



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

Isabela Carreira Constantino

Caracterização da matéria orgânica de rios da Amazônia:

Black Carbon, substâncias húmicas e labilidade

São José do Rio Preto
2019

Isabela Carreira Constantino

Caracterização da matéria orgânica de rios da Amazônia:

Black Carbon, substâncias húmicas e labilidade

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química, junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP – Proc. 15/22954-1 e 18/15733-7
CAPES

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia Cristina Bisinoti
Co-orientador: Prof. Dr. Altair Benedito Moreira

São José do Rio Preto
2019

C758c Constantino, Isabela Carreira

Caracterização da matéria orgânica de rios da Amazônia : black carbon, substâncias húmicas e labilidade / Isabela Carreira Constantino. -- São José do Rio Preto, 2019

115 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Márcia Cristina Bisinoti

Coorientador: Altair Benedito Moreira

1. química ambiental. 2. rios. 3. qualidade da água. 4. substâncias húmicas. 5. metais. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Isabela Carreira Constantino

Caracterização da matéria orgânica de rios da Amazônia:

Black Carbon, substâncias húmicas e labilidade

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química, junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP – Proc. 15/22954-1 e 18/15733-7
CAPES

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Altair Benedito Moreira
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Co-orientador

Prof. Dr. Maurício Boscolo
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Prof. Dr. Mario Henrique Gonzalez
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Prof^a. Dr^a. Cassiana Carolina Montagner Raimundo
UNICAMP - Campinas

Prof. Dr. Odair Pastor Ferreira
UFC – Fortaleza

São José do Rio Preto
07 de junho de 2019

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço à Deus, pela sua presença em minha vida, por todas as oportunidades que me fizeram caminhar até aqui, por me dar esperança e força nos momentos necessários.

À minha orientadora e professora Dr^a. Márcia C. Bisinoti dedico minha admiração e agradeço por todas as oportunidades ao longo desses anos de trabalho, pelo incentivo, paciência, ensinamentos e orientação desde a iniciação científica.

Ao professor Altair B. Moreira pela amizade e incentivo ao longo dos anos.

Ao meu querido companheiro Daniel e a minha família, pelo apoio e presença em minha vida, em especial aos meus pais, meu irmão e aos meus tios que sempre me ajudaram e incentivaram a caminhar até esse objetivo.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Processos 15/22954-1 e 18/15733-7), aos quais agradeço.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) pela concessão da bolsa para realização de estágio no exterior (modalidade doutorado sanduíche PDSE – Processo 88881.134799/2016-01) na Universidade de Amsterdã (UvA).

Ao Prof. Dr. Ézio Sargentini Jr. (INPA-Manaus) pela amostra de substância húmica aquática extraída do rio Negro (AM) e pelo auxílio com os equipamentos de coleta de sedimentos.

Ao auxílio imprescindível dos professores Dr^a. Fabiana M. M. Paschoal e Dr. Wander Trindade (UFAM) que me receberam em Itacoatiara-AM e auxiliaram em toda a logística e coleta das amostras.

Ao Prof. Dr. John R. Parsons por ter aceito me receber em seu laboratório na Universidade de Amsterdã, o qual foi um período de muito aprendizado profissional e crescimento pessoal.

Ao técnico e amigo Ms. Rick Helmus da UvA que meu auxiliou com muita paciência nos seis meses do estágio no exterior.

À amiga Dr^a. Amanda M. Tadini pela amizade e auxílio desde o início deste trabalho, principalmente na análise CP/PARAFAC.

Ao amigo Lucas R. Bento pela parceria nos trabalhos ao longo desses anos.

Ao Prof. Dr. Stephane Mounier pela colaboração no tratamento CP/PARAFAC e ensaios de complexação.

Ao Prof. Dr. Marinônio L. Cornélio deixo meu sincero agradecimento pela colaboração na análise de correlação bidimensional.

Ao Prof. Dr. Maurício Boscolo por toda a ajuda com as adaptações necessárias para as análises de infravermelho e uso do seu laboratório sempre que foi necessário.

Ao Prof. Dr. Riccardo Spaccini pelas análises de ^{13}C RMN na Universidade de Napoli.

Aos alunos de iniciação científica que pude co-orientar durante esses anos, que também me auxiliaram no decorrer do trabalho, em especial a Juliana G. Viana, Priscila Ananias, Grazielly C. Teodoro, Carlos E. Piovezan e Stefani Toschi, sempre dispostos a ajudar. E também a aluna Giovanna P. Gama do Câmpus de Itacoatiara-AM da UFAM pelo auxílio na extração das SHA.

À técnica e amiga Daniela Oliveira pelo auxílio. Aos meus amigos do laboratório LECA nesses anos: Camila Melo, Lucas Bento, Renata Júlio, Márcio Justi, Ariane Maziero, Laís Fregolente e Leila Soares muito obrigada pelos bons momentos juntos, por todos os aprendizados que nossa convivência trouxeram, por sempre me ajudarem quando necessário; e também ao Erick, Felipe, Isabelle, João Vitor e Vinícius agradeço pela amizade e bons momentos juntos.

E a todos os meus amigos, em especial a minhas amigas desde a graduação, Mariana Bastos e Anna Carolina Alves, e também Camila Melo e Daniely Reis por se fazerem presentes em minha vida, pela amizade, conselhos ao longo dos anos.

Enfim, gostaria de agradecer a todos que durante esses anos participaram de minha vida e que de alguma forma contribuíram para que eu alcançasse este objetivo, muito obrigada!

Resumo

O bioma Amazônico é mundialmente conhecido pela sua importância nos ciclos climáticos, biodiversidade e extensão. A área explorada nesse estudo compreendeu a região dos municípios de Itacoatiara, Maués e Manaus, situados no estado do Amazonas, sendo esses dois primeiros pouco explorados. Sabe-se da importância da matéria orgânica natural (MON) na dinâmica de outras espécies, sendo essa formada por estruturas definidas ou indefinidas, com diferentes graus de labilidade frente a outras espécies, processos fotoquímicos e microbiológicos. Esse trabalho teve como foco a caracterização da matéria orgânica dissolvida (MOD) e o levantamento de estoque de metais em rios de águas brancas (AgB) e pretas (AgP) na região Central Amazônica. A amostragem de água representativas das estações seca e chuvosa e 9 de sedimentos foi realizada em um total de 15 locais. Nas amostras de água foram determinados os elementos totais e dissolvidos (Al, Cu, Cd, Cr, Fe, Pb e Ni). Estudos da labilidade e recalcitrância em termos de reatividade da MOD aquática frente a ação do H_2O_2 , bem como a quantificação do *black carbon* dissolvido (DBC) (método BPCA) em rios de AgP e AgB da região, também foram realizados. Além disso, foram extraídas e caracterizadas as substâncias húmicas aquáticas (SHA) dos rios Negro (RN) e Carú (RC) e as suas interações com os cátions Al(III), Fe(III) e Cu(II) foram avaliadas. Nos sedimentos foram determinados pH, análise granulométrica e metais (Pb, Cr, Ni, Al, Fe, Cu e Zn). Concluiu-se que para águas e sedimentos, a concentração de metais esteve na sua maioria em conformidade com a legislação brasileira. Sobre a MOD, em ambos os períodos, houve o predomínio da fração recalcitrante. Entretanto, destaca-se na estação seca que o conteúdo da fração lábil foi maior para os rios de AgP e na chuvosa o contrário foi observado. A análise da fração cromófora (MODC) permitiu distinguir efeitos sazonais. Na estação seca, fluoróforos do tipo húmico, C1 e C2 (autóctone e alóctone) e tipo proteico (C3) foram identificados (CP/PARAFAC). A fração fluorescente esteve relacionada ao conteúdo lábil na seca, sendo mais reativa, porém, não exibiu mesma relação no período chuvoso, sendo caracterizada pela presença de fluoróforos do tipo húmico alóctone (C4 e C5). Pela análise de UV/Vis foi observado aumento $SUVA_{254}$ entre período de seca e chuva relacionado com o incremento de MOD, porém, foram observados decréscimos de $SUVA_{254}$ para todas as amostras, indicando mudanças na fração MODC durante a cinética. A análise dos BPCA permitiu a determinação do DBC, variando de 0,4 a 2,8 % mol. Verificou-se variação na distribuição dos marcadores (B3CA, B4CA, B5CA e B6CA), em que B5CA e B6CA variaram de 77,9 a 94,0 % do teor de BPCA total. As %B4CA e B3CA variaram de 0,7 a 14,1 % e 3,4 a 10,0 %, respectivamente. As técnicas de Infravermelho, RMN de ^{13}C diferenciam as SHA RC e RN estruturalmente, indicando maior porção aromática na SHA RN. Os estudos de interação com íons metálicos evidenciaram maior capacidade de complexação, bem como maior concentração de sítios ligantes para SHA RN, além da maior semelhança entre as amostras coletadas no período chuvoso, RN e RC-II.

Palavras-chave: matéria orgânica, metais, labilidade, substâncias húmicas, *black carbon*, Amazônia.

Abstract

The Amazon biome is widely known for its relevance in the climate cycles, biodiversity and extension. The area explored in this study comprised the municipalities of Itacoatiara, Maués and Manaus, located in the state of Amazonas, the first two being few explored. It is known the importance of natural organic matter (NOM) in the dynamics of other species, which is formed by defined or indefinite structures, with different degrees of lability compared to other species or to photochemical and microbiological processes. This work had as its focus the characterization of dissolved organic matter (DOM) and the inventory of metals in white (AgB) and black (AgP) water rivers in the Central Amazon region. A total of 15 water sampling sites representing dry and rainy seasons and 9 sediments were collected in rivers of the region. In the water samples, the total and dissolved elements (Al, Cu, Cd, Cr, Fe, Pb and Ni) were determined. Studies of the lability and recalcitrance in terms of the reactivity of the aquatic DOM against the action of H_2O_2 , as well as the quantification of the dissolved black carbon (DBC) (BPCA method) in rivers of AgP and AgB of the region were also performed. In addition, the aquatic humic substances (AHS) of the Negro (RN) and Carú (CR) rivers were extracted and characterized and their interactions with Al(III), Fe(III) and Cu(II) cations were evaluated. In the sediments were determined pH, granulometric analysis and metals (Pb, Cr, Ni, Al, Fe, Cu and Zn). It was concluded that for the waters, the concentration of metals was mostly in accordance with Brazilian legislation, as well as for sediments. In the studies of the DOM, in both periods, there was a predominance of the recalcitrant fraction. However, it is noteworthy in the dry season that the content of the labile fraction was higher for the AgP rivers and in the rainy season the opposite was observed. The analysis of the chromophore fraction allowed to distinguish seasonal effects. In the dry period, humic-like fluorophores, C1 and C2 (autochthonous and allochthonous) and protein-like (C3) were identified by the CP/PARAFAC treatment. The fluorescence fraction was related to dry matter content, being more reactive, but it did not exhibit the same relationship in the rainy season, being characterized by the presence of allochthonous humic-like fluorophores (C4 and C5). By the UV/Vis analysis, SUVA_{254} index an increasing was observed between dry and rainy periods, related to the increment of DOM (surface runoff), however decreases of SUVA_{254} were observed for all samples, indicating changes in the chromophore MOD fraction during kinetics. Analysis of the BPCA allowed the determination of the DBC, which ranged from 0.4 to 2.8 mol %. Distribution of the markers (B3CA, B4CA, B5CA and B6CA) varied, which in B5CA and B6CA ranged from 77.9 to 94.0 % of the total BPCA. The B4CA and B3CA ranged from 0.7 to 14.1 % and 3.4 to 10.0 %, respectively. AHS RC and RN presented a similar aromaticity degree, but other techniques (Infrared, ^{13}C NMR) differentiate SHA structurally, indicating a greater aromatic portion in AHS RN. The interaction studies with AHS and metallic ions showed a greater capacity for complexation, as well as a higher concentration of binding sites for AHS RN, besides the greater similarity between the samples collected in the rainy season, RN and RC-II.

Keywords: organic matter, metals, lability, humic substances, black carbon, Amazon.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa da região de estudo incluindo os pontos de amostragem de água superficial (●) e sedimentos (▲): (1) rio Negro, (2) rio Madeira, (3) rio Urubu 4, (4) rio Anebé, (5) rio Urubu 3, (6) rio Carú 2, (7) rio Carú 1, (8) rio Urubu 2, (9) rio Urubu 1, (10) rio Amazonas1, (11) rio Amazonas 2, (12) rio Amazonas 3, (13) rio Arari, (14) rio Paraconi e (15) Igarapé Caiaué.	33
Figura 2 - Imagens dos locais de amostragem do presente trabalho: (a) Amazonas 1; (b) Amazonas 2; (c) Madeira, (d) Paraconi; (e) Igarapé Caiaué; (f) Carú 1; (g) Carú 2 e (h) Urubu 1, (i) Urubu 2, (j) Urubu 3, (k) Urubu 4, (l) Arari.	34
Figura 3 -Variação da concentração de H_2O_2 em função do tempo, para experimentos em microcosmos realizados com amostras coletadas no período chuvoso em rios de águas (a) pretas e (b) brancas, bem como para (c) amostras coletadas durante o período de seca.	51
Figura 4 - Aplicação das equações de ordem de reação: ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para os microcosmos com amostras do (a) rio Negro (água preta) e (b) rio Amazonas 1 (água branca).	52
Figura 5 - Concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD), matéria orgânica lábil (MOL) e recalcitrante (MOR) determinadas para amostras coletadas nos períodos de seca e chuva nos rios Carú, Anebé, Amazonas 1 e Madeira.	54
Figura 6 - Espectros de Fluorescência obtidos no modo Matriz Emissão-Excitação (MEE) para as amostras de águas superficiais coletadas no período de seca e empregadas no experimento cinético: (a) rio Carú; (b) rio Anebé; (c) rio Madeira; (d) rio Amazonas e (e) rio Uatumã.	58
Figura 7 - Fluoróforos identificados empregando CP/PARAFAC nos espectros de Fluorescência no modo MEE para as amostras de águas brancas e pretas e empregadas nos experimentos cinéticos, do período de seca: (a) C1, (b) C2 e (c) C3, e do período chuvoso (d) C4 e (e) C5.....	60
Figura 8 – Variação de intensidade dos fluoróforos (C1, C2, C3, C4 e C5) durante o experimento cinético (Início (I) e Final (F)) para determinação da labilidade das amostras coletadas no (a) período de seca e no (b) período de chuva nos rios de águas brancas e águas pretas.....	65
Figura 9 - Cromatograma típico obtido na identificação dos BPCA empregando UHPLC-MS-MS.	67
Figura 10 - Distribuição relativa dos BPCA na matéria orgânica dissolvida extraída das amostras de águas brancas e pretas ^a em ambos períodos de coleta ^b	68
Figura 11 - Concentração total de BPCA nas amostras de águas brancas e pretas ^a coletadas em ambos os períodos de amostragem.	69
Figura 12 - Rendimento molar do DBC em função da concentração de COD para amostras de águas brancas e pretas ^a coletas no período de seca e período chuvoso.	70
Figura 13 - Espectros de Fluorescência Total obtidos no modo MEE das amostras de SHA (5 mg L ⁻¹ , pH 8,0) (a) RN, (b) RC-II e (c) RC-I.....	71
Figura 14 - Espectros de Infravermelho (acima) e seus respectivos espectros da segunda derivada (abaixo) na região de 2000 a 670 cm ⁻¹ das SHA (a) RC-I, (b) RC-II e (c) RN.....	76
Figura 15 -Curvas termogravimétricas: TGA (—) e DTG (---) das SHA (a) RC-I, (b) RC-II e (c) RN.	79

