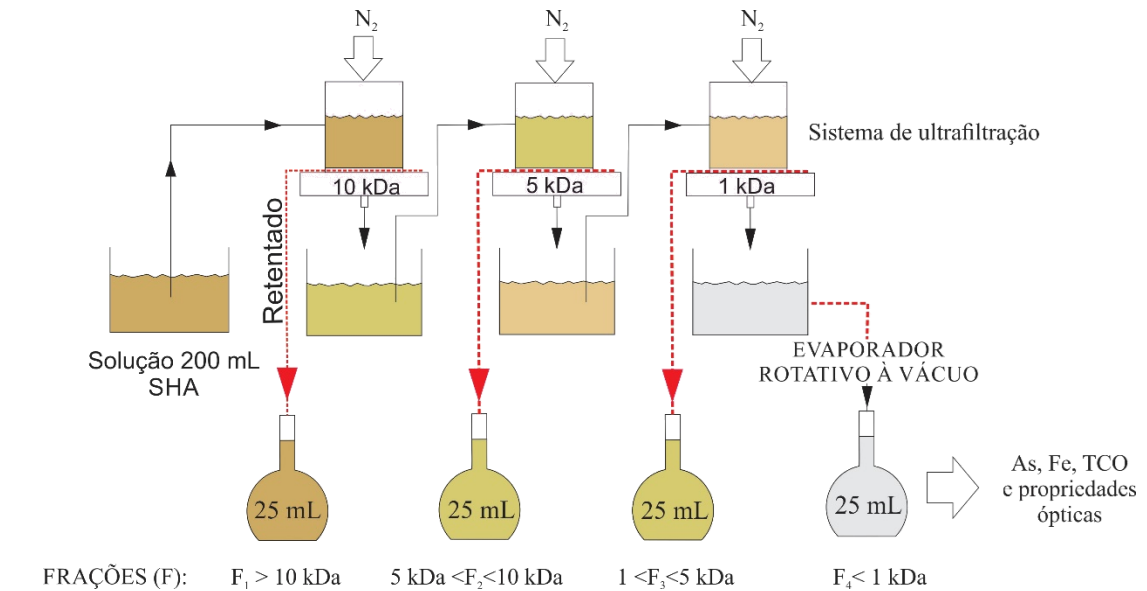
Análise isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) de todos os extratos foi feita usando um equipamento EA Eurovector / Delta V Advantage. O objetivo dessa análise foi ter uma indicação de processos que afetam as SH e obter informações sobre a origem dos seus materiais precursores (relacionado aos ciclos do C e N). Essas variáveis podem indicar se a origem das SH é aquática ou terrestre e se o material precursor é derivado de plantas C_3 e C_4 . A questão da diferenciação entre C_3 e C_4 é baseada em diferentes ciclos fotossintéticos em que as plantas fixam CO_2 atmosférico. Assim, valores menores de $\delta^{13}\text{C}$ (cerca de -27‰) são relacionados a plantas C_3 e maiores valores (cerca de -12.5‰) são relacionados a plantas de ciclo C_4 (AMON e MEON, 2004; ZHAO *et al.*, 2010). Já o $\delta^{15}\text{N}$ é usado como indicativo para diferenciar materiais derivado de plânctons de materiais terrestres (baixos valores) (AMON e MEON, 2004). Baixos valores de $\delta^{15}\text{N}$ (entre -3 e $+1\text{‰}$) também podem ser evidencia de fixação de N_2 (KENDALL, 1998).

3.2.7. Fracionamento dos extratos de substâncias húmicas em diferentes faixas de massa molecular

Os extratos das SHA foram fracionados sequencialmente com membranas de diferentes tamanhos moleculares (1, 5 e 10 kDa de celulose regenerada). Um sistema de ultrafiltração (*Stirred Ultrafiltration Cell system - Model 8200*, Millipore™) foi usado nesse experimento, que foi conduzido em atmosfera inerte (gás N_2). Para cada extrato (3 coletados na Alemanha: Holtemme, Selke e Warme Bode; 2 coletados o Brasil: Cascatinha estações seca e chuvosa) foram preparados 200 mL de solução para fracionamento. A solução foi filtrada pelo aumento da pressão do gás no sistema. O volume do material retido foi ajustado para 25 mL para todas as frações. A filtração foi feita de forma sequencial como mostrado na Figura 24. O filtrado da última membrana (1 kDa) foi concentrado usando um evaporador rotativo a vácuo antes do volume final ser ajustado para 25 mL. O experimento foi feito em triplicata e de modo semelhante ao trabalho de ARAÚJO *et al.* (2002). Os metais Al e Fe e o metaloide As foram analisados para todos os ultrafiltrados (Agilent 8800 ICP-MS Triple Quad / ICP-OES Optima 7300DV PekinElmer). O teor de carbono orgânico (TCO) também foi analisado usando um analisador de COT (DIMATOC® 2000, DIMATEC). A Figura 25 mostra o

sistema de ultrafiltração em operação e parte de algumas frações obtidas após fracionamento ($F_1 > 10$ kDa; 5 kDa $< F_2 < 10$ kDa; 1 kDa $< F_3 < 5$ kDa; $F_4 < 1$ kDa).

Figura 24 – Fracionamento dos extratos das substâncias húmicas extraídas



Fonte: autoria própria

Legenda: SHA=substâncias húmicas aquáticas; TCO: teor de carbono orgânico

Figura 25 – Sistema de ultrafiltração e frações obtidas após fracionamento



Fonte: autoria própria

Legenda: (A) sistema de ultrafiltração; (B) algumas amostras fracionadas do extrato do rio Holtemme

3.2.8. Experimentos de complexação usando ultrafiltração

Testes na ausência de matéria orgânica foram feitos antes dos experimentos com os extratos. Esses pré-testes visavam verificar se o As(V) estava sendo adsorvido pelas membranas (1 kDa) durante a filtração. Os elementos que passam pela membrana de 1 kDa usada nos testes são considerados livres ou não ligados a matéria orgânica coloidal. Todas as filtrações foram feitas usando um *Stirred Ultrafiltration Cell system (Model 8200, Millipore™)*. Nesse experimento, soluções de 100 mL com $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) foram preparadas na ausência de Fe ou SHA. Diferentes condutividades ($500, 1000$ e $2000 \mu\text{S cm}^{-1}$) e pH (4, 6 e 8) foram testados. Essas variáveis foram ajustadas com soluções de NaCl, HCl e NaOH. Depois de ajustadas, as soluções foram filtradas no sistema utilizando membrana de 1 kDa depois de 20 minutos de agitação. Em seguida foram coletadas 6 mL do filtrado para análise de As. O Fe foi incluído nos experimentos com As devido a possibilidade da formação de complexos ternários (MIKUTTA e KRETZSCHMAR, 2011; SUNDMAN *et al.*, 2014).

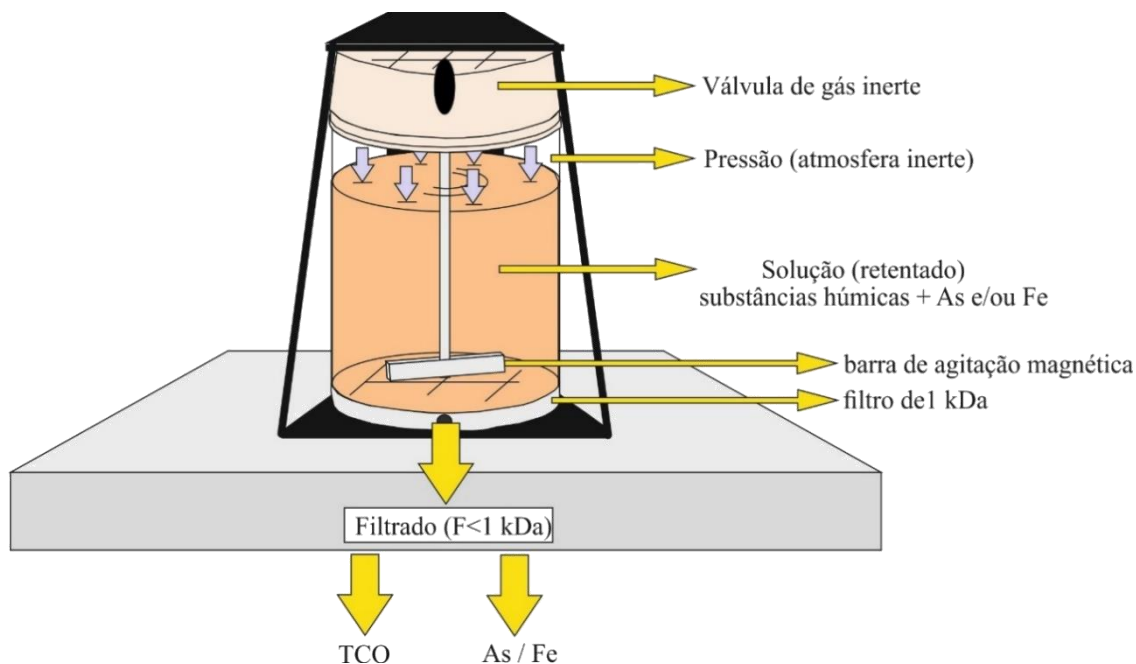
A influência do TCO na complexação do As foi avaliada para o extrato do rio Holtemme. Soluções de 50 mL com $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) e $5,5 \text{ mg L}^{-1}$ de Fe foram preparadas. Alíquotas do extrato do rio Holtemme foram adicionadas com o objetivo de que o TCO das soluções fossem 10, 20 e 40 mg L^{-1} . O pH e a condutividade foram mantidos fixos em respectivamente 6 e $1000 \mu\text{S cm}^{-1}$ para todos os testes. No experimento as amostras foram ultrafiltradas e, em seguida, o As, Fe e carbono orgânico da solução preparada e ultrafiltrado determinados. A Figura 26 mostra um esquema do experimento de complexação.

A influência de diferentes extratos na complexação do As também foi avaliada. Os testes foram feitos com as amostras dos rios Selke, Warne Bode e Cascatinha (coletas do Brasil nas estações seca e chuvosa). Soluções de 50 mL com $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As e $5,5 \text{ mg L}^{-1}$ de Fe foram preparadas. Alíquotas do extrato foram adicionadas com o objetivo de ajustar a concentração do TCO em 20 mg L^{-1} . O pH e a condutividade foram mantidos constantes em respectivamente 6 e $1000 \mu\text{S cm}^{-1}$. As amostras foram ultrafiltradas e o As, Fe e carbono orgânico da solução preparada e ultrafiltrado foram determinados.

O Fe das soluções preparadas e ultrafiltrados nesse experimento foi medido por um Agilent 8800 ICP-MS Triple Quad e o As por um ICP-OES Optima 7300DV

PekinElmer. O carbono orgânico foi medido por um analisador de COT (DIMATOC® 2000, DIMATEC).

Figura 26 – Testes de complexação do As com a matéria orgânica na presença de Fe



Fonte: autoria própria

Legenda: TCO: teor de carbono orgânico

3.2.9. Medidas ópticas espectroscópicas

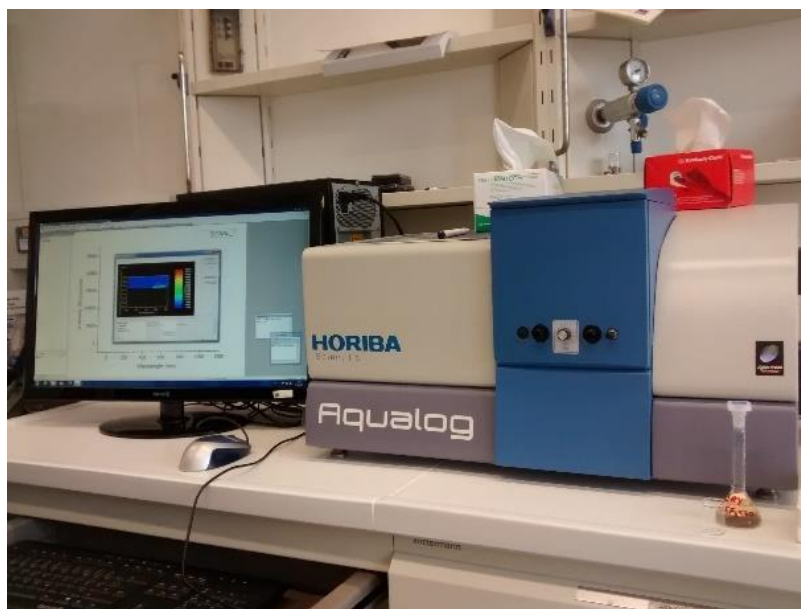
Espectros de absorbância (240-600 nm) e matrizes de excitação-emissão (EEM) foram obtidos com auxílio de um espectrofluorímetro Aqualog® (Horiba, Figura 27) e cubetas de quartzo (1 cm).

Os experimentos foram feitos para avaliar a qualidade dos extratos de SH e de suas frações, já que as análises espectroscópicas permitem uma avaliação barata, fácil e rápida da fonte, composição e reatividade das SH (WAGNER *et al.*, 2015). Alguns índices foram calculados depois das medidas:

- a) Índice de Fluorescência (*fluorescence index*, FI): foi usado como indicador da fonte do material analisado (contribuição relativa de material de origem microbial ou terrestre). Corresponde a razão entre as intensidades de emissão em 470 e 520 nm, obtidas no comprimento de excitação 370 nm (WAGNER *et*

al., 2015). Valores de cerca de 1,4 são indicativo de materiais de origem terrestre e 1,9 indica SH de origem microbial (MCKNIGHT *et al.*, 2001);

Figura 27 – Equipamento utilizado para medição da fluorescência e absorbância UV/VIS



Fonte: autoria própria

- b) Índice β/α (*freshness index*, β/α): esse índice corresponde à razão entre a intensidade de emissão em 380 nm (componente β) e a máxima intensidade nos comprimentos de onda entre 420 e 435 nm (componente α) no comprimento de excitação de 310 nm. Está relacionado com material produzido mais recentemente (quanto maior o valor, maior proporção de material mais ‘fresco’) (HANSEN *et al.*, 2016);
- c) Índice de humificação (*humification index*, HI): está relacionado com o grau de humificação ou o conteúdo de SH. Esse índice geralmente varia entre 0,6 e 0,9, sendo que o maior valor indica maior grau de humificação. Ele é calculado pela razão entre área do espectro de emissão entre 435 e 480 nm e o pico da área entre 300 e 345 + 435 e 480, no comprimento de onda de excitação de 254 nm (OHNO, 2002);
- d) Razão E2/E3: corresponde a razão entre os comprimentos de onda medidos entre 254 e 365 nm. Esse valor é um indicativo da massa molecular média das SH, sendo que quanto maior é a massa molecular da matéria orgânica, menor é o valor de E2/E3, resultado da absorção de luz mais forte em comprimentos

de onda mais longos por moléculas húmicas de maior tamanho (HELMS *et al.*, 2008).

3.2.10. Fluorescence quenching

Para avaliar o efeito quenching das SH na presença de As e Fe foram preparadas diluições dos extratos. O fenômeno da *fluorescence quenching* ocorre quando existe uma diminuição na emissão de fluorescência de uma amostra devido a interações moleculares, como a formação de complexos ou colisões entre o fluoróforo e o quencher (MANCIULEA, BAKER e LEAD, 2009). Esse processo pode ser tanto dinâmico (colisão quencher/fluoróforo), quanto estático (formação de complexos de estado fundamental entre fluoróforo e o quencher) (SENESI, 1990).

Foram preparadas cinco diluições do extrato de SH do Holtemme (10 mg L⁻¹ TCO):

- (A) Sem adição de As e Fe;
- (B) Adição de 200 µg L⁻¹ de As e sem adição de Fe
- (C) Adição de 160 µg L⁻¹ de As e 2,2 mg L⁻¹ de Fe;
- (D) Adição de 100 µg L⁻¹ de As e 5,5 mg L⁻¹ de Fe;
- (E) Sem adição de As e adição de 11 mg L⁻¹ de Fe.

As concentrações desses elementos nas amostras onde não foi adicionado As e/ou Fe eram resultantes da quantidade já presente no extrato e diluída na solução. Com as soluções preparadas, análises de fluorescência foram feitas usando um espectrofluorímetro Aqualog® (Horiba) e cubetas de quartzo (1 cm), onde matrizes de excitação-emissão (EEM) foram adquiridas. As EEM foram divididas em 5 regiões baseado em CHEN *et al.* (2003).

3.2.11. Análise multivariada

Os dados foram analisados usando SOM com o propósito de investigar prováveis associações entre variáveis e amostras. Todas análises foram feitas usando o software MatLab 2015b (MathWorks, Natick, MA) e o SOM *toolbox* (*freeware*, ALHONIEMI *et al.* (2000)). Para que todas as variáveis tivessem o mesmo nível de importância, os dados foram autoescalados antes das análises. A estrutura de cada neurônio (unidade) foi hexagonal e a forma da rede foi planar. Foram testadas

arquitecturas entre 2 x 2 e 4 x 4 e a mais informativa foi escolhida. Na rede de Kohonen, as amostras em neurônios próximos ou em neurônios vizinhos são consideradas similares. Desse modo, se as amostras estão todas muito próximas, não é possível extrair informação dos mapas. Do mesmo modo, se as amostras estão muito separadas (amostras individualizadas), também não é possível extrair informação dos mapas. Isso torna imprescindível encontrar a melhor distribuição (KOWALSKI *et al.*, 2013; GONTIJO *et al.*, 2016).

3.3. Resultados e discussão

As águas do rio Selke foram as que tiveram maior condutividade ($414 \mu\text{S cm}^{-1}$) e pH (7,6). Já as amostras da Cascatinha tiveram menor condutividade (6 e $8 \mu\text{S cm}^{-1}$ nas estações seca e chuvosa, respectivamente) que as amostras coletadas na Alemanha. O menor pH foi registrado na época chuvosa, na Cascatinha. Todos os dados físico-químicos e as datas de coleta estão disponíveis na Tabela 7.

Tabela 7 – Resultados dos parâmetros físico-químicos e data de amostragem

Amostra	Data	pH	Temperatura (°C)	Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	OD (mg L^{-1})	ORP (mV)
Cascatinha (seca)	Out/2014	6,4	20,6	6	5,8	187
Cascatinha (chuva)	Fev/2014	4,9	21,8	8	ND	265
Holtemme	Out/2015	6,2	3,8	83	12,0	402
Selke	Out/2015	7,6	7,6	414	12,0	455
Warme Bode	Out/2015	6,7	2,6	170	13,5	482

Fonte: autoria própria

Considerando as análises de Al, As e Fe nos experimentos de ultrafiltração das águas dos rios analisados (Tabela 8), Selke foi a amostra que apresentou maior concentração de As total ($28,6 \pm 1,1 \mu\text{g L}^{-1}$). Porém, esse rio apresentou a menor concentração de Fe total ($115 \pm 6 \mu\text{g L}^{-1}$) e dissolvido ($19 \pm 1 \mu\text{g L}^{-1}$). Do outro lado está o rio Holtemme, que apresentou o maior teor de Fe total ($605 \pm 10 \mu\text{g L}^{-1}$) e dissolvido ($248 \pm 5 \mu\text{g L}^{-1}$). As total ficou abaixo de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ na Cascatinha, Holtemme e Warme Bode. Considerando a distribuição entre as frações, a quantidade relativa de Fe livre foi baixa em todas as amostras, o que indica que ele estava pouco biodisponível. Esses resultados mostram que a maior parte do Fe dissolvido estava na fração coloidal (FD-FL) como minerais de Fe ou como complexos com a matéria orgânica coloidal (SH). As SH também são conhecidas por manter o Fe suspenso em uma solução (RITTER *et al.*, 2006). Cerca de 83% do Fe total do rio Selke estava na fração particulada (menos móvel e biodisponível). Já a maior parte do As total nesse rio estava na fração livre ($27,5 \pm 1,0 \mu\text{g L}^{-1}$), indicando que é mais móvel e biodisponível.

Tabela 8 – Resultados de As, Al e Fe nas águas naturais dos rios estudados

Sample	As ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Fe ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
	Total*	Dissolvido	Livre	Total	Dissolvido	Livre
Cascatinha (chuva)	0,45±0,03	<0,2	<0,2	155±5	83±6	6±1
Cascatinha (seca)	0,4±0,1	0,3±0,0	<0,2	205±9	75±12	4±1
Holtemme	0,6	0,5	0,6±0,1	605±10	248±5	<10
Selke	28,6±1,1	30,1±0,5	27,5±1,0	115±6	19±1	<10
Warne Bode	<0,5	<0,5	<0,5	317±8	176±2	<10
	CO (mg L^{-1})**			Al ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
	Total	Dissolvido	Livre	Total	Dissolvido	Livre
Cascatinha (chuva)	5,4±0,1	4,7	ND**	107±6	78±7	4
Cascatinha (seca)	3,7±0,0	3,6	ND	52±12	14±3	4±1
Holtemme	7,8±0,6	7,1±0,6	1,7±0,8	203±3	149±2	<20
Selke	2,1±0,1	2,0±0,1	1,4±0,1	36±2	<20	<20
Warne Bode	4,7±0,1	3,9±0,2	1,2±0,1	66±1	<20	<20

Fonte: autoria própria

Legenda: *Total: amostra bruta (sem filtrar); Dissolvida: <0,45 μm ; Livre:<1 kDa; ** CO: carbono orgânico; ND: não determinado

Os resultados de análise elementar dos extratos de SH são mostrados na Tabela 9. Os espectros de ^{13}C RMN e os resultados das integrações são mostrados nas Figura 28 e Figura 29, respectivamente.