Figura 16 - Espectros ^{13}C RMN das amostras de SHA.....	81
Figura 17 -Espectros de Fluorescência obtidos no modo MEE para SHA do rio Negro: (a) sem adição de íon metálico; (b) com adição de $50\ \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu(II) (c) com adição de $500\ \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu(II) e (d) com adição de $5000\ \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu(II).....	84
Figura 18 - Curvas de titulação de supressão de fluorescência dos componentes C1 e C2 com Cu(II) nas amostras de SHA (a) RC-I, (b) RC-II e (c) RN.....	85
Figura 19 - Variação das constantes de estabilidade dos complexos com Cu(II), Al(III) e Fe(III) para os componentes identificados pelo CP/PARAFAC nas amostras de SHA.	86
Figura 20 – Capacidade de complexação (CC) dos componentes identificados pelo CP/PARAFAC nas amostras de SHA.	87
Figura 21 - Mapas Síncronos e Assíncronos gerados de 400 a $4000\ \text{cm}^{-1}$ dos espectros de infravermelho das SHA com Cu(II).	89
Figura 22 - Mapas Síncronos e Assíncronos gerados de 400 a $4000\ \text{cm}^{-1}$ dos espectros de infravermelho das SHA com Al(III).....	90
Figura 23 - Mapas Síncronos e Assíncronos gerados de 400 a $4000\ \text{cm}^{-1}$ dos espectros de infravermelho das SHA com Fe(III).....	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Identificação e localização dos pontos de amostragem desse trabalho.	33
Tabela 2 - Ácidos benzenocarboxílicos (BPCA) empregados como padrões nesse trabalho.	40
Tabela 3 - Concentrações dos BPCA ($\mu\text{g L}^{-1}$) em cada padrão utilizado para construção das curvas analíticas.....	40
Tabela 4 - Valores de pH, temperatura, carbono orgânico total (COT), turbidez, cor e oxigênio dissolvido (OD) nas amostras coletadas nos períodos de seca e de chuva nos corpos aquáticos de águas pretas e brancas da região de estudo.....	45
Tabela 5 - Teores de argila, areia e silte, C, N, S, MO e valores de pH para as amostras de sedimentos superficiais de rios da região de Itacoatiara-AM.....	49
Tabela 6 - Valores determinados para Pb, Cr, Ni, Al, Fe, Cu, e Zn nas amostras de sedimentos superficiais coletados na amostragem realizada em Novembro/2015.....	50
Tabela 7 - Valores de meia-vida ($t_{1/2}$), ordem de reação e $k_{\text{H}_2\text{O}_2}$ obtidos da cinética de consumo de H_2O_2 para as amostras do experimento em microcosmos realizado com amostras de águas brancas (AgB) e pretas (AgP) nos períodos de seca e de chuva.....	53
Tabela 8 - Concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD), matéria orgânica lábil (MOL) e recalcitrante (MOR) determinadas para as amostras do experimento em microcosmos realizado com amostras águas brancas (AgB) e pretas (AgP) nos períodos de seca e de chuva.	53
Tabela 9 - Propriedades espectrais obtidas para matéria orgânica dissolvida cromófora (MODC) das amostras de águas pretas (AgP) e brancas (AgB) coletadas durante as duas campanhas 1 (Nov/15 -seca) e 2 (Jul/16-chuvosa) nas amostras empregadas nos experimentos cinéticos; em que: (In) Início e (F).	57
Tabela 10 – Índices calculados pelas medidas de fluorescência e UV-Vis obtidas para as amostras de SHA dos rios Negro (RN) e Carú (seca: RC-I e chuva: RC-II).	72
Tabela 11 - Composição elementar (C, H, N e S) e razões atômicas das SHA dos rios Carú (RC-I e RC-II) e Negro (RN).	72
Tabela 12 – Principais atribuições feitas aos modos de vibração observados nos espectros da segunda derivada do infravermelho das SHA nesse trabalho.....	75
Tabela 13 - Distribuição das integrações relativas (%) dos RMN de ^{13}C , grau de aromaticidade, razão alquil (AR) e de lignina (LR) presentes nas amostras de SHA desse estudo.	82

LISTA DE ABREVIATURAS

AgB – Águas Brancas
AgP – Águas Pretas
BC – *Black Carbon*
BIX – Índice de matéria orgânica de origem autóctone
BPCA – *Benzene Polycarboxilic Acids*
B3CA – Ácido benzenotricarboxílico
B4CA – Ácido benzenotetracarboxílico
B5CA – Ácido benzenopentacarboxílico
B6CA – Ácido benzenohexacarboxílico
CCME – Canadian Council of Ministers of the Environment
CE- Condutividade elétrica
COD – Carbono orgânico dissolvido
COT – Carbono Orgânico Total
CP/PARAFAC – *Candecomp/Parallel Factor Analysis* ou Análise dos Fatores Paralelos
DBC – *Dissolved Black Carbon* ou Carbono pirogênico dissolvido
DBO – Demanda bioquímica de oxigênio
DQO – Demanda química de oxigênio
MON – Matéria orgânica natural
MOD – Matéria orgânica dissolvida
E₂:E₃ – razão da absorbância em 250 nm e 365 nm
FAAS – Espectrofotometria de Absorção Atômica com atomização por Chama
F_{máx} – Intensidade de Fluorescência Máxima
GFAAS – Espectrofotometria de Absorção Atômica com atomização por Forno de grafite
HIX – Índice de humificação
IHSS – International Humic Substances Society
LD – Limite de Detecção
MD – Metal dissolvido
MEE – Matriz Emissão-Excitação
MO – Matéria orgânica
MODC – Matéria orgânica dissolvida cromófora
MODF – Matéria orgânica dissolvida fluorescente
MOL – Matéria Orgânica Lábil
MOR – Matéria orgânica recalcitrante
MP – Metal particulado
MT- Metal total
OD – Oxigênio dissolvido
PCA – Análise de Componentes Principais
PEL – Probable Effect Level
RC-I – Amostra SHA rio Carú extraída no período de seca
RC-II– Amostra SHA rio Carú extraída no período de chuva
RMN de ¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de ¹³C
RN -Amostra SHA rio Negro extraída no período de chuva
SH – Substâncias húmicas
SHA – Substâncias Húmicas Aquáticas
SUVA₂₅₄ – Índice dado pela razão absorbância em 254 nm e concentração COD
TEL – *Threshold Effect Level*
UV – Ultravioleta
VGQS -Valores Guias de Qualidade de Sedimentos
2D-COS – Análise de Correlação Bidimensional

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 MATÉRIA ORGÂNICA NO AMBIENTE AQUÁTICO.....	15
2.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA NATURAL.....	17
2.2.1 <i>Estudo de labilidade da matéria orgânica aquática</i>	22
2.2.2 Determinação de Black Carbon em rios da região Amazônica: análise BPCA para quantificação e composição molecular.....	23
2.3 FONTES E DINÂMICA DE METAIS NO AMBIENTE.....	25
2.4 INTERAÇÃO DE ÍONS METÁLICOS E MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA.....	26
2.4.1 <i>Espectroscopia de correlação bi-dimensional (2D-COS) e Análise de Fatores Paralelos (CP-PARAFAC) aplicados nos estudos de interação entre MOD e espécies metálicas</i>	27
2.5 ÁREA DE ESTUDO	29
3 OBJETIVO	31
4 PARTE EXPERIMENTAL	32
4.1 PROCEDIMENTOS DE LIMPEZA DAS VIDRARIAS, COLETA E PRESERVAÇÃO DAS AMOSTRAS	32
4.2 LOCAIS DE AMOSTRAGEM E PERÍODOS DE COLETA.....	32
4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E DETERMINAÇÃO DE METAIS EM AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL E SEDIMENTOS	35
4.3.1 <i>Amostras de água superficial</i>	35
4.3.2 <i>Amostras de sedimentos</i>	35
4.4 ESTUDOS DA MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA: CARACTERIZAÇÃO, REATIVIDADE E EFEITO DA SAZONALIDADE	36
4.4.1 <i>Determinação da Labilidade e Reatividade</i>	36
4.4.2 <i>Avaliação da MODC: Espectrofotometria de UV-Vis e de Fluorescência Molecular</i> ...	37
4.4.3 <i>Determinação de Black Carbon Dissolvido em amostras de água superficial</i>	38
4.5 EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS	41
4.6 CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	42
4.6.1 <i>Espectrofotometria UV-Vis e Fluorescência Molecular, Infravermelho e Análise Elementar</i>	42
4.7 ESTUDOS DE INTERAÇÃO DE ÍONS METÁLICOS DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS COM ALUMÍNIO, COBRE E FERRO POR SUPRESSÃO DE FLUORESCÊNCIA	43
4.7.1 <i>Preparo das amostras</i>	43
4.7.2 <i>Análise de Quenching de Fluorescência empregando modalidade 3D</i>	43
4.7.3 <i>Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier</i>	44

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL.....	45
5.1.1 <i>Determinação de parâmetros físico-químicos</i>	45
5.1.2 <i>Determinação de metais</i>	46
5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SEDIMENTOS	48
5.2.1 <i>Análises físico-química das amostras de sedimento superficiais</i>	48
5.2.2 <i>Determinação de metais totais e dissolvidos</i>	49
5.3 CARACTERIZAÇÃO DA MOD PRESENTE NAS AMOSTRAS DE ÁGUAS BRANCAS E PRETAS E EFEITO SAZONAL	50
5.3.1 <i>Labilidade e recalcitrância da MOD</i>	50
5.3.2 <i>Avaliação da matéria orgânica dissolvida cromófora durante os experimentos de cinética de consumo de peróxido de hidrogênio</i>	56
5.3.3 <i>Black Carbon dissolvido em rios da região Amazônica</i>	67
5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS E INTERAÇÃO COM METAIS	70
5.4.1 <i>Substâncias Húmicas Aquáticas</i>	70
5.4.2 <i>Interação Das Substâncias Húmicas Aquáticas Com Íons Metálicos</i>	83
6 CONCLUSÃO.....	92
REFERÊNCIAS	95
APÊNDICE A – Determinação de metais em água e sedimentos.....	106
APÊNDICE B – Análise dos ácidos de benzenonpolicarboxílicos.....	108
APÊNDICE C – Caracterização das substâncias húmicas aquáticas	111
APÊNDICE D – Interação das substâncias húmicas aquáticas e íons metálicos	112

1 INTRODUÇÃO

Nos estudos ambientais a compreensão do papel da matéria orgânica natural (MON) é de grande importância, visto que ela é um componente amplamente distribuído nos diferentes compartimentos ambientais, apresentando características bastante diversificadas. Já é bem conhecido que a matéria orgânica atua em reações de interação com outras espécies, nos ciclos redox, na ciclagem global do carbono e nas reações fotoquímicas e microbiológicas (LEENHEER; CROUÉ, 2003; MELO et al., 2012).

A MON é composta por várias frações, incluindo compostos de estruturas definidas, outros com estruturas indefinidas, de baixas ou altas massas moleculares, sendo todos de grande importância para o ambiente aquático e terrestre. Dessa forma, a caracterização da MON presente no ambiente aquático contribui para o melhor entendimento da dinâmica desse componente e de sua interação com outras espécies. Nesse contexto, algumas abordagens podem ser empregadas como a caracterização das substâncias húmicas aquáticas (SHA), a determinação do estoque de *black carbon* (BC) dissolvido ou carbono pirogênico dissolvido, bem como a diferenciação das frações lábil e recalcitrante da MON (MASIELLO; LOUCHOUARN, 2013; NEBBIOSO; PICCOLO, 2013).|

A região Amazônica tem um bioma com importância mundial, visto sua extensão e biodiversidade. Essa região possui a maior bacia hidrográfica do mundo, com rios de grande vazão e muitas áreas inundáveis que propiciam eventos de carreamento da MON oriunda dos solos, bem como áreas com vegetação que permanecem alagadas. Destaca-se a contribuição dos rios da região de Itacoatiara para o rio Amazonas, região na qual existem poucos estudos, principalmente que abordem a MON, bem como o levantamento de fonte e transporte de metais.

No ambiente aquático, o monitoramento de espécies metálicas é importante na avaliação da contaminação, bem como os estudos de interação entre MON e essas espécies, permitindo avaliar a biodisponibilidade das mesmas no ambiente aquático. Os metais estão presentes no ambiente como resultado do intemperismo ou ainda decorrente das atividades antrópicas, sendo considerados contaminantes devido sua persistência no ambiente, que às vezes pode resultar em bioacumulação e biomagnificação na cadeia trófica.

As SHA são parte da MON presente no ambiente aquático, formadas em decorrência dos processos de degradação de material orgânico, via diversas reações (química e microbiológicas). Devido sua estrutura complexa, decorrente dos diversos materiais precursores e transformações ocorrentes no ambiente, essa fração exibe diferentes

propriedades. Sua interação com outras espécies, como a complexação de espécies metálicas, é bastante conhecida, portanto, as SHA são um parâmetro importante na avaliação da biodisponibilidade dessas espécies. Outra fração importante da MON é o carbono pirogênico dissolvido. Essa fração é formada pela combustão incompleta de biomassa e/ou de combustíveis fósseis e é caracterizada por ser fração aromática condensada, tendo importante influência nos estoques de carbono.

Portanto, esse trabalho objetivou a caracterização da MON de rios da região Amazônica, que foi realizada por meio da extração das SHA, visando fornecer informações importantes sobre a estrutura e comportamento da fração hidrofóbica da matéria orgânica dissolvida (MOD). O estudo de labilidade da MOD também traz informações importantes sobre a reatividade desse componente e sua dinâmica sazonal nos rios da região avaliada no presente trabalho, bem como a determinação do *black carbon* dissolvido (DBC), que além de proporcionar estimativas desse componente no ambiente aquático, é também uma ferramenta interessante para avaliar o grau de condensação da porção aromática da MOD (CHANG et al., 2018). Ademais o estudo também visou a determinação de metais nas águas superficiais e sedimentos da região.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MATÉRIA ORGÂNICA NO AMBIENTE AQUÁTICO

A matéria orgânica natural (MON) está presente em diversos compartimentos como solo, água e sedimento, atuando de maneira importante nos processos químicos e biológicos desses ambientes (CORY; MCKNIGHT, 2005; VANLOON; DUFFY, 2005). Estruturas complexas e de diferentes reatividades são formadas em função da origem e dos processos que o material precursor tenha sofrido (CATALÁN et al., 2013; UYGUNER-DEMIREL; BEKBOLET, 2011; WESTERHOFF et al., 2007).

No ambiente aquático a MON possui duas fontes, sendo uma associada ao seu transporte dos solos para os corpos aquáticos, por meio do escoamento superficial, denominada MON alóctone; e a síntese realizada pelos microrganismos na própria coluna d'água ou pela presença dos organismos aquáticos, conhecida também como MON autóctone (FILELLA, 2009; GUBERNATOROVA; DOLGONOSOV, 2010; ROCHA; ROSA; CARDOSO, 2009; WETZEL; HATCHER; BIANCHI, 1995). As transformações no ambiente aquático estão associadas ao consumo do oxigênio dissolvido, principal oxidante, em reações de oxidação (VANLOON; DUFFY, 2005). A radiação solar atua na fotodegradação do carbono orgânico dissolvido (COD) à compostos orgânicos de menores massas moleculares e aromaticidades que seu material precursor (CATALÁN et al., 2013; MASIELLO; LOUCHOUARN, 2013; MORAN; ZEPP, 1997; PAUL et al., 2004; XIAO et al., 2013). Esse processo ocorre em função das reações proporcionadas pela fração cromófora da MON, que é responsável pela formação de espécies reativas de oxigênio, a destacar os radicais superóxido, hidroperoxila, hidroxila e peróxido de hidrogênio (SOUTHWORTH; VOELKER, 2002; WILSON et al., 2000).

O processo de fotodegradação do COD é fundamental ao equilíbrio ecológico no ambiente aquático, pois proporciona maior disponibilidade de energia, ou carbono orgânico que atua como substratos para a biota, como bactérias. Além dos compostos carbonílicos fotoproduzidos são gerados compostos inorgânicos como dióxido de carbono (CO_2) e monóxido de carbono (CO). Dessa forma, a fotodegradação da MON é importante parte da ciclagem do carbono (LINDELL; GRANÉLI; TRANVIK, 1994; MORAN; ZEPP, 1997; NEBBIOSO; PICCOLO, 2013; PAUL et al., 2012).

A MON presente no ambiente aquático é formada por diversos processos de degradação química e microbiológica que atuam sobre diferentes tipos de materiais precursores, formando assim um material muito diversificado. Visto sua ampla diversidade de composição, a

caracterização da MON é de grande importância para o entendimento do seu papel no ambiente. Atualmente, o avanço das técnicas analíticas tem permitido aos estudos de caracterização da MON dissolvida a obtenção de informações mais precisas, que contribuam de maneira mais assertiva sobre a composição, estrutura e estimativa da origem da MON presente nos corpos aquáticos.