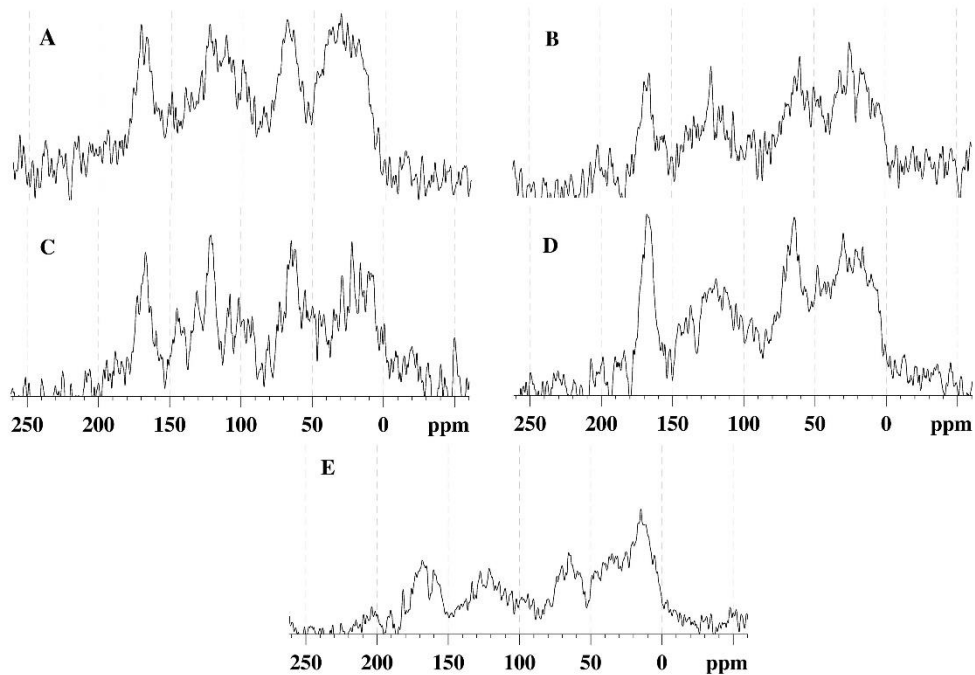
Tabela 9 – Resultados da análise elementar (livre de cinza) e propriedades ópticas e espectroscópicas dos extratos de substâncias húmicas aquáticas

Amostra	Análise elementar								Propriedades ópticas espectroscópicas			
	C (%)	H (%)	N (%)	O (%)	S (%)	H/C	C/N	O/C	E2/E3*	FI*	HIX*	β/α^*
Cascatinha (seca)	47,2	7,2	1,3	43,7	0,7	1,8	42,9	0,7	3,4	0,96	0,91	0,36
Cascatinha (chuva)	52,1	6,8	1,3	39,3	0,6	1,6	48,0	0,6	3,2	0,87	0,95	0,36
Holtemme	52,5	7,5	1,5	37,7	0,7	1,7	39,8	0,5	3,7	1,01	0,90	0,38
Selke	42,8	9,4	1,5	45,3	1,1	2,6	33,5	0,8	5,4	1,28	0,89	0,58
Warne Bode	47,5	6,6	2,3	42,8	0,8	1,7	24,1	0,7	4,5	1,02	0,94	0,44

Fonte: autoria própria

*E2= absorvância em 254 nm; E3= absorvância em 365 nm; FI= índice de fluorescência; HIX=índice de humificação; β/α =índice β/α .

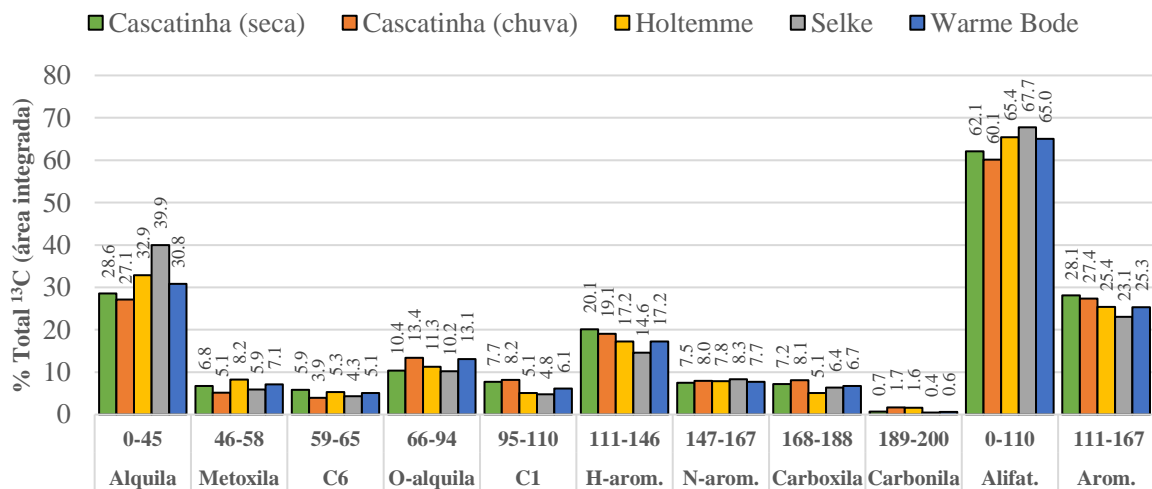
Figura 28 – ^{13}C RMN de todas as substâncias húmicas extraídas



Fonte: autoria própria

Legenda: A: Cascatinha (estação chuvosa); B: Holtemme; C: Cascatinha (estação seca); D: Warme Bode; E: Selke

Figura 29 – Valores de integração das áreas dos espectros de ^{13}C RMN das substâncias húmicas e estimativa de alifaticidade e aromaticidade



Fonte: autoria própria

Legenda: H-arom.: carbono aromático – H; N-arom.: carbono aromático – N; Alifat.: alifaticidade; Arom.: aromaticidade

O extrato do rio Selke foi o que apresentou maior alifaticidade entre todas as amostras analisadas, já que teve maior razão H/C e maior área relativa entre 0-100 ppm no espectro de ^{13}C RMN (ver Figura 29). Além disso, essa amostra teve maior porcentagem de O e S. A maior razão O/C é indicativo de uma maior quantidade de carboidratos na amostra. A amostra mais aromática foi a Cascatinha (estação seca), indicado pela maior área relativa entre 111 e 167 ppm no espectro ^{13}C RMN. Considerando somente os resultados de ^{13}C RMN, a diferença entre os valores máximo e mínimo não foi muito alta, o que pode indicar certa similaridade entre as SH extraídas, embora elas tenham sido coletadas em diferentes regiões. Selke foi a amostra com a maior diferença. Quanto a razão C/N, os resultados indicam que celulose e lignina são materiais precursores das SH extraídas (valores maiores que 20).

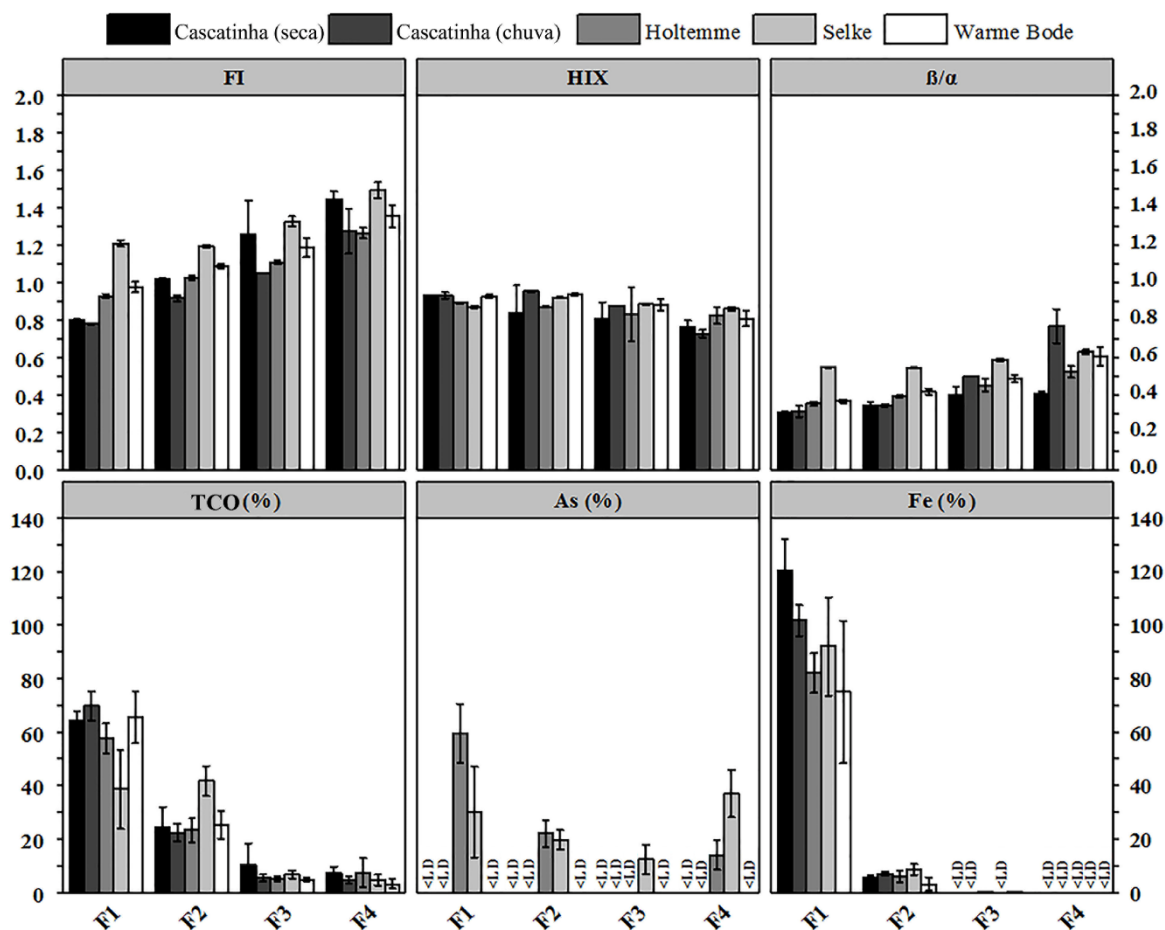
Com relação aos resultados ópticos espectroscópicos (Tabela 9), o FI das amostras variou entre 0,87 a 1,28, o que indica que todas as SH são derivadas de materiais predominantemente terrestres (plantas ou matéria orgânica do solo), o que concorda com os resultados da razão C/N, já discutida previamente. Considerando somente as amostras analisadas, a Cascatinha (estação chuvosa) foi a que teve o menor FI (0,87), sugerindo uma maior contribuição de material de origem terrestre. Do outro lado, o extrato do rio Selke apresentou o FI mais alto (1,28), o que indica uma maior contribuição de fontes microbiais considerando dentro dos extratos analisados. Os resultados do HIX foram similares e altos (0,90) para todos os extratos analisados, indicando alto grau de humificação de todas as SH. Considerando o β/α , na Cascatinha foi registrado o menor valor (0,36), sugerindo material mais decomposto. Já o extrato do Selke teve o maior valor de β/α (0,58), sugerindo material produzido mais recentemente (mais fresco).