Parte da MON presente no ambiente aquático é passível de sofrer diversas reações fotoquímicas, que por sua vez influenciam de maneira direta os processos biogeoquímicos. Tal reatividade provém da sua capacidade de absorver radiação UV-Vis em que comumente é denominada de matéria orgânica dissolvida cromófora (MODC). Além disso, parte da MOD cromófora possui a capacidade de fluorescer com a absorção de radiação UV-Vis, sendo então chamada de matéria orgânica dissolvida fluorescente (MODF). Desta forma, as propriedades ópticas da MON são de grande importância para inferir sobre algumas de suas características. Diversos índices e razões espectrais têm sido propostos e empregados na caracterização da MON em amostras de águas naturais, bem como nas SHA (HELMS et al., 2008; HORBE; ANA; SANTOS, 2009; OHNO, 2002; PARLANTI et al., 2000; PEURAVUORI; PIHLAJA, 1997; TFAILY et al., 2013a; WEISHAAR et al., 2003; WESTERHOFF et al., 1999).

Alguns autores têm apresentado uma segunda diferenciação da matéria orgânica em duas frações, uma lábil e outra refratária ou recalcitrante em termos microbiológicos (FILELLA, 2009; UYGUNER-DEMIREL; BEKBOLET, 2011). A matéria orgânica lábil (MOL) constitui uma fração da MON constituída de moléculas de baixa massa molecular e pode sofrer rápida degradação biológica ou fotoquímica. Define-se como matéria orgânica recalcitrante (MOR) a matéria orgânica resistente a degradação, ou seja, que permanece inalterada por longo tempo no ambiente, a qual tende a se depositar em função do processo de degradação fotoquímica, podendo seu tempo de residência no ambiente alcançar vários anos (FILELLA, 2009; GUBERNATOROVA; DOLGONOSOV, 2010; LINDELL; GRANÉLI; TRANVIK, 1994; MILLER; MORAN, 1997; UYGUNER-DEMIREL; BEKBOLET, 2011; XIAO et al., 2013).

O grau de labilidade da MON é decorrente da sua origem, dos processos de formação e aporte de compostos orgânicos, da ação de organismos e do escoamento superficial e lixiviação dos solos no respectivo corpo aquático. Dessa maneira, existem vários compostos orgânicos presentes no ambiente, os quais possuem diversos graus de reatividade frente à capacidade de degradação biológica e oxidação química. Podem-se citar compostos orgânicos de baixas massas moleculares, compostos aromáticos, proteínas, ácidos nucleicos, polissacarídeos,

lignina e compostos aromáticos policondensados (GUBERNATOROVA; DOLGONOSOV, 2010).

Constantino (2015) apresentou um método para determinação da matéria orgânica lábil baseada na cinética de consumo de peróxido de hidrogênio que foi idealizado em proposta sugerida por Jardim et al. (2010). Os autores definiram MO lábil como sendo a fração da MOD que é reativa ao H_2O_2 . Portanto, por meio do uso da cinética de consumo de H_2O_2 foi possível determinar uma equação que permitiu o cálculo da concentração da fração lábil da MOD e pela diferença das concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD) e MO lábil calcula-se a concentração da fração recalcitrante (MOR).

A MON aparece como importante componente na especiação e transporte de metais, atuando na complexação dessas espécies. Tem sido apontado que a MON de origem alóctone é a principal responsável nesse processo, devido à presença de uma maior porção de anéis aromáticos em sua composição (ROCHA; ROSA; CARDOSO, 2009; ROSA et al., 2007; WINTER et al., 2007). Nesse sentido, as SHA são conhecidas pela sua capacidade de complexar outras espécies químicas, interferindo no transporte, labilidade e biodisponibilidade de poluentes (GOUVEIA et al., 2010; TONETTO, 2006).

2.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA NATURAL

A quantificação da MON presente em um ambiente aquático pode ser feita de maneira indireta com as determinações de Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), em que ambas são medidas relativas à quantidade de oxigênio requerida para a degradação da porção orgânica presente na amostra, seja ela assimilável por micro-organismos (DBO) ou com características recalcitrantes (DQO).

O Analisador de Carbono Orgânico Total permite a determinação da quantidade de carbono total, inorgânico e orgânico. Informações mais detalhadas podem ser obtidas por meio da extração e caracterização das SH extraídas de águas naturais, solos e sedimentos, na qual a fração hidrofóbica da MON é imobilizada pela resina XAD-8 ou DAX-8 (PEURAVUORI; KOIVIKKO; PIHLAJA, 2002; THURMAN et al., 1982).

Parte da MOD possui propriedades ópticas que vem sendo exploradas como ferramentas de caracterização ao longo dos anos, qualitativamente ou quantitativamente, por meio das técnicas espectroscópicas de absorção no UV/Vis, de Infravermelho e de Fluorescência

molecular. O uso dessas técnicas compreende análises de menor complexidade em relação às técnicas de RNM e espectrometria de massas.

Comumente denominada de matéria orgânica dissolvida cromófora (MODC), diz-se dos compostos que formam parte da MON e que são capazes de absorver radiação do espectro UV-Vis, em que a absorção aumenta de maneira exponencial quanto menor os comprimentos de onda. Essa propriedade está associada com as transferências de cargas intramoleculares entre os grupos aceptores de elétrons como quinonas e doadores de elétrons, como hidrox aromáticos provenientes da oxidação da lignina (DEL VECCHIO; BLOUGH, 2004)).

Diversos índices espectrais têm sido propostos e correlacionados com diversas características intrínsecas da fração dissolvida da MON (HELMS et al., 2008; HUDSON; BAKER; REYNOLDS, 2007; NEBBIOSO; PICCOLO, 2013; OHNO, 2002; TWARDOWSKI et al., 2004; WEISHAAR et al., 2003). Nesse sentido, as técnicas espectroscópicas de absorção no UV-Vis, bem como de Fluorescência Molecular tem sido empregadas para inferir de maneira qualitativa ou quantitativa sobre características como aromaticidade, tamanho molecular, origem (autóctone ou alóctone) ou processos de degradação, humificação e diagênese da MON, portanto sendo também empregadas nas caracterizações das SH (FILELLA, 2009; GOUVEIA et al., 2010; HANSEN et al., 2016; HUGUET et al., 2009; NEBBIOSO; PICCOLO, 2013; SLEIGHTER et al., 2014).

Por meio do espectro UV-Vis é possível determinar os índices $SUVA_{254}$, razões $E_2:E_3$ e os *spectral slopes*: $S_{275-295}$, $S_{350-400}$ e S_R . Weishaar e seus colaboradores (2003) correlacionaram o uso do índice $SUVA_{254}$ como indicador de aromaticidade da MOD cromófora, após observarem uma correlação positiva entre o índice com a aromaticidade obtida pelo emprego da análise de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{13}C . $SUVA_{254}$. Geralmente é expresso em $(m\ mg)^{-1}\ L$ ou $(cm\ mg)^{-1}\ L$, em que se normaliza o coeficiente de absorção decadal (a) em 254 nm pela concentração de COD (Equação 1). O coeficiente a é dado pela divisão da absorbância decadal (A em $\lambda = 254\ nm$), pelo comprimento do caminho ótico (l) (Equação 2). Peuravuori e Pihlaja (1997) demonstraram que a razão entre as absorbâncias em 265 e 365 nm, denominada razão $E_2:E_3$, diminui com a aromaticidade e o tamanho molecular, quando aplicadas aos extratos húmicos.

$$SUVA_{254} = \frac{a(254\ nm)}{[COD]} \quad (Eq. 1)$$

$$a(254\text{ nm}) = \frac{A(254\text{ nm})}{l} \quad (\text{Eq. 2})$$

Helms e seus colaboradores (2008) apresentaram o uso dos coeficientes de absorção, como a razão dos *spectral slope* (S_R) na avaliação da fração cromófora da MOD.

Os *spectra slopes* são determinados pela regressão linear de $\log \alpha$, sendo dos slopes $S_{275-295}$ (α no intervalo de 275 a 295 nm) e $S_{350-400}$ (α no intervalo de 350 a 400 nm), intervalos de maior variação dos S, sendo o coeficiente de absorção Naperiano (α) obtido por meio da Equação 3, e então S_R é dado pela divisão de $S_{275-295}$ e $S_{350-400}$.

$$\alpha(\lambda) = \frac{2,303A(\lambda)}{l} \quad (\text{Eq. 3})$$

Em que A é absorbância decadal (medida dada pelo equipamento) e l é comprimento do caminho ótico em metros.

A Fluorescência Molecular também tem sido amplamente empregada nos estudos de caracterização da MOD, pois se mostra bastante seletiva aos componentes orgânicos que possuem ligações conjugadas, intrínsecos da composição da MON (HANSEN et al., 2016; HELMS et al., 2008; JOSEPH R. LAKOWICZ, 2006; LARSON et al., 2014; PEURAVUORI; PIHLAJA, 1997; ZSOLNAY et al., 1999). Portanto, define-se a MODF como aquela que possui componentes denominados fluoróforos, que são capazes de absorver radiação no espectro UV-Vis e ao retornarem do estado excitado para o estado fundamental, reemitem radiação.

No fenômeno de fluorescência molecular, os comprimentos de onda em que as moléculas orgânicas absorvem radiação está primordialmente relacionado com a estrutura molecular e com a variação de energia entre os orbitais ligantes e antiligantes (COBLE et al., 2014). De maneira geral, a absorção ou fluorescência da MOD é o resultado da contribuição dos diversos componentes presentes que possuam tal propriedade ótica, bem como das interações intramoleculares entre esses componentes.

As principais modalidades de análise de fluorescência molecular são os espectros obtidos no modo 2D (emissão e sincronizado) ou ainda na modalidade 3D, também denominada de modo Matriz Emissão-Excitação (MEE), que se apresenta como uma versão mais completa dos dados de fluorescência molecular. Para amostras de MON os espectros 3D proporcionam a identificação do conjunto de principais picos de fluorescência presentes nesse tipo de amostra complexa. Outra possibilidade à análise de fluorescência 3D é o tratamento dos resultados aplicando ferramenta de análise estática multivariada, como a Análise de Fatores Paralelos

(CP/PARAFAC). Essa ferramenta é capaz de decompor os espectros de fluorescência, permitindo a identificação dos fluoróforos presentes nas amostras.

Dessa forma, os espectros de fluorescência podem ser obtidos no modo sincronizado ou no modo MEE. Nos estudos de MON dois fluoróforos amplamente conhecidos são o do tipo húmico (*humic-like*) e do tipo proteico (*protein-like*). Ambos os fluoróforos são excitados pela radiação UV (240-280 nm), mas emitem sinais de fluorescência em regiões diferentes, 400 a 500 nm para o fluoróforo do tipo húmico, atribuído principalmente à presença de quinonas oriundas dos lixiviados de degradação de material rico em ligninas. Já o componente proteico tem suas emissões máximas na faixa de 300-380 nm (BIRDWELL; ENGEL, 2010; COBLE, 1996). Cabe destacar que o componente proteico, identificado por Coble (1996) permanece ainda sendo citado e denominada como tal na literatura atual, mas diversos estudos têm demonstrado que a fluorescência característica desse componente, não parece ou nem sempre é proveniente de aminoácidos.

A identificação dos fluoróforos e seus picos de fluorescência característicos podem fornecer informações sobre a origem e processos de transformação sofrida pela MON, entre os principais picos atribuídos a MON estão o Pico A ($\lambda_{ex} = \sim 260$ nm e $\lambda_{em} = 380-460$ nm) e Pico C ($\lambda_{ex} = \sim 350$ nm e $\lambda_{em} = 420-480$ nm), Pico M ($\lambda_{ex} = \sim 312$ nm e $\lambda_{em} = 380-420$ nm), Pico B ($\lambda_{ex} = \sim 275$ nm e $\lambda_{em} = \sim 310$ nm) e Pico T ($\lambda_{ex} = \sim 275$ nm e $\lambda_{em} = \sim 340$ nm) (COBLE, 1996; COBLE, 2007).

As razões A:T e C:T indicam a proporção entre a presença dos picos do tipo húmico, usualmente associados pelos picos A ($\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 260/450$ nm) e C ($\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 340/440$ nm), pelo pico T ($\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 275/304$ nm), esse último que ocorre pela fluorescência na região de comprimentos mais baixos do UV, sendo geralmente atribuído a um componente do tipo proteico e associado a presença de três principais aminoácidos: triptofano, tirosina e fenilalanina. Porém, cabe ressaltar que estudos mais recentes têm associado a presença do pico T a outros compostos que fluorescem na mesma região, como por exemplo, polifenóis, presentes nos lixiviados oriundos de tecidos vasculares de plantas, o que também é, portanto, um indicador da presença de uma MON mais “fresca”, ou ainda pouco degradada (BEGGS; SUMMERS, 2011).

Alguns índices derivados dos resultados das medidas de fluorescência molecular também foram bastante empregados ao longo dos anos nos estudos de caracterização da MON. Um dos índices de humificação (HIX) foi proposto por Zsolnay e seus colaboradores (1999). HIX é calculado pelos resultados de emissão obtidos com $\lambda_{exc} = 254$ nm, sendo a razão das

áreas de (λ_{em} 435-480) nm e (λ_{em} (300-345 + 435-480) nm). Por outro lado, o índice BIX, inicialmente proposto por Parlanti e co-autores (2000) e modificado por Huguet et. al. (2009) é usado para avaliar a influência da ação microbiológica (autóctone) na MOD, sendo calculado pela razão dos picos β e α . O pico β foi definido como intensidade máxima em λ_{ex} = 310-320 nm e λ_{em} = 380-420 nm, denominado também de pico M). Por sua vez, o pico α foi definido como a intensidade máxima λ_{ex} = 330-350 nm e λ_{em} = 420-480 nm (também conhecido como pico C). Ademais, o índice de fluorescência (FI) é usado para avaliar a origem do material precursor da MOD, sendo na versão modificada por Cory e McKnight (2005) é calculado pela razão das intensidades de fluorescência em λ_{em} = 470 e em λ_{em} = 520, com λ_{exc} = 370 nm ((CORY; MCKNIGHT, 2005; MCKNIGHT et al., 2001).

A técnica de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica qualitativa que permite inferir os grupos funcionais presentes nas amostras de SH, como por exemplo, grupos carbonílicos, carboxílicos, fenólicos dentre outros. Essa caracterização é feita pela análise das bandas de absorção obtidas referentes a cada grupo (RODRÍGUEZ; NÚÑEZ, 2011).

Dentre outras técnicas analíticas que têm permitido um melhor entendimento sobre as características moleculares da complexa mistura que é a MON estão a Ressonância Magnética Nuclear do isótopo ^{13}C (RMN de ^{13}C) e a Ionização electrospray (*electrospray ionization* - ESI) acoplada a espectrometria de massas de ressonância ciclotrônica de íons (*ultrahigh resolution Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry*) (FT-ICR-MS) .

A RMN de ^{13}C tem sido empregada com uma ferramenta capaz de fornecer informação estrutural das características conformacionais dos núcleos de carbono presentes na amostra, que permitem estimar a quantidade relativa e os tipos de carbono, alifático e aromático, e a presença de grupos fenólicos e carboxílicos na estrutura das MON (NEBBIOSO; PICCOLO, 2013; TADINI et al., 2015a).

A espectrometria de massas também tem sido bastante empregada, pois é capaz de fornecer detalhes sobre a composição da MON. Nos últimos anos algumas abordagens tem sido utilizadas, como a pirólise *off-line* acoplada a Cromatografia Líquida (LC) ou Gasosa (GC) e identificação por Espectrometria de Massas (MS) ou termoquimólise empregando o Hidróxido de Tetrametilamônio seguida da identificação por meio da cromatografia gasosa acoplada espectrometria de massas (*Off-line TMAH-Thermochemolysis-GC-MS*). Atualmente, a espectrometria de alta resolução, exemplificada pela ESI- FT-ICR-MS tem sido amplamente empregada para análise de MOD em diversos estudos por ser capaz de fornecer informações a

nível molecular com alta resolução (>200.000) e empregar fontes de ionização não-destrutivas (NEBBIOSO; PICCOLO, 2013; RIEDEL; DITTMAR, 2014; SCHMIDT et al., 2009; SLEIGHTER et al., 2014).