Todos os extratos de SH tiveram valores baixos de $\delta^{13}\text{C}$ (próximos de -27 ‰) indicando uma maior contribuição terrestre de plantas C3 como material precursor (Tabela 10). O extrato que teve o valor de $\delta^{13}\text{C}$ menos negativo foi Cascatinha (estação seca) (-25,97 ‰) e o extrato do Warne Bode foi o que teve o valor mais negativo (-27,93 ‰). Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ são baixos, próximos ou menores que 3 ‰ indicando origem terrestre dos extratos e fixação de N_2 .

Tabela 10– Resultados de carbono estável e nitrogênio das substâncias húmicas extraídas

Amostra	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Cascatinha (estação seca)	-25,97	0,88
Cascatinha (estação chuvosa)	-27,71	-1,60
Holtemme	-27,32	-1,40
Selke	-27,35	3,43
Warme Bode	-27,93	1,60

A Figura 30 mostra resultados dos índices de fluorescência (FI, HIX e β/α) para as frações húmicas (F1, F2, F3 e F4), assim como a distribuição do TCO, As e Fe ao longo das frações.

Figura 30 – Resultados das análises ópticas e espectroscópica e distribuição de TCO, As e Fe para as 4 frações de substâncias húmicas

Fonte: autoria própria

Legenda: F1>10 kDa; 5 kDa<F2<10 kDa; 1 kDa<F3<5 kDa; F4<1 kDa; LD=limite de detecção.

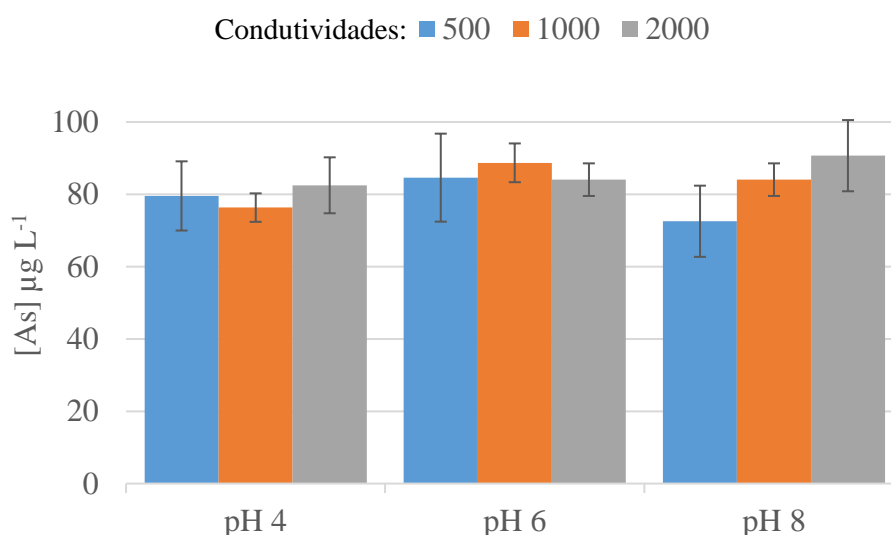
Em geral, a maior parte do TCO estava na fração F1 ($F1 > 10$ kDa), exceto para as SH do rio Selke, que teve maior parte do TCO na fração F2 (5 kDa $< F2 < 10$ kDa). As moléculas húmicas do Selke tiveram em geral menor tamanho que as demais amostras analisadas. A maior parte do Fe em todas as amostras está predominantemente na fração F1, mesmo para Selke, sugerindo que este metal tem maior tendência para ligar com moléculas maiores de SH. Esse Fe provavelmente estava complexado ou em agregados ligado as SH. Isso dá suporte ao trabalho de NAGAO *et al.* (2009) em estudo com actinídeos, onde afirmam que tamanhos moleculares maiores tem maior habilidade de complexação. Já o As, quando detectado, estava distribuído entre as frações de maior (F1) e menor tamanho molecular ($F4 < 1$ kDa). A distribuição do As provavelmente é ligada à do Fe, já que a complexação direta do As é inexpressiva. Portanto, o As na F1 estava provavelmente ligado ao Fe coloidal ou a complexos As-Fe-SH. Analisando os dados de fluorescência, as frações de maior tamanho tiveram menor FI e β/α , indicando respectivamente uma maior contribuição terrestre e material mais antigo que frações de menor tamanho. Essas menores frações tiveram maior contribuição microbiana e foram produzidas mais recentemente. Com relação ao HIX, as frações maiores tiveram maior HIX que as menores sugerindo maior grau de humificação.

A Figura 31 mostra os resultados dos testes de ultrafiltração de soluções de As na ausência de SHA para verificar uma provável retenção de As(V) no sistema (com membranas de 1 kDa de celulose regenerada) durante os testes. No pH e condutividade utilizados nos experimentos (6 e $1000 \mu\text{S cm}^{-1}$) houve retenção de 11,3% de As(V) no sistema. Essa perda pode ser atribuída a efeitos de repulsão eletrostática (Donnan Exclusion) na membrana de 1 kDa. O efeito de repulsão eletrostática ocorre quando a passagem de íons de mesma carga pela membrana é inibida. No caso do As, esse efeito pode ser observado quando o As aniônico em uma solução entra em contato com uma membrana carregada negativamente (BRANDHUBER e AMY, 2001).

Os testes foram feitos em diferentes condutividades porque a salinidade também pode influenciar na quantidade de íons que serão retidos ou não. Em testes com membranas de nanofiltração de polissulfona, por exemplo, SEIDEL, WAYPA e ELIMELECH (2001) reportaram que a rejeição de As(V) diminuiu na presença de NaCl ($10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) devido ao enfraquecimento do efeito de exclusão de *Donnan*. Eles concluíram que a medida que a concentração de sal aumenta, a rejeição de oxiânions

de As(V) diminuiu. Já em testes com As(III) a rejeição foi significativamente menor, já que o experimento foi conduzido em pH 8, onde As(III) está presente em sua forma neutra (H_3AsO_3). Porém, mesmo em outros pHs (na faixa de 4,5 a 8,5) foi constatado que a rejeição de As(III) não sofreu influência do pH. Por outro lado, em testes com o As(V), os autores observaram que com a diminuição do pH a rejeição de As(V) também diminuiu. Sendo assim, é importante salientar que a retenção de espécies iônicas é mais pronunciada em membranas com menor porosidade (SEIDEL, WAYPA e ELIMELECH, 2001).

Figura 31 – As ultrafiltrado (<1 kDa) em membranas de celulose regenerada em diferentes pH. Os resultados foram usados para avaliar a quantidade de As retido no sistema de ultrafiltração (a partir de uma solução de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As)



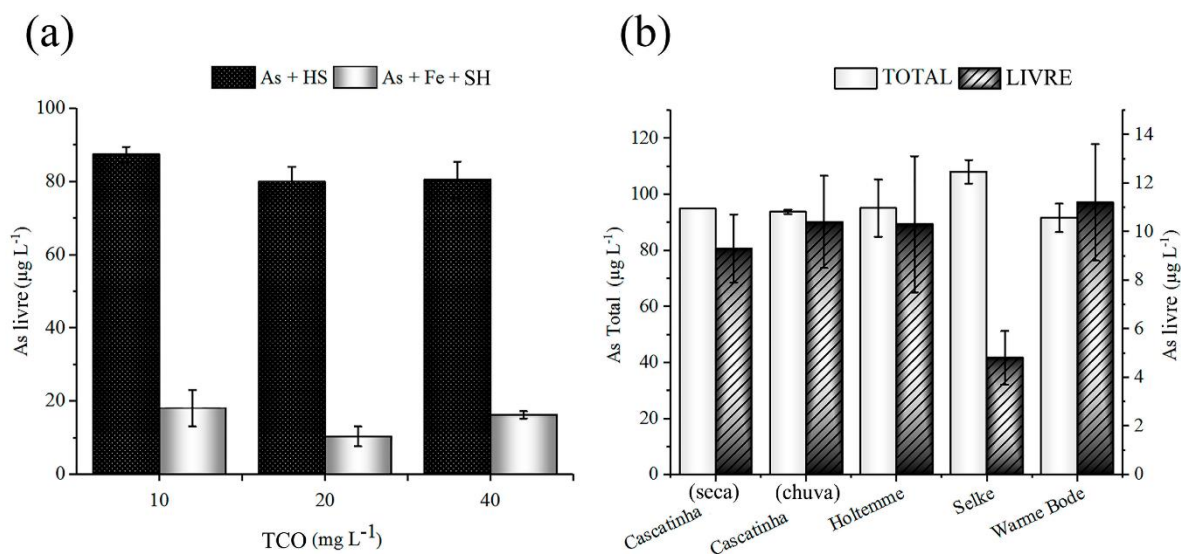
Fonte: autoria própria

Observando os resultados da Figura 31, não foi observada grande mudança na quantidade de As rejeitada nos pH 4 e 6. No pH 8 a salinidade teve um efeito maior na quantidade de As(V) retido. Além disso, a quantidade de As(V) retido em condutividade menor ($500 \mu\text{S cm}^{-1}$) nesse pH foi maior, provavelmente ligado a especiação do As, já que o As(V) é mais aniônico em pH mais altos, o que provocaria maior efeito de repulsão (com maior condutividade e efeito diminuiu). As perdas de As no sistema também podem ser por adsorção nas paredes do sistema de UFT.

A Figura 32 mostra os resultados dos testes de complexação. A Figura 32a é relacionada aos testes com extrato do rio Holtemme com a variação do TCO, com e sem adição de Fe (valores do ultrafiltrado em 1 kDa). Já a Figura 32b se refere aos

testes com os extratos de todos os rios pesquisados (valores brutos e ultrafiltrados em membranas de 1 kDa). Pôde-se observar que nas concentrações testadas o aumento do TCO não influenciou a complexação do As tanto na presença quanto na ausência de Fe (a quantidade de As livre não alterou muito com aumento do TCO). A pequena diminuição observada na quantidade de As livre em relação aos testes feitos com 10 mg L⁻¹ de TCO nos testes com e sem adição de Fe pode estar relacionado com o Fe já presente nas soluções (Fe inerente do extrato, que é mais concentrado quando o TCO é maior) e/ou ao aumento de sítios ligantes das SH com aumento da concentração de carbono. Com relação aos testes com diferentes extratos (Figura 32b) foi observado que todos os extratos tiveram comportamentos similar quanto a quantidade de As livre, exceto o extrato do Selke, onde foi encontrada menor concentração de As(V) livre no ultrafiltrado.