A pirólise *off-line* empregando o Hidróxido de Tetrametilamônio seguida da identificação por meio da cromatografia gasosa acoplada espectrometria de massas (*Off-line TMAH-Thermochemolysis-GC-MS*) consiste em um processo de pirólise analítica que tem sido utilizado como um método para o pré-tratamento da amostra seguido da caracterização da composição química de materiais complexos, como as SH (SPACCINI; PICCOLO, 2007; TADINI et al., 2015b, 2015a). A humeômica consiste em uma abordagem para elucidação da composição química de materiais húmicos. Nessa abordagem aplica-se o fracionamento químico sequencial das amostras utilizando diferentes solventes, que por sua vez possibilitam a quebra das ligações não covalentes presentes nas supraestruturas húmicas. Em seguida, cada fração é caracterizada por meio de técnicas analíticas como GC-MS, LC-MS, RMN entre outras (NEBBIOSO; PICCOLO, 2013). As técnicas acima citadas, bem como a abordagem da humeômica são importantes ferramentas que permitem inferir sobre a composição molecular das SH e, conseqüentemente, sobre seu papel no ambiente.

2.2.1 Estudo de labilidade da matéria orgânica aquática

Grande parte da MON é proveniente do material vegetal decomposto, que dentre uma ampla variedade de compostos e com diferentes reatividades, podem-se citar desde produtos de menor massa molecular gerados pelas espécies microbiológicas no processo de decomposição, polissacarídeos, proteínas, como diferentes formas de lignina, hemicelulose e até um material mais humificado, e, portanto, mais persistente no ambiente aquático. A labilidade da MON dependerá do transporte e vazão dentro do corpo aquático, além das condições físico-químicas do meio. O material orgânico carregado com maior recalcitrância permanece por mais tempo no meio e pode ser carregado por longas distâncias. Enquanto, a MON mais lábil tem um tempo de permanência mais curto, e percorre menores distâncias ao longo do corpo aquático (GUBERNATOROVA; DOLGONOSOV, 2010; SLEIGHTER et al., 2014).

O COD presente no ambiente aquático é passível de degradação por vias fotoquímicas ou microbiológicas, desta forma no período de seca, quando o aporte de MO “fresca” é menos intenso, a MO já presente no corpo aquático fica disponível para ser degradada, levando a

formação de compostos com menores massas moleculares ou até ser mineralizada, o que explica maiores percentuais de MOL no período de seca.

A labilidade e recalcitrância da MON são resultantes da origem e dos processos que o seu material precursor tenha sofrido até estar presente no corpo aquático. Desta maneira, a determinação da labilidade da MON é uma ferramenta importante que pode ser empregada nos estudos ambientais de caracterização da MON, permitindo inferir sobre a diversidade química desse importante componente ubíquo dos ambientes aquáticos.

Nesse trabalho, o termo labilidade foi empregado com um significado diferente da usual frente os estudos de MOD em ambientes aquáticos. Comumente, o termo lábil é utilizado para inferir características de biodegradabilidade, sendo a MOD classificada como lábil ou recalcitrante, visto sua facilidade ou dificuldade de ser microbiologicamente degradada. Aqui, o termo lábil foi empregado para uma distinção em termos químicos, mais especificamente, em relação a reatividade da MOD frente a espécie oxidante, sendo essa última o H_2O_2 . Para isto, as amostras de água superficial, no caso de rios de águas pretas e brancas da região desse estudo, foram empregadas em experimentos em microcosmos, em que o método desenvolvido por Constantino (2015) permite diferenciar e quantificar a fração da MOL diretamente empregando a cinética de consumo de peróxido de hidrogênio em amostras de água superficial e a concentração de MOR pode ser obtida pela diferença entre a concentração de COT e de MOL.

2.2.2 *Determinação de Black Carbon em rios da região Amazônica: análise BPCA para quantificação e composição molecular*

Outra fração da matéria orgânica vem sendo foco de estudos nos últimos anos, o denominado *black carbon* (BC), também conhecido como carbono pirogênico. Essa fração é formada por compostos orgânicos aromáticos condensados, de características recalcitrantes que podem ser oriundos de fontes naturais ou antrópicas a destacar a queima de combustíveis fósseis, os processos de combustão incompleta de biomassa, como nas queimadas que ocorrem em florestas. Alguns estudos têm demonstrado que o BC também pode alcançar outros compartimentos ambientais via escoamento superficial e deposição.

No Brasil, entre 2012 e 2014, três estudos distintos determinaram BC no ambiente aquático. Um deles com uma amostragem no rio Negro (AM) e no rio Paraná, dentro de um estudo mais amplo que englobava outros grandes rios no mundo a fim de estimar o fluxo de BC na forma dissolvida de solos para os oceanos. Outros estudos também realizaram amostragens

nos rios Cuiabá (Pantanal) e outro ao longo do rio Paraíba do Sul. Nesse contexto, existem poucos trabalhos sobre o BC no ambiente aquático, principalmente no Brasil, o que reforça a importância deste estudo (DING et al., 2014; DITTMAR et al., 2012).

Quando formado na combustão incompleta, esse pode se acumular nos solos, que nesse caso atua como um sumidouro de carbono, onde o BC também pode sofrer processos de degradação influenciados por fatores abióticos e bióticos, bem como novos processos de queima. Em áreas que comumente ocorram eventos de queima da vegetação, espera-se ter um alto estoque de BC no solo, porém, alguns estudos nessas áreas têm encontrado baixas concentrações do mesmo, indicando que esse tenha sido mobilizado para fase aquosa e então aportado em corpos aquáticos (JAFFÉ et al., 2013).

Alguns trabalhos têm constatado a presença de BC na sua forma dissolvida (DBC) em rios e oceanos, onde pode estar presente na forma dissolvida ou na forma particulada. Via fluxos fluviais o BC pode ser transportado e alcançar os oceanos, podendo sofrer algumas reações fotoquímicas e/ou sedimentação ao longo do seu transporte (DING et al., 2013, 2015, DITTMAR et al., 2008, 2012; KIM et al., 2004).

A fração particulada que pode ser emitida para atmosfera, desde a queima de biomassa até a queima de combustíveis fósseis, pode ser transportada por longas distâncias e sofrer deposição seca e úmida (DING et al., 2014, 2015; MASIELLO; LOUCHOUARN, 2013). Dessa forma, o BC é uma classe da MO ubíqua no ambiente, e seu destino é definido pelos diversos processos de transporte.

Vários autores têm apontado que o estudo do BC é importante para o entendimento da transferência e estoques de carbono, atuando como um sumidouro de carbono (JAFFÉ et al., 2013; MASIELLO; LOUCHOUARN, 2013). Muitas vezes o BC tem sido subestimado nos cálculos de estoques e fluxos de carbono. Na forma particulada, quando presente na atmosfera, o BC pode absorver mais radiação solar que o CO₂, sendo associado diretamente as consequências nas mudanças climáticas (SHRESTHA; TRAINA; SWANSTON, 2010). Alguns estudos têm apontado que o BC pode atuar na adsorção de outras espécies xenobióticas no ambiente. Nos sistemas aquáticos as consequências trazidas pela presença do DBC são ainda de conhecimento escasso, não se sabe se esse pode causar impactos na biodisponibilidade do COD, que é fonte primária de energia para a biota (MASIELLO; LOUCHOUARN, 2013).

Devido a estrutura química indefinida do BC e sua presença ubíqua no ambiente, diversos métodos têm sido empregados na sua identificação (HAMMES et al., 2007;

SCHNEIDER et al., 2010), visto que ainda não existe um método oficial para a quantificação do BC.

A análise dos ácidos policarboxílicos de benzeno (do inglês *benzene policarboxylic acids* - BPCA) tem sido empregada para identificação qualitativa e quantitativa do BC (ABIVEN et al., 2011; BRODOWSKI et al., 2005, 2007, DING et al., 2013, 2014, 2015; DITTMAR, 2008; GLASER et al., 1998; HAMMES et al., 2007; JAFFÉ et al., 2013; SCHNEIDER et al., 2010; WAGNER et al., 2015).

Hammes e colaboradores (2007), em um trabalho interlaboratorial, avaliaram o emprego de várias técnicas na quantificação do BC em 12 diferentes amostras referências dentre várias matrizes como água, solo, sedimentos e atmosfera, em que concluíram que a análise BPCA é a técnica mais adequada para a determinação do BC quando em amostras aquosas. Na análise de BPCA é possível verificar o grau de condensação do BC e inferir sobre diferenças de sua origem (DING et al., 2015).

A análise dos BPCA tem sido aplicada em amostras de solo e sedimentos e amostras de água do mar e de rios. Nesta técnica os BPCA são marcadores moleculares para a presença do BC (BRODOWSKI et al., 2005, 2007, DING et al., 2014, 2015; DITTMAR, 2008). Desta forma, o grau de condensação da fração BC é avaliado por meio da abundância dos diferentes grupos de BPCA, que são os produtos gerados na etapa de oxidação do BC, para posterior quantificação dos BPCA.

Alguns autores têm proposto uma avaliação dos diferentes grupos de BPCA para inferir sobre a fonte de BC, como a queima de biomassa ou de fontes antropogênicas (DING et al., 2015). Entretanto, Hindersmann e Achten (2017) empregando a análise dos BPCA (LC-MS) para determinação de carbono pirogênico e petrogênico, não verificaram uma distinção nos padrões de distribuição dos marcadores. Os autores concluíram não ser possível distinguir a relação da fonte pirogênica ou petrogênica de BC unicamente com a análise dos BPCA. Todavia, a Análise dos BPCA é uma ferramenta interessante para avaliar o grau de condensação da porção aromática da MOD (CHANG et al., 2018).

2.3 FONTES E DINÂMICA DE METAIS NO AMBIENTE

Dentre os compostos visados nos estudos de determinação do estoque de compostos no ambiente aquático estão as espécies metálicas. Os metais podem estar presentes no ambiente como resultado de processos naturais ou como poluentes decorrentes das atividades antrópicas.

Eles são considerados contaminantes devido às suas propriedades de persistência no ambiente, bioacumulação e biomagnificação na cadeia trófica podendo atuar provocando alterações nas interações entre os parâmetros físicos, químicos e biológicos de um determinado ecossistema, e podendo assim, causar problemas toxicológicos sérios para os organismos (BAIRD, 2002).

Os metais podem ter origem litogênica, sendo resultantes do processo de intemperismo sob rochas matrizes, lixiviação ou provenientes de ações antrópicas, como adições de fertilizantes, pesticidas, efluente doméstico, atividade siderurgia e/ou deposições atmosféricas (CARVALHO et al., 2018; MALAVOLTA, 1994). Estes elementos podem ser divididos como essenciais e não tóxicos (Ca e Mg), essenciais, porém tóxicos em concentrações elevadas (Fe, Mn, Zn, Cu, Co, Ni e Mo), e tóxicos (Pb, Hg e Cd) (VALLS; DE LORENZO, 2002). Dessa forma, em função de sua toxicidade, não biodegradabilidade, persistência no ambiente e capacidade de bioacumulação na cadeia trófica, o monitoramento da poluição por espécies metálicas oriunda das atividades antropogênicas é de grande relevância para a avaliação da qualidade das águas e sedimentos (GUO; FENG, 2018).

2.4 INTERAÇÃO DE ÍONS METÁLICOS E MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA

A dinâmica de espécies metálicas (M^{n+}), aqui definida como transporte, complexação e toxicidade é, na maioria das vezes, regulamentada pelas características das substâncias húmicas aquáticas (SHA) que compõe a matéria orgânica de cada corpo aquático. As substâncias húmicas originadas a partir da decomposição de restos vegetais e animais devido as transformações microbiológicas, são geralmente compostas por anéis aromáticos e grupos funcionais reativos, os quais apresentam capacidade de complexação com metais, como grupos funcionais de ácidos carboxílicos, cetonas, grupos fenólicos, aminas e amidas (ROMÃO et al., 2003; SANTOS et al., 2004).

Os estudos de interações de espécies metálicas com SHA estão, na grande maioria, vinculados a biodisponibilidade dos metais e da toxicidade destes para a biota dos ambientes. Estas interações são influenciadas por fatores como pH, temperatura do ambiente, concentração dos metais e de SH além da radiação solar (BROOKS; MEYER; MCKNIGHT, 2007; WINTER et al., 2007). Winter et al.(2007) avaliaram a fotodegradação da MON de diferentes fontes, autóctone e alóctone, em amostras de águas superficiais de 5 rios e lagos do Canadá e observaram que as amostras expostas a luz solar por 13 dias diminuíram a concentração de COD de 8% a 35%, a qual foi confirmada por espectros de fluorescência (perda dos ácidos húmicos e fúlvicos). Brooks e colaboradores (2007) também estudaram a fotooxidação da MOD

e as mudanças espectrais e químicas que estas sofrem sob efeito da radiação no rio Laramie e no parque Chimney, Estados Unidos. Os autores ainda avaliaram o efeito da fotooxidação na complexação de Cu com a MOD e observaram que a irradiação da luz solar diminuiu a capacidade complexante, resultando em 150% a mais de Cu^{2+} (livre).

Os materiais húmicos são conhecidos por emitirem fluorescência, devido a presença das ligações $\pi - \pi$ e das porções aromáticas em suas estruturas, muitas vezes condensadas. Sendo assim, a supressão de fluorescência, também conhecida como *Quenching* de Fluorescência, tem sido empregado na avaliação da interação de materiais húmicos e espécies metálicas (RYAN; WEBER, 1982). Os mecanismos de interação entre os ligantes fluoróforos e o íon paramagnético podem ocorrer de maneira dinâmica, quando a interação do fluoróforo e do agente de supressão ocorre no estado excitado e envolve transferência de energia, ou de maneira estática, quando há a formação de complexo não-fluorescente entre o fluoróforo e o agente supressor no estado fundamental. Neste método, a supressão de fluorescência é definida como a diminuição da concentração total dos ligantes (L_T) na presença de íon metálico paramagnético (M) e a correlação entre a intensidade de fluorescência (I) é relacionada com a concentração do metal (C_M) adicionado e a intensidade de fluorescência do ligante não-ligado (Equação 4). I_{ML} é o valor limite abaixo do qual a intensidade de fluorescência não sofre mudanças devido à adição de metal e K_{ML} é a constante de estabilidade condicional

$$I = \left(\frac{(I_{ML}-100)}{(2K_{ML}L_T)} \right) \left[(K_{ML}L_T + KC_M + 1) - \sqrt{(K_{ML}L_T + K_{ML}C_M + 1)^2 - 4K^2L_TC_M} \right] + 100 \quad (Eq. 4)$$

2.4.1 Espectroscopia de correlação bi-dimensional (2D-COS) e Análise de Fatores Paralelos (CP-PARAFAC) aplicados nos estudos de interação entre MOD e espécies metálicas

A espectroscopia de correlação bi-dimensional (2D-COS) foi desenvolvida por Noda (1993), e tem sido empregada para o tratamento/interpretação dos espectros de Fluorescência Molecular ou Infravermelho. Essa abordagem permite avaliar as variações espectrais, bem como a sequência dos eventos provocados por uma variável (perturbação) no sistema, de tal forma que a avaliação usual dos espectros unidimensionais geralmente não permitiria (PEREIRA; PASQUINI, 2006).

Os espectros gerados após a aplicação de uma perturbação, como a variação de temperatura, ou adição de um agente químico, são denominados espectros dinâmicos, em relação ao espectro referência (sem perturbação). Sucintamente, o conjunto de espectros

dinâmicos obtidos após ação do agente de perturbação são comparados por meio da correlação cruzada. Sendo assim, tal análise fornece mapas de contorno dos espectros, na modalidade síncrono e assíncrono (NODA; OZAKI, 2004; PEREIRA; PASQUINI, 2006).

O espectro síncrono fornece os picos simétricos em relação a diagonal das coordenadas espectrais (do espectro de referência). Os picos na linha diagonal são denominados de autopicos e são correlacionados com a variação da perturbação do sistema de maneira positiva (aumento da intensidade) com maior ou menor grau de intensidade. Portanto, uma região com autopico intenso representa uma região espectral que foi fortemente influenciada pela perturbação. Enquanto que os picos localizados fora da linha diagonal são os denominados picos cruzados e são referentes às mudanças simultâneas em dois pontos diferentes do espectro. Nesse caso, a correlação é positiva quando os dois pontos no espectro sofrem um aumento de intensidade, ou negativa quando um aumenta e o outro diminui.

Já no espectro assíncrono são observados apenas picos cruzados que se posicionam de maneira antissimétrica à linha diagonal. Esses picos fornecem informações sobre o ordenamento dos eventos que ocorreram em função da perturbação do sistema. A correlação positiva indica que o evento ocorreu primeiro em v_1 (variável de intensidade espectral) e logo após em v_2 , ou ao contrário no caso de uma correlação negativa.