Figura 32 – Resultados dos testes de complexação com diferentes concentrações de carbono e diferentes extratos



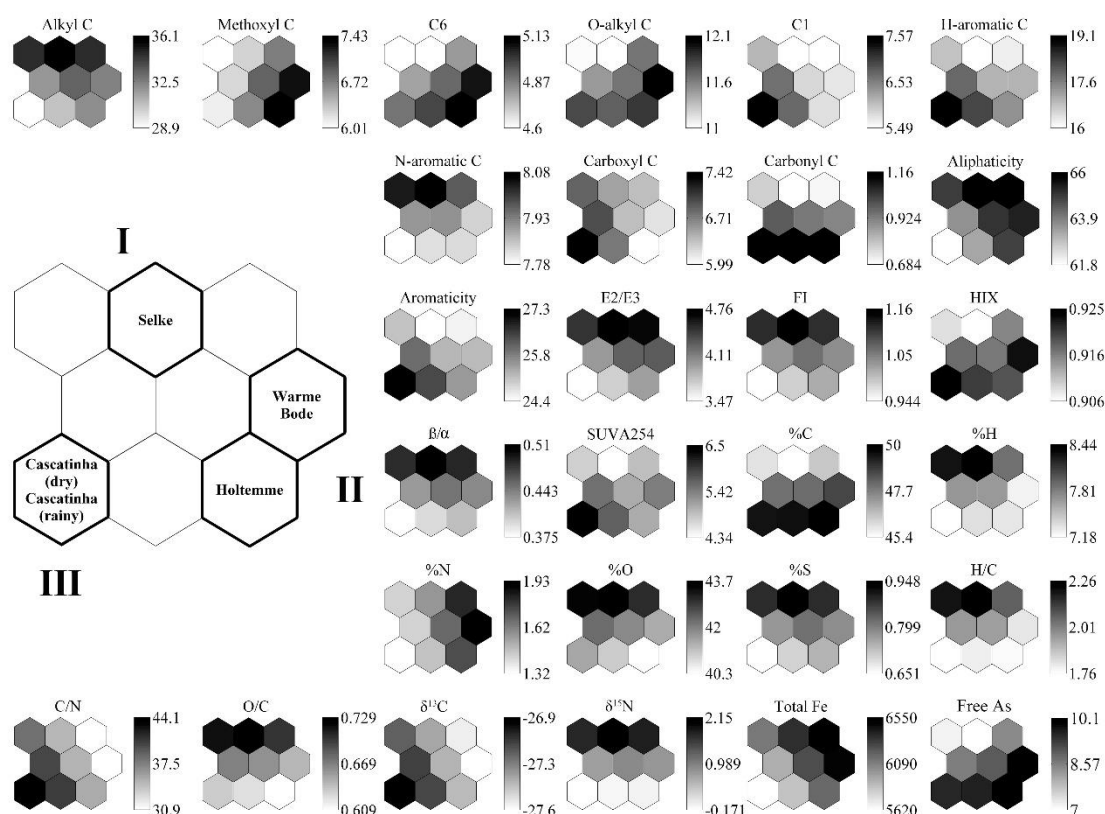
Fonte: autoria própria

Legenda O gráfico da direita (a) mostra a influência do teor de carbono orgânico (TCO, extrato do Holtemme) com e sem a adição de Fe. O gráfico da esquerda (b) mostra a influência dos diferentes tipos de extrato na complexação do As. Todos os resultados foram corrigidos em 11,3% devido a perdas no sistema de ultrafiltração. A média da concentração total de As(V) para o Holtemme foi calculada a partir da média de todos os pontos.

A primeira vista é difícil explicar o porquê das SH do rio Selke terem complexado maior quantidade de As (menor As livre medido, Figura 32b), já que os resultados indicaram que as características das amostras são similares, conforme

discutido anteriormente. Entretanto, com a análise multivariada (SOM) foi possível separar as amostras em 3 grupos distintos (I, II e III na Figura 33) de acordo com as características analisadas e explicar o motivo desse comportamento diferenciado do Selke relacionado a complexação do As.

Figura 33 – Rede neural de Kohonen com os resultados dos testes de caracterização e complexação



Fonte: autoria própria

Legenda: o mapa maior da esquerda (mapa maior) é o mapa das amostras. Os demais mapas são o mapa das variáveis. Cores mais escuras representam maior intensidade para uma dada variável. Cores brancas menor intensidade para uma dada variável.

O extrato do rio Selke pertenceu ao grupo I, que teve valores mais altos de C alquil, C aromático – N, alifaticidade, razão E2/E3, FI, β/α , %H, %O, %S, razão H/C, $\delta^{15}\text{N}$ e Fe total (ver cores mais escuras nos neurônios correspondentes do Selke no mapa de cada variável na Figura 33). Além disso, o Selke apresentou menores intensidade para as variáveis C1, C6, As livre, C metoxila, SUVA 254 e %C (ver cores mais brancas no neurônio correspondente ao Selke no mapa de cada variável na Figura 33). As SH do Holtemme e Warme Bode foram agrupadas juntas (grupo II) e foram, desse modo, consideradas similares. Esse grupo teve intensidades maiores para as variáveis C metoxila, O-alquila, HIX, %C, %N, Fe total e As livre. Ambas

amostras coletas na Cascatinha foram agrupadas juntas no mesmo neurônio (grupo III), o que mostra que a sazonalidade não teve efeito considerando as variáveis analisadas. O grupo III teve maiores valores de C1, C6, C aromático – H, carboxila, aromaticidade, HIX, SUVA254, $\delta^{13}\text{C}$, %C e As livre.

Observando o mapa das variáveis é possível explicar o porquê do Selke teve menos As livre (ou mais As complexado) que as outras amostras analisadas. Pela rede de Kohonen esse comportamento pode ser atribuído a uma maior quantidade de grupos C aromático – N e %S, já que essas variáveis estão com a intensidade mais alta na posição correspondente ao Selke na Figura 33). Grupos contendo N e S são conhecidos por poder aumentar a reatividade das SH (MLADENOV *et al.*, 2015), o que reforça as indicações da SOM. Essas interações podem incluir a formação de associações entre HS-Fe-As e/ou, em menor escala, de associações diretas entre SH-As. Um exemplo são os grupos tióis (contendo -S), que podem ligar ao As por meio de associações com o Fe ou diretamente em menor teor (CATROUILLET *et al.*, 2015; CATROUILLET *et al.*, 2016). Uma outra variável responsável pela menor quantidade de As livre no Selke foi a razão E2/E3, que indica moléculas de menor tamanho moléculas, o que foi confirmado pelos experimentos de fracionamento. O tamanho molecular é um parâmetro importante, que é capaz de controlar a reatividade de SH (BAUER e BLODAU, 2009). Porém, o achado é contrário ao trabalho de NAGAO *et al.* (2009), que afirmaram que moléculas de maior tamanho molecular tem maior habilidade de complexação. Mesmo assim, é importante considerar que moléculas de menor tamanho molecular têm maior densidade de grupos carboxilas (e talvez outros grupos) capazes de ligar as SH e ao As (BAUER e BLODAU, 2009).

Outras variáveis que também tiveram alta intensidade para o Selke foram a alifaticidade e C alquila. Entretanto, essas variáveis não contribuíram para uma maior complexação nessa amostra. O Fe total também teve alta intensidade, mas também não foi determinante, já que no Warme Bode foi medida quantidade de Fe similar ao Selke, mas o As livre medido foi similar ao das demais amostras. Todos os valores teóricos e medidos antes da ultrafiltração (1 kDa) nos experimentos de complexação são mostrados na Tabela 11. Os parâmetros FI, β/α também contribuíram para um teor maior de As(V) livre. Isso sugere que SH produzida recentemente maior contribuição de fontes microbiais tem maior habilidade de complexação.

Tabela 11 – Resultados medidos e teóricos para o TCO, As e Fe para o extrato de substâncias húmicas e as soluções preparadas para os testes de complexação

AMOSTRAS	CONCENTRAÇÃO NOS EXTRATOS*			CONCENTRAÇÕES TEÓRICAS*		
	TCO	As	Fe	TCO	As	Fe
Cascatinha (seca)	479±13	<LD	3650±354	20	100,0	5537±4
Cascatinha (chuva)	812±59	<LD	3458±11	20	100,0	5535,0±0,1
Hotemme	2028±163	37±8	43233±725	20	100,4±0,1	5932±7
Selke	1130±5	<LD	5193±771	20	100,0	5552±8
Warme Bode	887±68	<LD	23383±6716	20	100,0	5734±67
	CONCENTRAÇÕES MEDIDAS*			RECUPERAÇÃO (%)**		
Cascatinha (seca)	20	95	5540	99	95	100
Cascatinha (chuva)	19±1	94±1	5518±258	97	94	100
Hotemme	19	77	5810	94	77	98
Selke	28	108±4	6510±537	138	108	117
Warme Bode	17	92±5	6955±1549	86	92	121

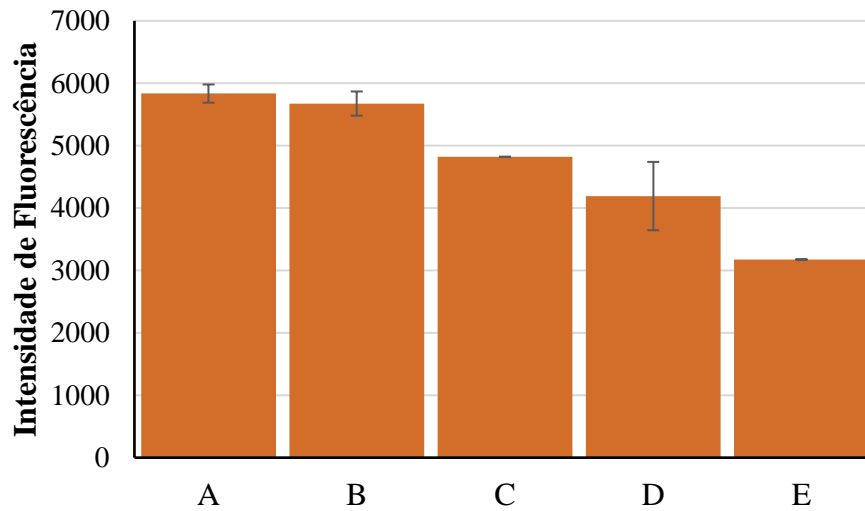
Fonte: autoria própria

*TCO medido em mg L⁻¹; As e Fe medidos em µg L⁻¹; concentrações teóricas e medidas estão relacionadas as soluções preparadas para os experimentos de complexação com adição de 5 mg L⁻¹ Fe; LD: limite de detecção.

** A recuperação está relacionada a concentração media em relação aos valores teóricos

A média de fluorescência na região tipo ácido húmico (excitação / emissão = 321-345/409-439 nm nas EEM) quase não altera quando somente As(V) (200 µg L⁻¹) é adicionado, como pode ser visto na Figura 34 (B). Quando Fe foi adicionado (Figura 34, C, D e E) a intensidade decresce substancialmente devido a efeitos quenching estático (formação de complexos) e dinâmicos (colisional). O efeito quenching também pode ser visto nas EEM na Figura 35, onde pode-se notar que quando somente As é adicionado (B) já há uma diminuição da intensidade na região tipo ácido húmico, evidenciando alguma interação entre o As e as SH e/ou entre as SH-Fe e o As (a amostra já contém Fe inerente do extrato).

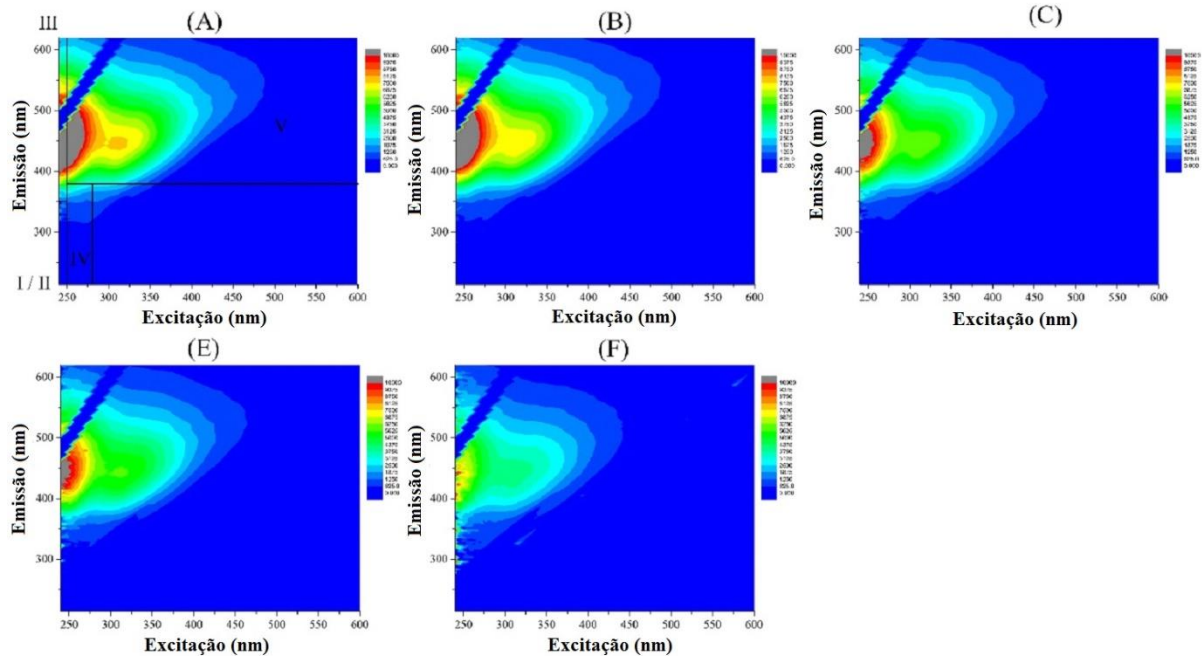
Figura 34 – Resultados médios das intensidades na região tipo ácido húmico (excitação / emissão = 321-345/409-439 nm)



Fonte: autoria própria

Legenda: todas as amostras tiveram o mesmo TCO. (A) Concentrações de As e Fe já presentes na amostra; (B) 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As e Fe originalmente presente na amostra; (C) 160 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As e 2,2 mg L^{-1} de Fe; (D) 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As e 2,2 mg L^{-1} de Fe

Figura 35 – EEM das amostras com diferentes concentrações de As e Fe (10 mg L^{-1} TCO).



Fonte: autoria própria

Legenda: (A): concentração de As e Fe já presente na amostra (sem adição); (B): 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ As e sem adição de Fe; (C): 160 $\mu\text{g L}^{-1}$ As e 2,2 mg L^{-1} Fe; (D): 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ As e 5,5 mg L^{-1} Fe; (E): sem adição de As e 11 mg L^{-1} Fe. Todas as regiões de EEM são baseadas em CHEN *et al.* (2003); regiões das EEM mostradas em (A): I/II: proteínas aromáticas simples; III: tipo subproduto microbiano; IV: tipo ácido fúlvico; V: tipo ácido húmico.

Quando os dados de campo são comparados com os dados experimentais (testes de complexação) é possível deduzir o porquê do rio Selke (amostra *in natura*) ter maior quantidade de As livre (Tabela 8), embora as suas SH complexaram mais As(V) que as outras amostras analisadas de acordo com os testes de complexação. A quantidade de Fe nesse ponto é muito baixa em relação aos demais pontos e a maior parte do Fe total é particulado (apenas $19 \mu\text{g L}^{-1}$ está dissolvido). Além disso a concentração de COD nesse ponto (e conseqüentemente de SH) é bem baixa. Essas SH (em concentrações mais altas) também seriam capazes de manter o Fe em solução e mudar o comportamento do As, especialmente sua mobilidade (BAUER e BLODAU, 2009). Portanto, a concentração de Fe e COD parecem ter sido fatores limitantes na complexação do As nas águas do rio Selke. Nos outros pontos de amostragem a quantidade de As não foi significativa, embora eles tenham tido maiores concentrações de Fe. Com relação à esses fatores limitantes (Fe e/ou COD) podem explicar a maior quantidade de As livre nos pontos estudados (S1 e S10) no capítulo anterior (GONTIJO *et al.*, 2016).

3.4. Conclusões do capítulo

- As características das SH e o Fe(III) influenciaram o comportamento do As(V) nas amostras estudadas. Os resultados sugeriram que particularmente a quantidade de grupos C aromático – N e grupos funcionais contendo S, além do tamanho molecular das SH são responsáveis por influenciar na formação de associações entre SH, Fe e As.
- A análise multivariada permitiu discriminar as amostras em três grupos e apontar as diferenças entre eles, o que não foi possível ao analisar os dados isoladamente (amostras pareciam muito semelhantes). Essa ferramenta também ajudou a explicar o porquê das SH do rio Selke terem sido capazes de complexar maior quantidade de As(V) nos testes com extrato.
- As análises de caracterização indicaram que todos os extratos tiveram predominantemente celulose e lignina (plantas clíco C₃) como material precursor. O fracionamento dos extratos mostrou que tanto o As como Fe ficam predominantemente nas frações de maior tamanho molecular (>10 kDa). As análises de fluorescência sugeriram que moléculas com maior tamanho

molecular para os extratos analisados tiveram maior contribuição terrestre como material precursor, além de um maior grau de humificação e mais antigo que materiais de menor tamanho molecular.

- O Fe provavelmente foi um fator limitante na complexação do As nos testes em águas naturais. Nos experimentos de complexação com os extratos, o TCO não influenciou na complexação do As(V). Entretanto, os resultados de campo (incluindo do capítulo anterior) indicaram que o carbono pode também ser um fator limitante na complexação quando em concentrações muito baixas, reforçando que as SH têm importante papel na dinâmica, comportamento e distribuição em sistemas aquáticos. Em concentrações um pouco mais altas (já nas concentrações testadas nesse trabalho), as SH contribuem para manter o Fe na fase coloidal, o que aumenta a distribuição e mobilidade do As.
- A rede neural de Kohonen foi uma ferramenta importante nessas investigações e pode dar suporte a estudos de biodisponibilidade e toxicidade, especialmente em regiões contaminadas ou naturalmente ricas em As e COD.

Capítulo 4 – Conclusões gerais

- A maior parte do As apareceu na fração livre e lábil nos pontos amostrados na região do QF. Isso é particularmente relevante nas águas onde a concentração do metaloide foi mais alta, já que ele é potencialmente mais biodisponível para o homem e outros seres vivos na região. Em pontos específicos o input de Fe é capaz de alterar distribuição, mobilidade e labilidade do As nesses sistemas aquáticos.
- As características das SH também podem ter importante papel na formação de associações SH-Fe-As, mas há evidências que tanto o Fe quanto as SH são fatores limitantes.
- Os testes de complexação ainda mostraram que em ambientes com concentrações de COD da ordem de 10-20 mg L⁻¹ e 5 mg L⁻¹ de Fe, a maior parte do As encontra-se na fração coloidal (e é menos biodisponível).
- As características das SH devem ser consideradas nos estudos envolvendo o As, já que os resultados sugeriram que a presença de S e grupos contendo N podem aumentar a complexação do As por SH na presença de Fe.
- Ao contrário do As, o Al e o Fe aparecem predominantemente nas frações particulada e coloidal. Na fração coloidal esses metais estão especialmente ligados as SH e são mais inertes e menos biodisponíveis.
- Os resultados de caracterização das SH mostraram que a maior parte do Fe está concentrado nas frações de maior massa molecular. Além disso, a distribuição do As, quando presente, estava ligada especialmente a distribuição do Fe.

REFERÊNCIAS

ALHONIEMI, E.; HIMBERG, J.; PARHANKANGAS, J.; VESANTO, J. **SOM Toolbox 2000**.

ALLARD, T.; MENGUY, N.; SALOMON, J.; CALLIGARO, T.; WEBER, T.; CALAS, G.; BENEDETTI, M. F. Revealing forms of iron in river-borne material from major tropical rivers of the Amazon Basin (Brazil). **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 68, n. 14, p. 3079-3094, 2004.

AMON, R. M. W.; MEON, B. The biogeochemistry of dissolved organic matter and nutrients in two large Arctic estuaries and potential implications for our understanding of the Arctic Ocean system. **Marine Chemistry**, v. 92, n. 1-4, p. 311-330, 2004.

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

BAUER, M.; BLODAU, C. Arsenic distribution in the dissolved, colloidal and particulate size fraction of experimental solutions rich in dissolved organic matter and ferric iron. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 73, n. 3, p. 529-542, 2009.

BORBA, R. P.; FIGUEIREDO, B. R.; MATSCHULLAT, J. Geochemical distribution of arsenic in waters, sediments and weathered gold mineralized rocks from Iron Quadrangle, Brazil. **Environmental Geology**, v. 44, n. 1, p. 39-52, 2003.

BORBA, R. P.; FIGUEIREDO, B. R.; RAWLINS, B.; MATSCHULLAT, J. Arsenic in water and sediment in the Iron Quadrangle, State of Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 30, n. 3, p. 558-561, 2000.

BRANDHUBER, P.; AMY, G. Arsenic removal by a charged ultrafiltration membrane - influences of membrane operating conditions and water quality on arsenic rejection. **Desalination**, v. 140, n. 1, p. 1-14, 2001.

BRASIL. **Resolução Nº 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências: CONAMA, 2005.

_____. **Portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

BUFFLE, J. **Complexation Reactions in Aquatic Systems: An Analytical Approach**. Ellis Horwood Ltd, 1991. 692 p. ISBN 978-0131563162.