Diversos trabalhos têm aplicado a análise 2D-COS em estudos de interação entre MO e outras espécies, utilizando a técnica de espectroscopia de infravermelho (HUANG et al., 2018; LI et al., 2017). Desse modo, as mudanças espectrais causadas pelas interações podem ser avaliadas de maneira mais completa, permitindo inferir sobre onde e qual a ordem de interação dos diversos grupos funcionais presentes na amostra.

Outra ferramenta bastante utilizada na avaliação de amostras complexas, como as de MO, é a Análise de Fatores Paralelos (do inglês CANDECOMP/PARAFAC ou CP/PARAFAC) (HUANG et al., 2018; LI et al., 2014; SANTOS et al., 2015; SGROI et al., 2017; STEDMON; BRO, 2008). O CP/PARAFAC é uma ferramenta quimiométrica de análise de dados multidimensionais, a qual é aplicada em diversas áreas (SENA; TREVISAN; POPPI, 2005). Nos estudos de MO é comum a sua aplicação nos espectros de fluorescência na modalidade 3D.

A análise CP/PARAFAC permite a decomposição do espectro de fluorescência total obtido na modalidade MEE. Nos estudos ambientais essa ferramenta vem sendo aplicada desde a caracterização MOD natural até o monitoramento de sistemas de tratamento de água e efluentes (LI et al., 2014; SANTOS et al., 2015; SGROI et al., 2017; STEDMON; BRO, 2008). Dentro dos estudos de MOD, a aplicação do CP/PARAFAC no tratamento dos espectros do

ensaio de *Quenching* de fluorescência (3D) permite a identificação dos principais componentes, bem como a avaliação dos mesmos durante o ensaio, permitindo inferir sobre afinidade de ligação da espécie metálica com os fluoróforos presentes e ainda sobre os sítios de ligação e capacidade de complexação (MOUNIER et al., 2011).

2.5 ÁREA DE ESTUDO

A descarga de água doce da bacia do rio Amazonas compreende 20 % da descarga hídrica no planeta. Além da capacidade hídrica da região, destaca-se que a biomassa da floresta amazônica representa o equivalente 100 bilhões de toneladas de carbono (MALHI et al., 2006; SAATCHI et al., 2007). Com toda esta dimensão, a região Amazônica tem grande importância não só local ou regional, mas também em uma escala global.

A bacia Amazônica possui diversos ecossistemas formados por áreas de terras firmes, terras inundáveis, várzeas e igapós. A sazonalidade e as áreas inundáveis conferem condições para rápida incorporação de material orgânico dos solos para os corpos aquáticos.

O rio Amazonas é o maior rio do mundo em termos de descargas de bacias hidrográficas e número de afluentes, recebe o nome do Solimões, a partir da fronteira com o Peru até a foz do rio Negro, e de lá para o Oceano Atlântico é chamado de rio Amazonas (KÜCHLER; MIEKELEY; FORSBERG, 2000). Afluentes do rio Amazonas exibem uma gama de características químicas. Eles têm sido classificados em três tipos, com base em sua aparência como “águas brancas”, “águas claras” e “águas pretas”. As águas pretas do rio Negro são relativamente ácidas, pobres em cátions totais e ricas em COD. As águas brancas do rio Solimões mostram um pH quase neutro sendo relativamente rica em cátions totais e em sedimentos em suspensão (AUCOUR et al., 2003). Os rios de água branca, como o Amazonas, Purus, Madeira e Juruá têm sua coloração branca ou barrenta se deve à alta carga de sedimentos transportados, oriundos dos intensos processos erosivos ocorrentes nos Andes. A concentração de metais alcalinos, carbonatos e bicarbonatos encontrados nessas águas é relativamente alta, resultando um pH entre 6,2-7,2, contendo também quantidades altas de sais minerais em solução. São consideradas águas de elevadas produtividades naturais, com alta diversidade na fauna e na flora e suas planícies são formadas por solos argilosos relativamente férteis (OLIVEIRA et al., 2011).

A maioria dos estudos na região amazônica aborda os grandes rios como Negro, Solimões, Amazonas, pouco se tem estudado sobre seus principais tributários, e sua influência

para a composição química destes. Na região de Itacoatiara, os rios Urubu e Carú são representantes das águas ácidas e ricas em carbono, denominadas águas pretas (SMITH, 1981).

Quanto aos estoques de carbono, deve-se levar em consideração que áreas, como de floresta que sofrem ações de desmatamento e queimadas, naturais ou induzidas pela ação antrópica, são fontes de emissão de CO₂ para atmosfera, bem como a formação de BC, o que influencia diretamente na estocagem do carbono nessas áreas, sejam nos solos ou nas águas (FEARNSIDE; GRAÇA; RODRIGUES, 2001; MALHI et al., 2006). Além disso, várias áreas da região Amazônica têm em seus solos a denominada “Terra Preta de Índio”, rica em BC, que foi formada pela ação antrópica de povos antigos que habitaram a região sobre restos de materiais orgânicos, decompostos e expostos a processos de queima (GLASER; BIRK, 2012). Desta maneira, os solos ricos em matéria orgânica da área de estudo, provavelmente exportam quantidades desconhecidas de BC para os corpos aquáticos da região.

A região desse estudo compreende o município de Itacoatiara que é o terceiro mais populoso do Estado do Amazonas com uma área territorial de 8.891,906 km² com clima quente, chuvoso e úmido. Esta região é considerada um dos maiores polos agropecuários da região Norte do Brasil, além de ser um importante porto fluvial para transporte de cargas e turismo. Destaca-se o plantio de mandioca, banana, milho, laranja, feijão, café e hortaliças, bem como a criação de equinos, bovinos, suínos e pesca.

3 OBJETIVO

O objetivo principal deste trabalho foi a caracterização da matéria orgânica dissolvida presente nos corpos aquáticos da região Central da Amazônia, por meio da avaliação da labilidade e sua dinâmica sazonal nos rios de águas brancas e pretas, bem como da determinação do *black carbon* dissolvido, e a interação da matéria orgânica com íons metálicos (Cu(II), Al(III) e Fe(III)). Além disso, esse estudo também visou a avaliação da qualidade das águas superficiais e sedimentos da região por meio da determinação de alguns parâmetros físico-químicos e de metais

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 PROCEDIMENTOS DE LIMPEZA DAS VIDRARIAS, COLETA E PRESERVAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os materiais (vidrarias e frascos empregados nas coletas e no armazenamento de soluções) utilizados foram limpos segundo as recomendações do Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras (CETESB, 2011). Para os materiais utilizados na coleta e ensaio de metais, esses foram lavados exaustivamente com água corrente, em seguida foram enxaguados três vezes com água deionizada e mantidas em banho de HNO_3 10% (v/v) por no mínimo 24 horas. Após este período os materiais foram enxaguados novamente com água deionizada e embalados em sacos plásticos.

Os procedimentos de amostragem e preservação das amostras de água seguiram as recomendações prescritas pelo Guia Nacional para Coleta e Preservação de Amostras para coleta de sedimentos (CETESB, 2011).

4.2 LOCAIS DE AMOSTRAGEM E PERÍODOS DE COLETA

Foram realizadas duas campanhas de coleta de amostras de água (novembro/2015 - período de seca, julho/2016- período de cheia) e uma de sedimento (novembro/2015) em rios da bacia hidrográfica amazônica, no estado do Amazonas (AM) (Tabela 1). Ao todo foram realizadas coletas de água superficial em quinze locais de amostragem, sendo três ao longo do rio Amazonas, outros oito locais ao longo de corpos aquáticos adjacentes na região do município de Itacoatiara-AM (rios Urubu, Anebá, Carú e Arari), um no rio Negro próximo a Manaus-AM, um no rio Madeira e outros dois, rio Paraconi e Igarapé Caiaué, na Área de Conservação - Floresta Nacional do Pau-Rosa, na região do município de Maués-AM (Figura 1) (Autorização de Coleta SISBIO nº 50042-2 e SISGen A0018C2). Os locais de amostragem foram selecionados em função do histórico do uso e ocupação do solo na região e atividades de criação de animais. A expedição de novembro/2015 representou a estação de seca, com aproximadamente 70 mm de precipitação mensal e a coleta realizada em julho de 2016 foi representativa do período chuvoso com 120 mm de chuvas (INMET, 2018).

Na campanha realizada em novembro/2015 também foi realizada a amostragem de sedimentos superficiais em nove pontos de amostragem (Figura 1 e 2), visto que foi inviável a coleta em todos os locais em função da limitação de amostragem por conta da profundidade de alguns rios. As amostras de sedimentos foram coletadas utilizando uma draga do tipo *Ekman*-

Birge. As amostras destinadas a determinação de metais foram armazenadas em sacos plásticos, sobre refrigeração durante a coleta e posteriormente foram congeladas até o momento das análises.

Tabela 1 – Identificação e localização dos pontos de amostragem desse trabalho.

Ponto de coleta	Classificação das águas	Código da amostra	Coordenada geográfica
rio Negro	Preta	1	S 03°04'13,74" O 60°08'26,92"
rio Madeira	Branca	2	S 03°30'14,2" O 058°53'56,3"
rio Urubu 4	Preta	3	S 02°59'15,9" O 058°27'12,7"
rio Anebé	Preta	4	S 02°57'58,5" O 058°29'51,5"
rio Urubu 3	Preta	5	S 03°00'33,1" O 058°34'13,5"
rio Carú 2	Preta	6	S 03°02'21,7" O 058°37'27,9"
rio Carú 1	Preta	7	S 03°01'11,0" O 058°34'57,4"
rio Urubu 2	Preta	8	S 03°03'17,3" O 058°34'28,8"
rio Urubu 1	Preta	9	S 03°01'52,1" O 058°34'29,2"
rio Amazonas 1	Branca	10	S 03°14'34,8" O 058°33'13,4"
rio Amazonas 2	Branca	11	S 03°09'5,6" O 058°24'15,5"
rio Amazonas 3	Branca	12	S 03°13'15,0" O 058°18'20,2"
rio Arari	Branca	13	S 03°34'24,9" O 058° 22'13,5"
rio Paraconi	Preta	14	S 03°51'24,0" O 058°19'19,8"
Igarapé Caiaué	Preta	15	S 04°02'27,8" O 058° 25'18,4"

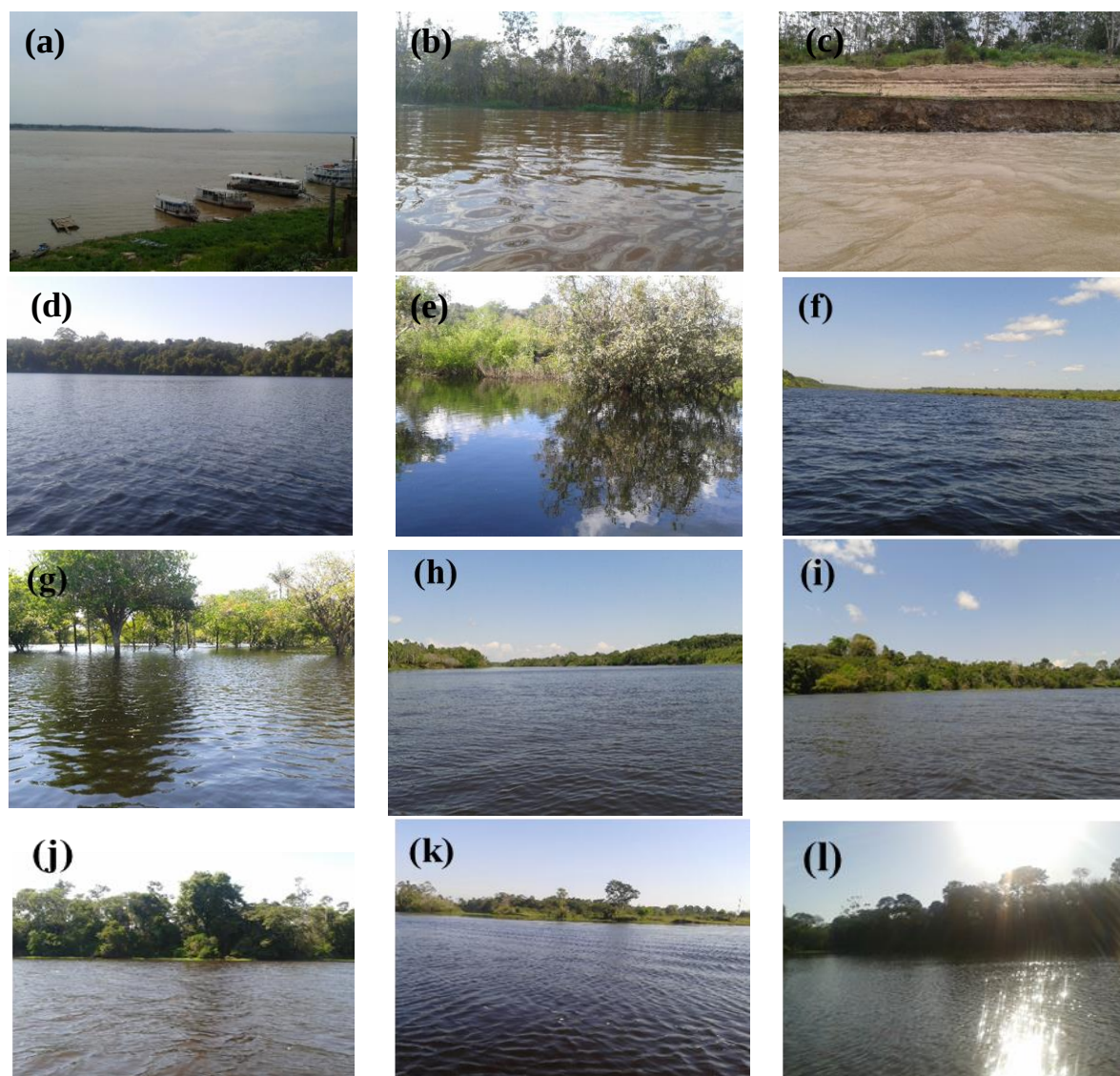
Figura 1 - Mapa da região de estudo incluindo os pontos de amostragem de água superficial (●) e sedimentos (▲): (1) rio Negro, (2) rio Madeira, (3) rio Urubu 4, (4) rio Anebé, (5) rio Urubu 3, (6) rio Carú 2, (7) rio Carú 1, (8) rio Urubu 2, (9) rio Urubu 1, (10) rio Amazonas1, (11) rio Amazonas 2, (12) rio Amazonas 3, (13) rio Arari, (14) rio Paraconi e (15) Igarapé Caiaué.



Fonte: Adaptado de Google Maps

A amostragem de água para extração de SHA foi realizada no rio Carú em Itacoatiara-AM (S 03°02'21,7''O 058°37'27,9''), durante o período de seca (até meados de Novembro/2015) e período de chuva (Janeiro a Julho/2016), sendo empregados em média 500 L em cada extração. A extração de SHA do rio Negro foi realizada no laboratório de pesquisa no INPA, sendo a amostra coletada em Manaus-AM e cedida pelo Prof. Dr. Ézio Sargentini Júnior.

Figura 2 - Imagens dos locais de amostragem do presente trabalho: (a) Amazonas 1; (b) Amazonas 2; (c) Madeira, (d) Paraconi; (e) Igarapé Caiaué; (f) Carú 1; (g) Carú 2 e (h) Urubu 1, (i) Urubu 2, (j) Urubu 3, (k) Urubu 4, (l) Arari.



Fonte: Elaborado pela autora

4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E DETERMINAÇÃO DE METAIS EM AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL E SEDIMENTOS

4.3.1 Amostras de água superficial

As medidas de pH, condutividade elétrica (CE), cor, oxigênio dissolvido (OD), temperatura (T) e turbidez foram realizadas em campo, no próprio corpo aquático, com auxílio de equipamentos multiparâmetros previamente aferidos (Hanna/HI991300 para pH/CE/STD/T, Hanna/HI96727C para cor, Hanna/HI9146-04 para OD e Hanna/HI93703C para turbidez). A análise de COT foi realizada empregando um Analisador de Carbono Orgânico (Shimadzu, TOC-VCSN).