BUNDSCHUH, J.; ARMIENTA, M. A.; BIRKLE, P.; BHATTACHARYA, P.; MATSCHULLAT, J.; MUKHERJEE, A. B. **Natural Arsenic in Groundwaters of Latin America**. 2009. 742 p.

BUSCHMANN, J.; KAPPELER, A.; LINDAUER, U.; KISTLER, D.; BERG, M.; SIGG, L. Arsenite and arsenate binding to dissolved humic acids: Influence of pH, type of humic acid, and aluminum. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 19, p. 6015-6020, 2006.

BUSCHMANN, J.; KAPPELER, A.; LINDAUER, U.; KISTLER, D.; BERG, M.; SIGG, L. Arsenite and Arsenate Binding to Dissolved Humic Acids: Influence of pH, Type of Humic Acid, and Aluminum. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 19, p. 6015-6020, 2006.

CATROUILLET, C.; DAVRANCHE, M.; DIA, A.; BOUHNİK-LE COZ, M.; PÉDROT, M.; MARSAC, R.; GRUAU, G. Thiol groups controls on arsenite binding by organic matter: New experimental and modeling evidence. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 460, p. 310-320, 2015.

CATROUILLET, C.; DAVRANCHE, M.; DIA, A.; COZ, M. B. L.; DEMANGEAT, E.; GRUAU, G. Does As(III) interact with Fe(II), Fe(III) and organic matter through ternary complexes? **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 470, p. 153-161, 2016.

CHATTERJEE, A.; DAS, D.; MANDAL, B. K.; CHOWDHURY, T. R.; SAMANTA, G.; CHAKRABORTI, D. Arsenic in ground water in six districts of West Bengal, India: the biggest arsenic calamity in the world. Part I. Arsenic species in drinking water and urine of the affected people. **Analyst**, v. 120, n. 3, p. 643-650, 1995.

CHEN, W.; WESTERHOFF, P.; LEENHEER, J. A.; BOOKSH, K. Fluorescence Excitation–Emission Matrix Regional Integration to Quantify Spectra for Dissolved Organic Matter. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 24, p. 5701-5710, 2003.

CHOU, S.; HARPER, C.; INGERMAN, L.; LLADOS, F.; COLMAN, J.; CHAPPELL, L.; OSIER, M.; ODIN, M.; SAGE, G. **Toxicological Profile for Arsenic**. U.S Department of Health and Human Services. Atlanta, Georgia, p.500. 2007

CRAVEIRO, A. C. S. **Análise geoquímica da água e das relações entre carbono orgânico dissolvido (COD) e elementos metálicos em lagoas, brejos e córregos no noroeste, leste e sudeste do Quadrilátero Ferrífero/MG**. 2011. 102 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). UFOP, Ouro Preto.

DA SILVA, G. A.; AUGUSTO, F.; POPPI, R. J. Exploratory analysis of the volatile profile of beers by HS–SPME–GC. **Food Chemistry**, v. 111, n. 4, p. 1057-1063, 2008.

DAS, D.; CHATTERJEE, A.; MANDAL, B. K.; SAMANTA, G.; CHAKRABORTI, D.; CHANDA, B. Arsenic in ground water in six districts of West Bengal, India: the biggest arsenic calamity in the world. Part 2. Arsenic concentration in drinking water, hair, nails, urine, skin-scale and liver tissue (biopsy) of the affected people. **Analyst**, v. 120, n. 3, p. 917-924, 1995.

DE OLIVEIRA, A. P.; VILLA, R. D.; GOVEIA, D.; LOBO, F. A.; ROSA, A. H. Direct Determination of Cu, Cd, Ni and Pb in Aquatic Humic Substances by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. **Current Analytical Chemistry**, v. 7, n. 3, p. 220-224, 2011.

DE OLIVEIRA, L. K.; MELO, C. A.; GOVEIA, D.; LOBO, F. A.; ARMIENTA HERNÁNDEZ, M. A.; FRACETO, L. F.; ROSA, A. H. Adsorption/desorption of arsenic by tropical peat: influence of organic matter, iron and aluminium. **Environmental Technology**, v. 36, n. 2, p. 149-159, 2015.

DESCHAMPS, E.; CIMINELLI, V.; LANGE, F.; MATSCHULLAT, J.; RAUE, B.; SCHMIDT, H. Soil and sediment geochemistry of the iron quadrangle, Brazil the case of arsenic. **Journal of Soils and Sediments**, v. 2, n. 4, p. 216-222, 2002.

DGT RESEARCH. Technical documentation: DGT – for measurements in waters, soils and sediments. Lancaster, 2014. Disponível em: < <http://www.dgtresearch.com/dgtresearch/dgtresearch.pdf> >. Acesso em: mai. 2014.

FERNANDES, A. N. **Caracterização química e reatividade de substâncias húmicas, solos e turfas**. 2007. 127 p. (Doutorado). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

FORSBERG, J.; DAHLQVIST, R.; GELTING-NYSTROM, J.; INGRI, J. Trace metal speciation in brackish water using diffusive gradients in thin films and ultrafiltration: Comparison of techniques. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 12, p. 3901-3905, 2006.

GONTIJO, E. S. J.; OLIVEIRA, F. S. D.; FERNANDES, M. L.; SILVA, G. A. D.; ROESER, H. M. P.; FRIESE, K. Application of a multivariate exploratory analysis technique in the study of dissolved organic matter and metal ions in waters from the eastern quadrilátero ferrífero, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, p. 208-218, 2014.

GONTIJO, E. S. J.; WATANABE, C. H.; MONTEIRO, A. S. C.; TONELLO, P. S.; DA SILVA, G. A.; FRIESE, K.; ROESER, H. M. P.; ROSA, A. H. Distribution and bioavailability of arsenic in natural waters of a mining area studied by ultrafiltration and diffusive gradients in thin films. **Chemosphere**, v. 164, p. 290-298, 2016.

GOVEIA, D.; LOBO, F. A.; BURBA, P.; FRACETO, L. F.; DIAS FILHO, N. L.; ROSA, A. H. Approach combining on-line metal exchange and tangential-flow ultrafiltration for in-situ characterization of metal species in humic hydrocolloids. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 397, n. 2, p. 851-860, 2010.

GREENBERG, A. E.; CLERESCI, L. S.; EATON, A. D., Eds. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington, D.C.: American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation, p.1200, 21^a ed. 2005.

HANSEN, A. M.; KRAUS, T. E. C.; PELLERIN, B. A.; FLECK, J. A.; DOWNING, B. D.; BERGAMASCHI, B. A. Optical properties of dissolved organic matter (DOM):

Effects of biological and photolytic degradation. **Limnology and Oceanography**, v. 61, n. 3, p. 1015-1032, 2016.

HARRISON, R. M. **Understanding Our Environment: An Introduction to Environmental Chemistry and Pollution**. 3^a ed. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 1999. 463 ISBN 0-85404-584-8.

HELMS, J. R.; STUBBINS, A.; RITCHIE, J. D.; MINOR, E. C.; KIEBER, D. J.; MOPPER, K. Absorption spectral slopes and slope ratios as indicators of molecular weight, source, and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter. **Limnology and Oceanography**, v. 53, n. 3, p. 955-969, 2008.

HERZSPRUNG, P.; OSTERLOH, K.; VON TÜMPLING, W.; HARIR, M.; HERTKORN, N.; SCHMITT-KOPPLIN, P.; MEISSNER, R.; BERNSDORF, S.; FRIESE, K. Differences in DOM of rewetted and natural peatlands – Results from high-field FT-ICR-MS and bulk optical parameters. **Science of The Total Environment**, v. 586, p. 770-781, 2017.

HESSEN, D. O.; TRANVIK, L. J. **Aquatic Humic Substances: Ecology and Biogeochemistry**. Berlin: 1998. 346 p. ISBN 978-3-540-63910-7.

IHSS. Isolation of IHSS Aquatic Humic and Fulvic Acids. 2014. Disponível em: < <http://www.humicsubstances.org/aquaticchafa.html> >. Acesso em: jul. 2015.

JANOS, P. Separation methods in the chemistry of humic substances. **Journal of Chromatography A**, v. 983, n. 1-2, p. 1-18, 2003.

KAEDING, J. W. Stumm und J. J. Morgan: Aquatic Chemistry An Introduction Emphasizing Chemical Equilibria in Natural Waters. New York, London, Sydney, Toronto, Wiley-Interscience, 1970, 583 S., zahlr. Abb. und Tab. **Acta hydrochimica et hydrobiologica**, v. 1, n. 1, p. 117-117, 1973.

KAMJUNKE, N.; BÜTTNER, O.; JÄGER, C. G.; MARCUS, H.; VON TÜMPLING, W.; HALBEDEL, S.; NORF, H.; BRAUNS, M.; BABOROWSKI, M.; WILD, R.; BORCHARDT, D.; WEITERE, M. Biogeochemical patterns in a river network along a land use gradient. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 11, p. 9221-9236, 2013.

KENDALL, C. Chapter 16 - Tracing Nitrogen Sources and Cycling in Catchments. In: (Ed.). **Isotope Tracers in Catchment Hydrology**. Amsterdam: Elsevier, 1998. p.519-576. ISBN 978-0-444-81546-0.

KOWALSKI, C. H.; DA SILVA, G. A.; GODOY, H. T.; POPPI, R. J.; AUGUSTO, F. Application of Kohonen neural network for evaluation of the contamination of Brazilian breast milk with polychlorinated biphenyls. **Talanta**, v. 116, p. 315-321, 2013.

LENOBLE, V.; DANG, D. H.; LOUSTAU CAZALET, M.; MOUNIER, S.; PFEIFER, H. R.; GARNIER, C. Evaluation and modelling of dissolved organic matter reactivity

toward AsIII and AsV – Implication in environmental arsenic speciation. **Talanta**, v. 134, p. 530-537, 2015.

LIU, G. L.; FERNANDEZ, A.; CAI, Y. Complexation of Arsenite with Humic Acid in the Presence of Ferric Iron. **Environmental Science & Technology**, v. 45, n. 8, p. 3210-3216, 2011.

LIU, R.; LEAD, J. R.; ZHANG, H. Combining cross flow ultrafiltration and diffusion gradients in thin-films approaches to determine trace metal speciation in freshwaters. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 109, p. 14-26, 2013.

MANAHAN, S. E. **Environmental chemistry**. 7^a ed. Lewis Publishers, 2000. 898 p. ISBN 1-56670-492-8.

MANCIULEA, A.; BAKER, A.; LEAD, J. R. A fluorescence quenching study of the interaction of Suwannee River fulvic acid with iron oxide nanoparticles. **Chemosphere**, v. 76, n. 8, p. 1023-1027, 2009.

MARQUES, E. D. **Impactos da mineração de areia na bacia sedimentar de Sepetiba, RJ: Estudos de suas implicações sobre as águas do aquífero Piranema**. 2010. 161 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal Fluminense, Niterói.