Na determinação de metais as amostras de água foram filtradas em filtro de 0,45 µm (metal dissolvido - MD) e amostras não filtradas (metal total - MT) seguindo as recomendações do método 3005A da EPA (USEPA, 1992). As mesmas foram encaminhadas para o laboratório de Estudos em Ciências Ambientais onde foram analisadas. A diferença entre a concentração encontrada para MT e MD foi denominada metal particulado (MP). A quantificação dos metais Al, Cu, Cd, Cr, Fe, Pb e Ni foi realizada empregando espectrofotômetro de Absorção Atômica com atomização por forno de grafite – corretor Zeeman (GFAAS). Para a determinação dos elementos citados acima empregou-se uma solução de Pd/Mg(NO₃)₂ (razão 1500/1000 mg L⁻¹) como modificador químico no processo de atomização. Os parâmetros instrumentais de corrente da lâmpada, fenda do monocromador e comprimento de onda estão apresentados na Tabela 1A (Apêndice A). O controle de qualidade analítico dos dados para a quantificação dos metais nas amostras de água superficial por GFAAS foram baseados no uso de materiais referência certificados (1640a NIST® SRM® – *Trace Elements in Natural Water*) e também participação em Ensaio de Proficiência de Laboratórios realizados pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Sendo todos os resultados foram considerados muito bom, recebendo a denominação satisfatórios ($z < 2$).

4.3.2 Amostras de sedimentos

A análise de teor de umidade foi realizada secando uma massa conhecida da amostra à 105 °C em estufa até que se obtivesse uma massa constante. A determinação do teor de MO das amostras de sedimentos foi realizada por gravimetria, para isso pesou-se aproximadamente 2 g da amostra de sedimento previamente seca à 105 °C e calcinou-se a amostra em forno mufla à

750 °C durante 4 horas. O teor de MO foi determinado pela diferença da massa final do calcinado (cinzas) pela massa inicial.

A análise elementar de C, H e N das amostras de sedimentos foi realizada empregando um analisador elementar CE *Instruments*, modelo EAGER 200 (pela Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos (CAQI)). As amostras foram secas em temperatura ambiente, tiveram as folhas e outros resíduos retirados, em seguida foram peneiradas (malha com abertura de 2 mm), maceradas em almofariz e armazenadas em frascos de vidro em temperatura ambiente até o momento das análises.

A análise de pH e determinação granulométrica das amostras de sedimentos foi realizada seguindo o procedimento apresentado pelo Manual de métodos de análise de solos da Embrapa (TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, 2017).

As amostras de sedimentos foram decompostas por via úmida, seguindo o método 3050-B (USEPA, 1996). A quantificação dos elementos totais Al, Cu, Cd, Cr, Fe, Pb e Ni, nas amostras decompostas foram determinadas empregando-se o Espectrofotômetro de Absorção Atômica com Atomização por Chama (FAAS) (AA240FS, Varian, Austrália) ou Absorção Atômica com Atomização por Forno de Grafite (GFAAS) (AA280Z, Varian, Austrália). Os parâmetros instrumentais empregados nas análises estão descritos na Tabela 2A (Apêndice A). As concentrações dos elementos foram determinadas em mg kg⁻¹ considerando a massa empregada no processo de decomposição inicial. Assim como foi descrito no item 4.3.1, o controle de qualidade das determinações de metais nos sedimentos por FAAS e GFAAS também foram baseados no uso de materiais referência certificados e dos ensaios de proficiência (EMBRAPA).

4.4 ESTUDOS DA MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA: CARACTERIZAÇÃO, REATIVIDADE E EFEITO DA SAZONALIDADE

4.4.1 Determinação da Labilidade e Reatividade

Para as amostras destinadas a determinação da labilidade, a coleta foi realizada em frascos de vidro âmbar e mantidas sob refrigeração, até serem trazidas ao laboratório na UNESP. Para isso, foram empregados 1,5 L das amostras de água superficial coletadas (Novembro/2015 e Julho/2016) previamente filtradas em membranas de acetato de celulose 0,22 µm (Sartorius) e seguiu-se o método descrito por Constantino (2015) para determinação da concentração de MO lábil e MO recalcitrante. Tal método consiste em um experimento

cinético, em que se adiciona um volume de solução de H_2O_2 ($25,0 \text{ mg L}^{-1}$) para perfazer $7,1 \text{ mol L}^{-1}$ em cada frasco contendo a amostra de água superficial. Em seguida, são coletadas alíquotas de $20,0 \text{ mL}$ para determinação da concentração de H_2O_2 até o decaimento completo do mesmo ($[\text{H}_2\text{O}_2] < \text{limite de detecção}$) e então se determina a cinética de consumo do agente oxidante na presença da matéria orgânica (amostra). A concentração de H_2O_2 foi quantificada empregando método espectrofotométrico UV/Vis (BADER; STURZENEGGER; HOIGNÉ, 1988). As soluções de H_2O_2 foram padronizadas empregando permanganato de potássio (método I-117.2) (MORITA; ASSUMPÇÃO, 2001). O decaimento da concentração de H_2O_2 em função do tempo ocorre em função das características da MOD presente na amostra, ou seja, se ela se apresenta mais lábil ou mais recalcitrante.

A concentração de MO lábil foi determinada pela Equação 5:

$$[MOL] = \log\left(\frac{63,9}{t_{1/2} - 2,2}\right) + 0,12 \quad (Eq. 5)$$

Em que $t_{1/2}$ é a meia-vida do H_2O_2 (horas) e $[MOL]$ é a concentração de MO lábil (mg L^{-1}) (as constantes foram empiricamente definidas). Ademais, a concentração de MO recalcitrante (MOR) foi calculada pela diferença entre COD e MOL (CONSTANTINO, 2015).

No decorrer da cinética, alíquotas foram coletadas no início (sem adição de H_2O_2), e ao final da cinética (consumo total do H_2O_2) para verificar possíveis mudanças na composição da fração cromófora da MOD (item 4.4.2). As concentrações de COD foram realizadas empregando analisador de carbono orgânico total (TOC-VCSN, Shimadzu).

4.4.2 Avaliação da MODC: Espectrofotometria de UV-Vis e de Fluorescência Molecular

Os espectros de varredura UV-Vis das amostras empregadas no experimento cinético descrito acima (período de seca e chuva) foram obtidos empregando um espectrofotômetro UV-Vis (2600, Shimadzu) nos comprimentos de onda de 200 a 800 nm .

As amostras foram avaliadas pela determinação de alguns índices espectrais, previamente descritos no item 2.2. A razão espectral $E_2:E_3$ (razão entre as absorbâncias 250 nm e 365 nm), SUVA_{254} ($a_{254}/[\text{COD}]$, expresso em $\text{m}^{-1} \text{ L mg}^{-1}$ de COD). Além dos índices $S_{275-295}$ e $S_{350-400}$ foram calculados pela regressão linear dos espectros de $\log a$ nos intervalos de 275

a 295 nm e 350 a 400 nm, respectivamente. O S_R foi determinado pelo quociente entre os *slopes* $S_{275-295}$ e $S_{350-400}$ (HELMS et al., 2008; TFAILY et al., 2013b; WEISHAAR et al., 2003).

A caracterização por meio Espectroscopia de Fluorescência Molecular (espectrofluorímetro Lumina, ThermoScientific) foi realizada no modo MEE (3D), com varredura nos comprimentos de onda de 270 a 600 nm para emissão e de 230 a 520 nm para excitação, com abertura de fenda de 5 nm, cabe ressaltar que a absorbância em 254 nm das amostras foram medidas previamente para verificação de que o sinal fosse menor que 0,1, afim de evitar efeitos de reabsorção nas amostras durante as leituras (adaptado de LARSON et al., 2014). Os espectros EEM obtidos foram tratados empregando a técnica de estatística multivariada de Análise de Fatores Paralelos (CP/PARAFAC) empregando software Matlab R2012a.

4.4.3 Determinação de Black Carbon Dissolvido em amostras de água superficial

Para a determinação de BC dissolvido, as amostras de água superficial foram coletadas em frascos de vidro âmbar, previamente descontaminados (item 4.1). Essas amostras foram mantidas refrigeradas durante o transporte até o laboratório, onde então foram filtradas em sistema de filtração de vidro, utilizando filtros de fibra de vidro 0,7 μm (Merck Millipore) (descontaminados por pré-combustão 450 °C), em seguida as amostras foram acidificadas até pH 2 com HCl (32%) (DING et al., 2013; DITTMAR, 2008; DITTMAR et al., 2008).

A extração do DBC nas amostras de água superficial foi realizada seguindo a metodologia empregada por Dittmar et al. (2008), que consiste na extração em fase sólida empregando cartuchos SPE (*Solid Phase Extraction*) Stracta SDBL (1000 mg, 6mL) (Phenomenex, USA). O condicionamento dos cartuchos SPE foi realizado empregando um sistema Manifold (Agilent). Inicialmente, para o condicionamento dos cartuchos SPE percolaram-se 4,0 mL de metanol (J.T. Baker 99%), seguidos de 8,0 mL de água ultrapura MilliQ, e mais 4,0 mL de metanol e por último 8,0 mL de água ultrapura MilliQ acidificada (HCl 0,1 mol L⁻¹, pH 2). Em seguida foi percolado 1,0 L de amostra de água superficial por cada cartucho. Após a percolação das amostras de água, foram passados 4,0 mL solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ por cada cartucho para remoção do excesso de sais. Em seguida, os cartuchos SPE foram secos sob N₂ por no mínimo 20 minutos, em temperatura ambiente. Os cartuchos foram embalados em papel alumínio e colocados em sacos plásticos que foram selados a vácuo e foram mantidos sob refrigeração -18 °C para a futura análise.

A determinação do DBC foi realizada por meio da análise dos BPCA nos extratos de MOD no *Institute for Biodiversity and Ecosystem Dynamics (IBED)* da Universidade de Amsterdã. O protocolo utilizado para a determinação dos BPCA (Tabela 2), baseou-se no uso dos seis principais BPCA (1,2,3-B3CA; 1,2,4-B3CA; 1,3,5-B3CA; 1,2,4,5- B4CA; B5CA e B6CA) empregados como marcadores do DBC, conforme descrito na literatura (ABIVEN et al., 2011; WIEDEMEIER; BRODOWSKI; WIESENBERG, 2015).

Os cartuchos SPE contendo os extratos de MOD foram eluidos com 10,0 mL de metanol (LC-MS grade) (DITTMAR, 2008; DITTMAR et al., 2008). Previamente, foram realizados testes para verificação da eficiência de eluição dos cartuchos, em que foi verificado que empregando volumes maiores que 10,0 mL a quantificação dos BPCA não diferiram mais que 10%. Em seguida, para etapa de oxidação do BC nos BPCA, os eluatos (em metanol) foram evaporados até a secura sob fluxo de N₂ e aquecimento (40 °C). Então os extratos secos foram redissolvidos com 2,0 mL de HNO₃ (65%) e transferidos para tubos de quartzo, e empregando reatores de Teflon em um sistema fechado, para proceder a reação de oxidação do conteúdo de BC. Essa etapa de oxidação foi realizada em estufa por 8 horas a 170 °C. Após o resfriamento, os extratos ácidos foram secos sob fluxo de N₂ e aquecimento (40 °C) e redissolvidos em 1,0 mL de metanol (Biosolve B.V, LC-MS grade) As diluições apropriadas para análise dos BPCA foram feitas empregando o solvente de injeção, acetonitrila (Biosolve B.V., LC-MS grade).

A quantificação dos BPCA foi realizada empregando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (*tandem*) (UHPLC-MS-MS). Para isso, utilizou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Shimadzu, Prominence UFLC-XR) acoplado a um triplo quadrupolo (4000 QTRAP, AB Sciex) equipado com ionização *eletrospray* (ESI – *electrospray ionization*).

A análise de identificação e quantificação dos BPCA seguiu as condições pré-estabelecidas por Moga (2017). Para isso, a fase móvel empregada consistiu em dois solventes, acetonitrila (Biosolve B.V., LC-MS grade) e água ultrapura (ELGA PURELAB® Ultra, 18,2 MΩ), sendo preparados dois eluentes: Eluente A (proporção 90:10 água:acetonitrila, pH 3, 120 mmol L⁻¹ de formato de amônio(Sigma-Aldrich) e força iônica = 0,02 mol L⁻¹) e Eluente B (proporção 10:90 água:acetonitrila, pH 4, 30 mmol L⁻¹ de formato de amônio e força iônica = 0,02 mol L⁻¹), sendo empregados em modo gradiente com fluxo de 0,3 mL min⁻¹ e temperatura da coluna de 30 °C. A coluna HILIC empregada foi uma coluna de amida (Waters) com 2,1 mm de diâmetro, 100 mm de comprimento e tamanho de partícula de 1,7 µm (MOGA, 2017).

A construção das curvas analíticas para cada BPCA empregado seguiu as condições de preparo descritas na Tabela 3. Para isso, soluções estoques foram preparadas em Metanol, e diluídas para o preparo dos padrões da curva analítica em Acetonitrila.

Tabela 2 - Ácidos benzenocarboxílicos (BPCA) empregados como padrões nesse trabalho.

BPCA	Nome científico	Massa molecular (g mol ⁻¹)
B1CA	Ácido benzenocarboxílico	122,12
1,2 - B2CA-	1,2-Ácido benzenocarboxílico	166,13
1,3 - B2CA	1,3-Ácido benzenocarboxílico	166,13
1,4 - B2CA	1,4-Ácido benzenocarboxílico	166,13
1,2,3 - B3CA	1,2,3-Ácido benzenotricarboxílico	210,14
1,2,4 - B3CA	1,2,4-Ácido benzenotricarboxílico	210,14
1,3,5 - B3CA	1,3,5-Ácido benzenotricarboxílico	210,14
1,2,4,5 - B4CA*	1,2,4,5-Ácido benzenotetracarboxílico	254,15
B5CA	1,2,3,4,5-Ácido benzenopentacarboxílico	298,16
B6CA	1,2,3,4,5,6- Ácido benzenohexacarboxílico	342,16

*Os isômeros 1,2,3,4-B4CA e 1,2,3,5-B4CA não estão comercialmente disponíveis.

Fonte: Elaborado pela autora

Tabela 3 - Concentrações dos BPCA (µg L⁻¹) em cada padrão utilizado para construção das curvas analíticas.

Solução padrão	B1CA	1,2-B2CA	1,3-B2CA	1,4-B2CA	1,2,3-B3CA	1,2,4-B3CA	1,3,5-B3CA	1,2,4,5-B4CA	B5CA	B6CA
1	5	5	50	50	500	50	50	10	2000	2000
2	10	10	100	100	1000	100	100	20	4000	4000
3	15	15	150	150	1500	150	150	30	6000	6000
4	20	20	200	200	2000	200	200	40	8000	8000
5	30	30	300	300	3000	300	300	60	12000	12000
6	40	40	400	400	4000	400	400	80	16000	16000
7	50	50	500	500	5000	500	500	100	20000	20000
8	60	60	600	600	6000	600	600	120	24000	24000
9	70	70	700	700	7000	700	700	140	28000	28000
10	80	80	800	800	8000	800	800	160	32000	32000
11	90	90	900	900	9000	900	900	180	36000	36000
12	100	100	1000	1000	10000	1000	1000	200	40000	40000

Fonte: Elaborado pela autora

Após determinação da concentração dos BPCA, a concentração de DBC (nmol L^{-1}) foi estimada a partir das concentrações dos BPCA (nmol) segundo a seguinte Equação 6, proposta por Dittmar (2008):

$$[DBC] = (33,4 [B6CA] + [B5CA] + 0,5 [B4CA] + 0,5 [B3CA]) \quad \text{Eq. (6)}$$

Os cálculos envolvidos na equação acima foram baseados dois trabalhos. Dittmar e Koch (2006) em seus estudos empregando espectrometria de massas de alta resolução, caracterizaram amostras de MOD marinha, em que propuseram estruturas para a fração termogênica da matéria orgânica dissolvida. Eles verificaram a presença de mais de 200 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) contendo mais de sete anéis aromáticos e com funcionalização variada, sendo a média da fórmula molecular dessas estruturas de 33,4 carbonos. Em estudo seguinte, estruturas semelhantes foram propostas, e o estudo de oxidação em HNO_3 de produtos de degradação de carvão em solos, mostraram que cada molécula de HPA oxidada poderia levar a formação de apenas uma molécula de B6CA ou B5CA, ou então de duas moléculas de B3CA ou B4CA (HOCKADAY et al., 2007). Dessa forma a Equação 6 foi proposta por Dittmar (2008), considerando que a concentração de DBC (nmol L^{-1}) seja calculada considerando uma reação de oxidação 100 % eficiente na produção de BPCA. Em seguida, o rendimento do DBC em % molar foi calculado pela divisão da [DBC] pela [COD] de cada amostra (extração SPE).

4.5 EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS

Para a extração das SHA seguiu-se o método recomendado pela IHSS (*International Humic Substances Society*). O método de extração consiste na adsorção das SHA, na sua porção contendo grupos hidrofóbicos na resina Superlite DAX-8 (Sigma-Aldrich) (THURMAN et al., 1982). O material húmico adsorvido na resina foi eluído com solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e em seguida o extrato passou por um procedimento de purificação para a retirada do excesso de sódio, empregando resina de troca catiônica (Dowex 50WX8, *hydrogen form*, 200-400 mesh, Sigma-Aldrich). Ao final, o extrato húmico foi liofilizado (L101, Liotop). Para as amostras de SHA extraídas do rio Carú foram empregadas as seguintes denominações no decorrer desse trabalho: SHA RC-I (amostra isolada durante o período seca) e SHA RC-II (amostra isolada durante o período chuvoso), além da amostra extraída do rio Negro, então denominada SHA RN.

4.6 CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

4.6.1 Espectrofotometria UV-Vis e Fluorescência Molecular, Infravermelho e Análise Elementar

Os espectros de varredura UV-Vis das amostras de SHA foram obtidos empregando um espectrofotômetro UV-Vis (2600, Shimadzu) nos comprimentos de onda de 200 a 800 nm da amostra de SHA. As soluções de foram preparadas em 5,0 mg L⁻¹ de COT (pH 8,0 em NaHCO₃ 0,05 mol L⁻¹). As razões e índices espectrais E₂:E₃, SUVA₂₅₄, S₂₇₅₋₂₉₅, S₃₅₀₋₄₀₀ e S_R foram calculados conforme já descrito no item 4.4.2.

Para a caracterização das SHA por meio da espectroscopia de fluorescência molecular, foi empregado espectrofluorímetro (Lumina, ThermoScientific) na modalidade matriz emissão-excitação (MEE), com varredura nos comprimentos de onda de 270 a 600 nm para emissão e de 230 a 500 nm para excitação, com abertura de fenda de 5 nm. Cabe ressaltar que as amostras foram preparadas com concentração de 5,0 mg L⁻¹ de COT em pH 8,0 (NaHCO₃ 0,05 ml L⁻¹) e foram diluídas até que a absorbância em 254 nm fosse menor que 0,1, afim de evitar efeitos de reabsorção nas amostras durante as leituras. A análise elementar de C, H, S e N das amostras de SHA foi realizada empregando um analisador elementar CE *Instruments*, modelo EAGER 200, conforme já descrito no item 4.3.2. Para análise de Infravermelho, os espectros foram obtidos no modo ATR com varredura de 400 a 4000 cm⁻¹ no equipamento Spectrum Two, (Perkin Elmer).

Para a caracterização das SH aquáticas, além das técnicas analíticas clássicas empregadas, como espectrofotometria de UV-Vis, espectroscopia de fluorescência molecular e de Infravermelho, as amostras húmicas também foram caracterizadas empregando espectroscopia de RMN de ¹³C que foi realizada no Laboratório do departamento de Agricultura da Universidade de Estudos de Napoli “Federico II”.

As análises de RMN de ¹³C em estado sólido (¹³C CPMAS RMN) seguiram as recomendações de Spaccini e Piccolo (2007) e Tadini et al (2015a), empregando espectrômetro Bruker AV-300 (Bruker Instrumental Inc., Billerica, MA, EUA) equipado com uma sonda MAS com um diâmetro de 4 mm de diâmetro. Os espectros de ¹³C CPMAS RMN foram divididos em seis regiões de deslocamento químico representativas dos principais tipos de ligações de carbono: Carboxil-C (190 - 160 ppm); Fenol-C (160 - 145 ppm); Aril-C (145 - 110 ppm); O-alquil-C (110 - 60 ppm); Metoxil-C (60 - 45 ppm) e Alquila-C (0 - 45 ppm). (KÖGEL-KNABNER, 1997). A área de cada uma das regiões foi determinada por integração (software

MestreNova 6.2.0, Mestre-lab Research, 2010) e expressa em porcentagem da área total. Três índices foram determinados para avaliar a composição de MO: Razão Alquil (AR), Razão Lignina (LR) e Índice de aromaticidade (ALMENDROS et al., 2000; MATHERS et al., 2007; SPACCINI et al., 2000).

4.7 ESTUDOS DE INTERAÇÃO DE ÍONS METÁLICOS DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS COM ALUMÍNIO, COBRE E FERRO POR SUPRESSÃO DE FLUORESCÊNCIA

4.7.1 *Preparo das amostras*

Nos estudos para avaliação da capacidade de complexação das SHA com os cátions Cu(II), Al(III) e Fe(III), foram empregadas as amostras de SHA RC-I, RC-II e RN. Soluções de SHA foram preparadas com concentração de 10,0 mg L⁻¹ de COD para um volume final de 25,0 mL. O pH foi ajustado para 6,0 utilizando soluções de NaOH 0,1 mol L⁻¹ ou HCl 0,1 mol L⁻¹. Foram utilizadas as soluções estoques (5,0; 25,0 e 1000,0 mg L⁻¹) de Cu(NO₃)₂, Al(NO₃)₃ e Fe(NO₃)₃ para perfazerem as concentrações de 5, 20, 50, 75, 100, 200, 300, 500, 750, 1000, 2500 e 5000 µg L⁻¹ de cada cátion. As soluções foram mantidas sob agitação (200 rpm) durante 24 horas para que se estabelecesse o equilíbrio de coordenação entre SHA e o íon metálico (Cu(II), Al(III) e Fe(III)).

4.7.2 *Análise de Quenching de Fluorescência empregando modalidade 3D*

Após o período de 24 horas, foram obtidos os espectros de fluorescência no modo MEE para avaliação da Supressão de Fluorescência das soluções teste SHA que receberam as adições de metais. Os espectros foram obtidos variando os comprimentos de onda de Excitação de 220 a 520 nm; e Emissão de 250 a 600 nm com *slit* de emissão e excitação: 5 nm e *scan speed*: 2400 nm min⁻¹. Os espectros MEE foram submetidos ao tratamento com CP/PARAFAC empregando o software Matlab R2012a. A concentração de sítios ligantes e a constante de estabilidade conformacional (K_c) do complexo de cada fluoróforo SHA-Mⁿ⁺ foram determinados empregando pelo modelo matemático que considera o modelo de interação proposto por Ryan e Weber (RYAN; WEBER, 1982).

4.7.3 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

Para análise de Infravermelho, as soluções foram liofilizadas (MicroModulyo, ThermoSavant), e os espectros estão sendo obtidos no modo ATR com varredura de 400 a 4000 cm^{-1} . O conjunto de espectros obtidos para cada experimento foram analisados empregando análise espectroscopia de correlação bi-dimensional em que os espectros de Infravermelho foram analisados no modo síncrono e assíncrono afim de avaliar a variação espectral induzida pelas adições crescentes de metais às soluções de SHA (NODA; OZAKI, 2004).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL

5.1.1 Determinação de parâmetros físico-químicos

Os valores determinados para pH, condutividade, temperatura, concentração de COT, turbidez, cor e oxigênio dissolvido para as amostras coletadas nos períodos de seca e chuvoso estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores de pH, temperatura, carbono orgânico total (COT), turbidez, cor e oxigênio dissolvido (OD) nas amostras coletadas nos períodos de seca e de chuva nos corpos aquáticos de águas pretas e brancas da região de estudo.

Pontos de amostragem	pH	Temperatura (°C)	COT (mg L ⁻¹)	Turbidez (FTU)	Cor	OD (mg L ⁻¹)
Período de seca						
Rio Carú 1	5,35	29,5	2,93	-	-	6,6
Rio Carú 2	4,7	27,7	3,71	-	-	6,7
Rio Anebá	4,80	31,3	2,20	-	-	6,5
Rio Urubu 1	6,54	32,1	2,67	-	-	5,6
Rio Urubu 2	6,40	32,1	2,59	-	-	5,6
Rio Urubu 3	6,00	31,6	1,98	-	-	5,5
Rio Urubu 4	6,85	31,3	2,56	-	-	5,6
Rio Amazonas 1	7,26	31,1	2,48	-	-	6,3
Rio Amazonas 2	7,27	31,3	3,80	-	-	6,0
Rio Madeira	7,30	31,9	1,83	-	-	6,4
Período chuvoso						
Rio Carú 1	6,25	26,4	6,37	2,57	130,0	4,9
Rio Carú 2	6,40	30,9	6,7	1,24	135,0	6,3
Rio Anebá						
Rio Urubu 1	5,87	28,2	6,91	9,46	240	7,3
Rio Urubu 2	5,86	28,9	6,67	9,33	230	5,8
Rio Urubu 3	5,70	24,7	6,65	8,69	216,6	5,3
Rio Urubu 4	6,20	27,8	6,50	8,23	203,3	4,6
Rio Amazonas 1	6,20	29,4	3,31	63,0	353,3	6,1
Rio Amazonas 2	6,3	28,9	5,36	40,7	313,3	5,8
Rio Amazonas 3	7,13	28,4	3,01	86,0	415,0	7,3
Rio Madeira	6,11	31,6	1,84	62,3	34,5	5,5
Rio Arari	6,86	30,2	3,80	13,92	17,0	-
Rio Paraconi	5,61	31,5	4,33	0,63	80,0	4,1
Igarapé Caiuá	5,40	33,3	4,65	0,24	50,0	5,2
Rio Negro	-	-	10,37	-	-	-
Resolução CONAMA 357/2005 (rios classe 2)	6,0 a 9,0	*	*	<100 UNT	*	> 5,0 mg L ⁻¹

(-) Não determinado; (*) Parâmetro não legislado; Fonte: Elaborado pela autora

Para todas as amostras coletadas no período chuvoso foi observado aumento da concentração de COT, exceto para a amostra rio Madeira que permaneceu constante. No período chuvoso foi possível verificar que os rios de água preta possuem um incremento na concentração de COT mais expressivo que os rios de água branca. O mesmo comportamento, aumento da concentração de COD durante os períodos de cheia nas bacias hidrográficas, também foi observado para outros rios situados em florestas tropicais, bem como de regiões temperadas e de latitudes mais ao norte (COYNEL et al., 2005; SPENCER et al., 2010; STRIEGL et al., 2007). Nesses estudos, juntamente com o aumento da concentração de COD, foram observadas concentrações mais altas para lignina (Σ_8), indicando que existe uma relação direta com o ciclo hidrológico, em que nos períodos de cheia existe a incorporação de material orgânico que é lixiviado das camadas mais superficiais do solo.

Observa-se na Tabela 4 que no geral todas as amostras apresentaram valores de OD acima do valor mínimo preconizado pela Resolução CONAMA 357/2005, que é de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$. Os valores de turbidez variaram de 0,24 a 86,0 FTU; em que os maiores valores foram medidos nas amostras referentes ao rio Amazonas e Madeira, o que era esperado, pois estes rios são conhecidos por terem muitos sedimentos em suspensão, dando uma característica barrenta para suas águas (Tabela 4).

5.1.2 Determinação de metais

Como pode ser observado na Tabela 3A (Apêndice A), para todas as amostras as concentrações de Cu, Cd, Cr, Pb, Ni, Al e Fe ficaram dentro dos valores limites estabelecidos pela legislação vigente no Brasil (Resolução CONAMA 357/2005 para rios classe 2). Para as amostras Amazonas 1 e Madeira os valores foram próximos ao limite preconizado para Cu ($9,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), $6,51 \pm 2,03 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e $7,60 \pm 1,65 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

A determinação dos elementos Cr, Ni, Cd, Cu, Pb, Fe e Al totais e dissolvidos variaram conforme descrito na Tabela 3A (Apêndice A). No período de seca as concentrações de Cr total foram de $< 2,78 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para a maioria dos pontos de amostragem, com exceção dos rios de águas brancas, Amazonas 1 e Madeira, 7,67 e $10,29 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Para os rios de águas pretas destacam-se os rios Anebé e Urubu 2 com concentrações de $13,15 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e $5,58 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. A maior parte dos metais (aproximadamente 70 %) está presente na fração particulada, o que indica uma maior contribuição para o Rio Amazonas e maior distribuição ao longo da bacia hidrográfica com contribuição para o oceano. Para o período

chuvoso observou-se um decréscimo na concentração de Cr para os pontos rio Amazonas 1 e Madeira (Tabela 3A, Apêndice A).

Para todos os corpos aquáticos estudados as concentrações de Ni total foram geralmente inferiores ao limite de quantificação do método empregado ($1,22 \mu\text{g L}^{-1}$) e menores que o preconizado pela legislação brasileira (BRASIL, 2005). Exceções foram observadas para os locais de amostragem rios Amazonas 1 e Madeira ($5,41 \mu\text{g L}^{-1}$ e $8,75 \mu\text{g L}^{-1}$) na estação seca, sendo 43,9 % na fração metal particulado para Amazonas 1 e 76,7 % para Madeira. Cabe ressaltar que no período chuvoso foi realizada amostragem de mais um ponto ao longo do rio Amazonas (Amazonas 3), tendo esse sido o único a apresentar valores superiores ($7,16 \mu\text{g L}^{-1}$) ao observado para o ponto Amazonas 1 (a montante de Itacoatiara) e Amazonas 2 (a jusante de Itacoatiara). Concentrações de Cd foram todas inferiores aos valores preconizados pela legislação brasileira, tanto no período seco quanto chuvoso.

As concentrações de Cu para as amostras obtidas no período de seca, estiveram abaixo do limite de quantificação para todos os pontos de amostragem, com exceção do rio Madeira (MT $5,68 \mu\text{g L}^{-1}$ e MD $3,44 \mu\text{g L}^{-1}$). Entretanto, houve um incremento de Cu nos pontos amostrados durante período chuvoso indicando que os mesmos são oriundos de fontes difusas e que poderia estar associado ao uso de cobre como fungicida nas atividades agrícolas da região, ou ainda, serem oriundos do próprio solo. Destaca-se que os maiores valores foram observados para os rios de águas brancas. A maior parte do elemento está presente na fração particulada. Destacam-se os pontos Amazonas 2 e Madeira com valores superiores ao legislado ($9,0 \mu\text{g L}^{-1}$).

No período de seca, as maiores concentrações de Pb total foram observadas para rios de águas brancas, Amazonas e Madeira, com as concentrações mais elevadas de $16,38$ e $13,66 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, bem como rios de águas pretas tais como Urubu 2 e Urubu 4, situados próximos a áreas mais urbanizadas, com valores de metal total de $7,84 \mu\text{g L}^{-1}$ e $17,59 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. A concentração encontrada no rio Urubu ultrapassou o valor preconizado pela legislação. Mais do que 80 % da concentração de Pb encontrada está na forma particulada, o que pode estar relacionado ao pH, já que íons Pb tendem a formar precipitados em pH 5 a 9 (MARTÍN-TORRE et al., 2015). No período chuvoso as concentrações foram todas inferiores ao limite de quantificação do método empregado ($< 5,66$), o que é decorrente do elevado volume de água reforçando que a fonte deste elemento seja pontual para o Pb nas localidades em questão.

Tanto para as coletas no período de seca e chuvoso foram observadas concentrações de Fe e Al total, sendo que algumas ultrapassaram os valores legislados para algumas localidades (Tabela 3A, Apêndice A). Estes elementos costumam estar presentes naturalmente nos solos. As concentrações de ferro total foram em geral maiores no período de seca e menores no período chuvoso, com exceção do ponto Carú 1 (Tabela 3A, Apêndice A). A concentração de Fe na forma particulada variou de 30 % a 90 % do estoque total do elemento. Com relação ao MT, foram observados valores maiores para o período de seca, estando estes também acima do valor preconizado pela legislação.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SEDIMENTOS

5.2.1 *Análises físico-química das amostras de sedimento superficiais*

Os valores de pH encontrados para as amostras de sedimentos variaram de 5,43 a 7,14 (Tabela 5). O pH da maioria das amostras, principalmente de rios de águas brancas, apresentou-se próximo da neutralidade, considerado ideal para corpos aquáticos. Visto que a biota ocupa principalmente a faixa superficial dos sedimentos como habitat e valores de pH próximos aos extremos poderiam causar algum efeito nocivo aos organismos, além de impactar nos fluxos difusivos dos elementos retidos nos sedimentos para a coluna d'água. Entretanto, para as amostras de sedimentos Anebá e Carú 2, os valores de pH foram mais baixos, 5,77 e 5,43, respectivamente. Esses valores são relativos as características dos rios de águas pretas, pois esses são ricos em MO.