MATSCHULLAT, J. Arsenic in the geosphere - a review. **Science of the Total Environment**, v. 249, n. 1-3, p. 297-312, 2000.

MATSCHULLAT, J.; BORBA, R. P.; DESCHAMPS, E.; FIGUEIREDO, B. R.; GABRIO, T.; SCHWENK, M. Human and environmental contamination in the Iron Quadrangle, Brazil. **Applied Geochemistry**, v. 15, n. 2, p. 181-190, 2000.

MCDONALD, S.; BISHOP, A. G.; PRENZLER, P. D.; ROBARDS, K. Analytical chemistry of freshwater humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 527, n. 2, p. 105-124, 2004.

MCKNIGHT, D. M.; BOYER, E. W.; WESTERHOFF, P. K.; DORAN, P. T.; KULBE, T.; ANDERSEN, D. T. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. **Limnology and Oceanography**, v. 46, n. 1, p. 38-48, 2001.

MIKUTTA, C.; KRETZSCHMAR, R. Spectroscopic Evidence for Ternary Complex Formation between Arsenate and Ferric Iron Complexes of Humic Substances. **Environmental Science & Technology**, v. 45, n. 22, p. 9550-9557, 2011.

MLADENOV, N.; ZHENG, Y.; SIMONE, B.; BILINSKI, T. M.; MCKNIGHT, D. M.; NEMERGUT, D.; RADLOFF, K. A.; RAHMAN, M. M.; AHMED, K. M. Dissolved Organic Matter Quality in a Shallow Aquifer of Bangladesh: Implications for Arsenic Mobility. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 18, p. 10815-10824, 2015.

NAGAO, S.; AOYAMA, M.; WATANABE, A.; TANAKA, T. Complexation of Am with size-fractionated soil humic acids. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 347, n. 1–3, p. 239-244, 2009.

NG, J. C.; WANG, J.; SHRAIM, A. A global health problem caused by arsenic from natural sources. **Chemosphere**, v. 52, n. 9, p. 1353-1359, 2003.

OHNO, T. Fluorescence Inner-Filtering Correction for Determining the Humification Index of Dissolved Organic Matter. **Environmental Science & Technology**, v. 36, n. 4, p. 742-746, 2002.

PALMIERI, H. E. L. **Distribuição, especiação e transferências de Hg e As para a biota em áreas do sudeste do Quadrilátero Ferrífero, MG**. 2006. 172 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Ouro Preto

PANTHER, J. G.; STILLWELL, K. P.; POWELL, K. J.; DOWNARD, A. J. Development and application of the diffusive gradients in thin films technique for the measurement of total dissolved inorganic arsenic in waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 622, n. 1–2, p. 133-142, 2008.

PANTHER, J. G.; TEASDALE, P. R.; BENNETT, W. W.; WELSH, D. T.; ZHAO, H. Comparing dissolved reactive phosphorus measured by DGT with ferrihydrite and titanium dioxide adsorbents: Anionic interferences, adsorbent capacity and deployment time. **Analytica Chimica Acta**, v. 698, n. 1–2, p. 20-26, 2011.

RAWLINS, B. G.; WILLIAMS, T. M.; BREWARD, N.; FERPOZZI, L.; FIGUEIREDO, B.; BORBA, R. **Preliminary Investigation of Mining-Related Arsenic Contamination in the Provinces of Mendoza and San Juan (Argentina) and Minas Gerais State (Brazil)**. British Geological Survey. Keyworth, Nottingham, United Kingdom, p.25. 1997

REDMAN, A. D.; MACALADY, D. L.; AHMANN, D. Natural organic matter affects arsenic speciation and sorption onto hematite. **Environmental Science & Technology**, v. 36, n. 13, p. 2889-2896, 2002.

RITTER, K.; AIKEN, G. R.; RANVILLE, J. F.; BAUER, M.; MACALADY, D. L. Evidence for the aquatic binding of arsenate by natural organic matter-suspended Fe(III). **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 17, p. 5380-5387, 2006.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. **Substâncias húmicas aquáticas: interação com espécies metálicas**. 1. São Paulo: Editora Unesp, 2003. 120 p. ISBN 85-7139-474-1.

ROCHA, J. C.; SARGENTINI JUNIOR, É.; ZARA, L. F.; ROSA, A. H.; DOS 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, n. 3, p. 551-559, 2000.

RODRÍGUEZ-MURILLO, J. C.; ALMENDROS, G.; KNICKER, H. Wetland soil organic matter composition in a Mediterranean semiarid wetland (Las Tablas de Daimiel,

Central Spain): Insight into different carbon sequestration pathways. **Organic Geochemistry**, v. 42, n. 7, p. 762-773, 2011.

ROESER, H. M. P.; FRIESE, K. **Substâncias Húmicas Aquáticas e elementos metálicos em águas da Serra do Caraça**. Atibaia: XI CBGq, Atas, CD-ROM 2007.

ROESER, H. M. P.; ROESER, P. A. O Quadrilátero Ferrífero - MG, Brasil: Aspectos sobre sua história, seus recursos minerais e problemas ambientais relacionados. **Geonomos**, v. 18, n. 1, p. 34-37, 2010. ISSN 0104-4486.

ROMÃO, L. P. C.; CASTRO, G. R.; ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; PADILHA, P. M.; SILVA, H. C. Tangential-flow ultrafiltration: a versatile methodology for determination of complexation parameters in refractory organic matter from Brazilian water and soil samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 375, n. 8, p. 1097-1100, 2003.

ROSA, A. H.; DE OLIVEIRA, L. C.; BELLIN, I. C.; ROCHA, J. C.; ROMAO, 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, 2005.

SEIDEL, A.; WAYPA, J. J.; ELIMELECH, M. Role of charge (Donnan) exclusion in removal of arsenic from water by a negatively charged porous nanofiltration membrane. **Environmental Engineering Science**, v. 18, n. 2, p. 105-113, 2001.

SENESI, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. **Analytica Chimica Acta**, v. 232, p. 77-106, 1990.

SHARMA, P.; OFNER, J.; KAPPLER, A. Formation of Binary and Ternary Colloids and Dissolved Complexes of Organic Matter, Fe and As. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 12, p. 4479-4485, 2010.

SILVA, S. S. **Estudos sobre a relação entre o carbono orgânico dissolvido e elementos metálicos maiores e traços em águas do leste do Quadrilátero Ferrífero, MG**. 2010. 78 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto.

SMEDLEY, P. L.; KINNIBURGH, D. G. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. **Applied Geochemistry**, v. 17, n. 5, p. 517-568, 2002.

STEINBERG, C. **Ecology of Humic Substances in Freshwaters**. Berlin: Springer-Verlag, 2003. 440 p. ISBN 978-3-540-43922-6.

SUNDMAN, A.; KARLSSON, T.; SJOBERG, S.; PERSSON, P. Complexation and precipitation reactions in the ternary As(V)-Fe(III)-OM (organic matter) system. **Geochimica Et Cosmochimica Acta**, v. 145, p. 297-314, 2014.

THANABALASINGAM, P.; PICKERING, W. F. Arsenic sorption by humic acids. **Environmental Pollution Series B, Chemical and Physical**, v. 12, n. 3, p. 233-246, 1986.

THURMAN, E. M.; MALCOLM, R. L. Preparative Isolation of Aquatic Humic Substances. **Environmental Science & Technology**, v. 15, n. 4, p. 463-466, 1981.

TONELLO, P. S. **Uso das técnicas de difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT) e ultrafiltração com fluxo tangencial no estudo da labilidade de Al (III) e Cu(II) em sistemas aquáticos**. 2009. 117 p. Tese (Doutorado em Química). Departamento de Química, UNESP, Araraquara.

TONELLO, P. S.; ROSA, A. H.; ABREU JR, C. H.; MENEGÁRIO, A. A. Use of diffusive gradients in thin films and tangential flow ultrafiltration for fractionation of Al(III) and Cu(II) in organic-rich river waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 598, n. 1, p. 162-168, 2007.

USEPA. **Method 3005A: Acid Digestion of Waters for Total Recoverable or Dissolved Metals for Analysis by Flaa or ICP Spectroscopy**. p.5. 1992

VARCJAO, E. V. V.; BELLATO, C. R.; FONTES, M. P. F.; MELLO, J. W. V. Arsenic and trace metals in river water and sediments from the southeast portion of the Iron Quadrangle, Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 172, n. 1-4, p. 631-642, 2011.

VASYUKOVA, E. V.; POKROVSKY, O. S.; VIERS, J.; OLIVA, P.; DUPRÉ, B.; MARTIN, F.; CANDAUDAP, F. Trace elements in organic- and iron-rich surficial fluids of the boreal zone: Assessing colloidal forms via dialysis and ultrafiltration. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 74, n. 2, p. 449-468, 2010.

WAGNER, S.; JAFFÉ, R.; CAWLEY, K.; DITTMAR, T.; STUBBINS, A. Associations Between the Molecular and Optical Properties of Dissolved Organic Matter in the Florida Everglades, a Model Coastal Wetland System. **Frontiers in Chemistry**, v. 3, n. 66, 2015.

WARWICK, P.; INAM, E.; EVANS, N. Arsenic's interaction with humic acid. **Environmental Chemistry**, v. 2, n. 2, p. 119-124, 2005.

WEN, L.-S.; SANTSCHI, P. H.; GILL, G. A.; PATERNOSTRO, C. L.; LEHMAN, R. D. Colloidal and Particulate Silver in River and Estuarine Waters of Texas. **Environmental Science & Technology**, v. 31, n. 3, p. 723-731, 1997.

WHO. **Guidelines for Drinking-water Quality**. 4^a ed.. 2011. 541 p. ISBN 978 92 4 154815 1.

ZHANG, H.; DAVISON, W. PERFORMANCE-CHARACTERISTICS OF DIFFUSION GRADIENTS IN THIN-FILMS FOR THE IN-SITU MEASUREMENT OF TRACE-METALS IN AQUEOUS-SOLUTION. **Analytical Chemistry**, v. 67, n. 19, p. 3391-3400, 1995.

ZHANG, H.; DAVISON, W. Use of diffusive gradients in thin-films for studies of chemical speciation and bioavailability. **Environmental Chemistry**, v. 12, n. 2, p. 85-101, 2015.

ZHANG, H.; DAVISON, W.; GADI, R.; KOBAYASHI, T. In situ measurement of dissolved phosphorus in natural waters using DGT. **Analytica Chimica Acta**, v. 370, n. 1, p. 29-38, 1998.

ZHAO, L.; XIAO, H.; CHENG, G.; LIU, X.; YANG, Q.; YIN, L.; LI, C. Correlation between $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in C4 and C3 plants of natural and artificial sand-binding microhabitats in the Tengger Desert of China. **Ecological Informatics**, v. 5, n. 3, p. 177-186, 2010.