Pode-se observar que a maioria dos sedimentos apresentou elevado teor de silte, em que a fração siltosa variou de 65,7 % a 91,9 % (Tabela 5). Ainda na Tabela 5, pode-se observar que o teor de areia (fina + grossa) variou de 30,7 % a 0,8 %, sendo maior predomínio nos sedimentos de rios de águas brancas (Amazonas 1 e Madeira). A fração argilosa representou a menor porção nos sedimentos superficiais amostrados, variando de 9,40 % a 3,60 %, em que se destacam os maiores teores nos sedimentos de rios de águas pretas.

Os teores de MO das amostras de sedimentos superficiais podem ser observados na Tabela 5. Os valores elevados encontrados nas amostras Carú 2 e Anebá, podem ser associados ao fato de serem sedimentos de textura predominantemente siltosa, compostos exclusivamente de partículas finas, as quais a matéria orgânica tem mais facilidade para se associar.

Tabela 5 - Teores de argila, areia e silte, C, N, S, MO e valores de pH para as amostras de sedimentos superficiais de rios da região de Itacoatiara-AM.

	% Argila	% Areia	% Silte	%C	%H	%N	%S	%MO	pH
Amazonas 1	8,10	87,92	3,98	0,35	1,51	<LD	<LD	2,53 ± 0,03	7,14
Amazonas 2	7,18	22,45	70,37	0,92	1,43	<LD	<LD	4,93 ± 0,11	7,02
Madeira	3,60	30,72	65,67	0,54	1,04	<LD	<LD	4,55 ± 0,11	5,43
Carú 2	9,40	2,46	88,14	0,26	0,86	<LD	<LD	24,77 ± 0,00	6,16
Anebé	7,33	0,80	91,87	11,21	2,71	0,58	4,14	27,85 ± 0,21	5,77
Urubu 1	8,09	85,79	6,12	0,43	2,14	<LD	<LD	4,08 ± 0,18	6,21
Urubu 2	8,55	5,85	85,60	0,32	1,13	<LD	<LD	0,63 ± 0,04	6,28
Urubu 3	7,18	88,02	4,80	<LD	<LD	<LD	<LD	0,25 ± 0,06	6,57

Fonte: Elaborado pela autora

5.2.2 Determinação de metais totais e dissolvidos

Devido à inexistência de legislações brasileiras que abordem valores orientadores de metais em sedimentos não sujeitos a dragagem, as concentrações de metais determinados, serão comparadas com Valores Guia de Qualidade de Sedimentos (VGQS) elaborados por McDonald e colaboradores (1996) e adotados pelo *Canadian Council of Ministers of the Environment* (CCME). Os VGQS permitem estimar se determinado contaminante está presente em uma concentração mínima a qual foi atribuída a ocorrência de efeitos tóxicos a biota. Estes valores são apresentados como TEL (*Threshold Effect Level*), em que concentrações abaixo das quais efeitos adversos à biota raramente ocorrem, ou ainda, como PEL (*Probable effect level*) em que valores acima dessas concentrações indicaram prováveis efeitos à biota.

Na Tabela 6 são apresentados os resultados obtidos de metais presentes nas amostras de sedimentos superficiais coletados em Novembro/2015. Para todos os sedimentos a concentração dos metais analisados apresentaram resultados inferiores aos valores de PEL, indicando que as concentrações dos metais analisados estão abaixo dos valores aos quais são atribuídos prováveis efeitos tóxicos a biota (Tabela 6). Contudo, deve ser dada atenção a alguns rios em que os valores determinados ficaram próximos aos limites de TEL.

Os sedimentos do rio Madeira apresentaram concentrações de Cr e Cu foram de $27,5 \pm 4,3 \text{ mg kg}^{-1}$ e $26,6 \pm 6,2 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente, que estão próximas ao valor de TEL ($37,3 \text{ mg kg}^{-1}$ Cr e $35,7 \text{ mg kg}^{-1}$ Cu). A amostra Amazonas 2 apresentou concentração próxima ao

TEL para Cr ($28,4 \pm 4,5 \text{ mg kg}^{-1}$). Para Zn todas as amostras apresentaram resultados bastante inferiores ao valor de TEL ($123,0 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Zn}$). A concentração de Al variou de $0,56 \text{ g kg}^{-1}$ a $57,15 \text{ g kg}^{-1}$ para os sedimentos coletados em rios de águas pretas, enquanto que para os coletados em rios de águas brancas essa variação foi de $13,79 \text{ g kg}^{-1}$ a $132,61 \text{ g kg}^{-1}$ (Tabela 6).

Tabela 6 - Valores determinados para Pb, Cr, Ni, Al, Fe, Cu, e Zn nas amostras de sedimentos superficiais coletados na amostragem realizada em Novembro/2015.

	Pb mg kg^{-1}	Cr mg kg^{-1}	Ni mg kg^{-1}	Al g kg^{-1}	Fe g kg^{-1}	Cu mg kg^{-1}	Zn mg kg^{-1}
Amazonas 1	$9,5 \pm 1,0$	$18,9 \pm 0,2$	$10,7 \pm 0,8$	$13,79 \pm 1,05$	$1,06 \pm 0,03$	$13,0 \pm 0,9$	$24,5 \pm 2,6$
Amazonas 2	$28,0 \pm 0,6$	$28,4 \pm 4,5$	$14,8 \pm 0,3$	$21,88 \pm 0,14$	$1,43 \pm 0,31$	$26,3 \pm 0,5$	$40,4 \pm 2,6$
Madeira	$15,2 \pm 3,0$	$27,5 \pm 4,3$	$17,1 \pm 2,8$	$132,61 \pm 2,79$	$1,97 \pm 0,07$	$26,6 \pm 6,2$	$49,9 \pm 10,6$
Carú 1	$19,6 \pm 0,9$	$19,5 \pm 1,2$	$< 1,2$	$44,95 \pm 1,74$	$1,44 \pm 0,17$	$< 4,7$	$11,7 \pm 0,4$
Carú 2	$0,2 \pm 0,3$	$2,2 \pm 0,1$	$< 1,2$	$1,20 \pm 0,10$	$0,05 \pm 0,01$	$< 4,7$	$0,6 \pm 0,3$
Anebá	$21,1 \pm 4,9$	$23,4 \pm 5,0$	$9,0 \pm 0,7$	$57,15 \pm 0,59$	$1,49 \pm 0,34$	$16,0 \pm 0,6$	$9,7 \pm 2,2$
Urubu 1	$10,9 \pm 0,3$	$21,8 \pm 0,7$	$9,7 \pm 0,02$	$18,44 \pm 0,40$	$1,27 \pm 0,03$	$13,9 \pm 0,3$	$31,3 \pm 0,5$
Urubu 2	$2,5 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,1$	$< 1,2$	$2,09 \pm 0,22$	$0,65 \pm 0,11$	$< 4,7$	$3,3 \pm 0,9$
Urubu 3	$1,6 \pm 0,4$	$1,4 \pm 0,2$	$< 1,2$	$0,56 \pm 0,02$	$0,13 \pm 0,01$	$< 4,7$	$1,2 \pm 0,1$
TEL	35,0	37,3	*	*	*	35,7	123,0
PEL	91,3	90	*	*	*	197,0	315,0

(*) Não legislado; Fonte: Elaborado pela autora

5.3 CARACTERIZAÇÃO DA MOD PRESENTE NAS AMOSTRAS DE ÁGUAS BRANCAS E PRETAS E EFEITO SAZONAL

5.3.1 Labilidade e recalcitrância da MOD

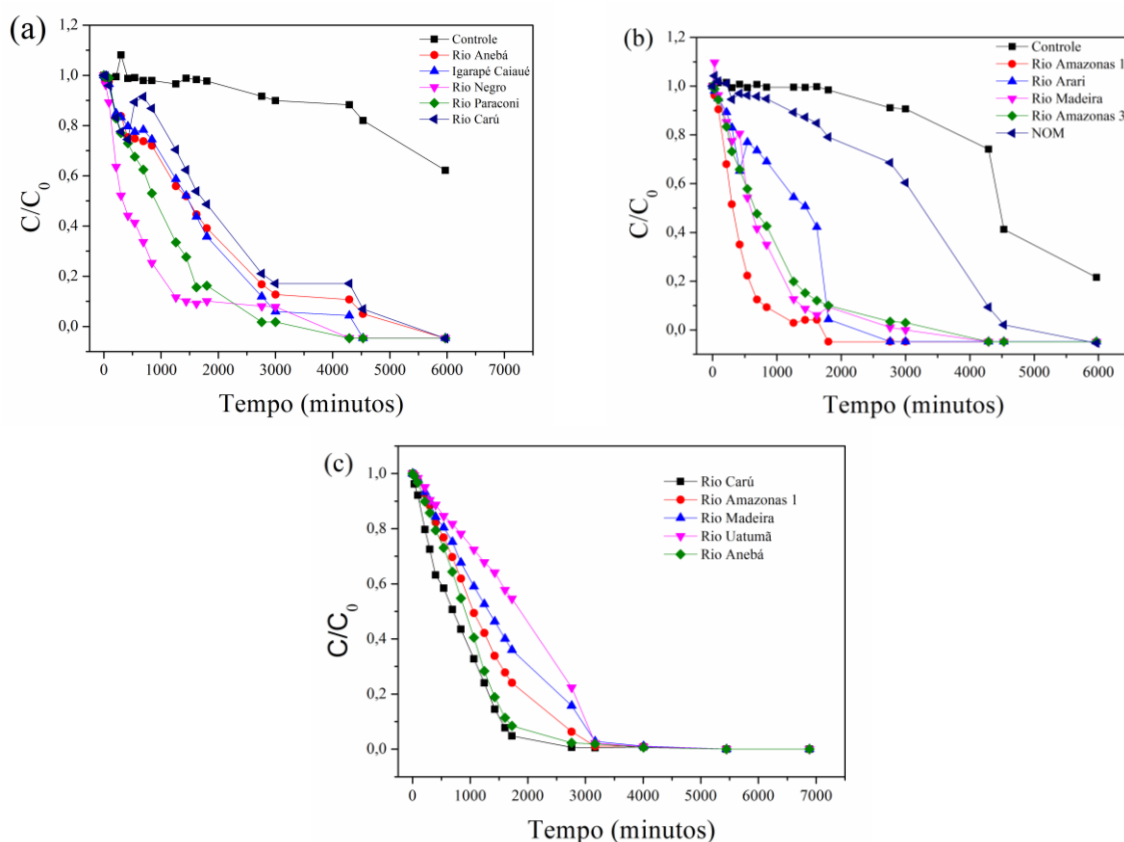
A determinação da labilidade foi realizada visando entender a diversidade química da MOD presente nas águas superficiais desse estudo. Tal característica foi avaliada pela cinética de consumo de H_2O_2 que está ilustrada na Figura 3.

Neste experimento pode-se observar que os perfis cinéticos de consumo de H_2O_2 nos microcosmos foram bastante distintos para os rios de águas pretas e brancas (Figura 3a-c).

Para o período chuvoso, observando o perfil cinético de consumo de H_2O_2 , destaca-se que as amostras de rios de águas pretas tiveram uma cinética mais lenta, com decaimento máximo da concentração de H_2O_2 após 4000 minutos, indicando maior recalcitrância dos componentes da MOD presente nessas amostras frente a ação do H_2O_2 (Figura 3a). Por outro lado, para os rios de águas brancas o decaimento da concentração de H_2O_2 foi mais rápido e ocorreu por volta de 2500 minutos (Figura 3b). No microcosmo contendo a amostra de NOM (IHSS) o consumo de H_2O_2 ocorreu por volta de 4500 minutos (Figura 3b).

Na Figura 3c são observados os perfis de consumo de H_2O_2 para as amostras coletadas no período de seca, os quais tiveram um comportamento inverso ao observado para as amostras coletadas no período chuvoso.

Figura 3 -Variação da concentração de H_2O_2 em função do tempo, para experimentos em microcosmos realizados com amostras coletadas no período chuvoso em rios de águas (a) pretas e (b) brancas, bem como para (c) amostras coletadas durante o período de seca.



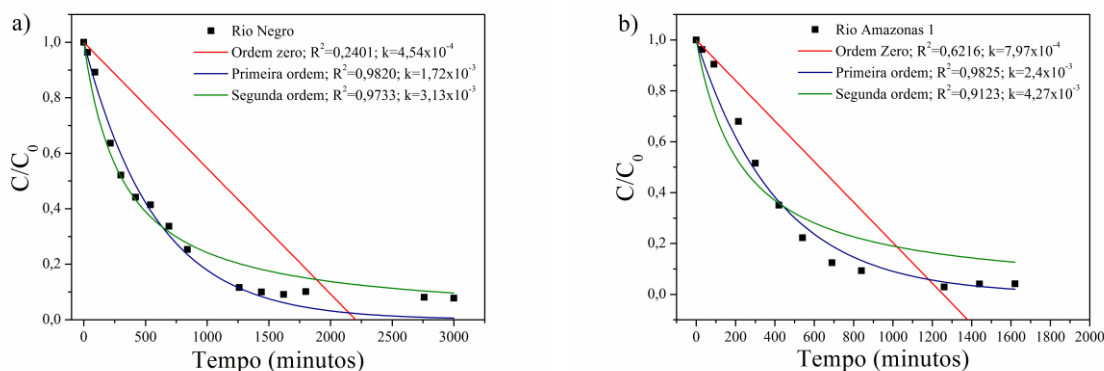
(*) Amostra referência de matéria orgânica comercializada pela IHSS (Suwannee river NOM, solução 5,0 mg L^{-1} de COT). Fonte: Elaborado pela autora

As amostras referentes aos rios de águas pretas (rios Carú e Anebá) apresentaram uma cinética de consumo de H_2O_2 mais rápida, sugerindo a presença de maior concentração de MOL em sua composição, ou seja, de componentes mais reativos ao H_2O_2 , quando comparadas ao perfil cinético obtido para as amostras de águas dos rios de águas brancas (rios Amazonas 1 e Madeira), que apresentaram um decaimento da concentração de H_2O_2 mais lento (Figura 3c).

Os dados das cinéticas de consumo de H_2O_2 foram testados para a determinação da ordem de reação, baseada na melhor correlação obtida entre os modelos de ordem zero, primeira e segunda ordem (Figura 4).

Para a quantificação da concentração de MO lábil (MOL) e MO recalcitrante (MOR) é necessária a determinação da meia-vida do H_2O_2 , a qual foi calculada segundo as ordens de reação e a $k_{\text{H}_2\text{O}_2}$ para cada amostra, conforme método descrito por Constantino (2015). Os resultados das meias-vidas do H_2O_2 em cada microcosmo são mostrados na Tabela 7.

Figura 4 - Aplicação das equações de ordem de reação: ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para os microcosmos com amostras do (a) rio Negro (água preta) e (b) rio Amazonas 1 (água branca).



Fonte: Elaborado pela autora

A partir dos resultados apresentados na Tabela 7, utilizando a equação desenvolvida no trabalho de Constantino (2015) (Equação 5) foram calculadas as concentrações de MO lábil. A concentração de MO recalcitrante foi determinada pela diferença entre a concentração de COD e concentração de MO lábil. As concentrações de MO lábil, recalcitrante e concentração inicial de COD para cada amostra estão apresentadas na Tabela 8.

Tabela 7 - Valores de meia-vida ($t_{1/2}$), ordem de reação e $k_{H_2O_2}$ obtidos da cinética de consumo de H_2O_2 para as amostras do experimento em microcosmos realizado com amostras de águas brancas (AgB) e pretas (AgP) nos períodos de seca e de chuva.

Amostras	$t_{1/2}$ (H_2O_2) (horas)	Ordem de reação	$k_{H_2O_2}$
Período de seca			
Amazonas 1 (AgB)	17,07	Primeira ordem	$6,77 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$
Madeira (AgB)	22,07	Primeira ordem	$5,248 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$
Anebá (AgP)	15,20	Ordem Zero	$5,48 \times 10^{-4} \mu\text{mol}^{-1} \text{ min}^{-1}$
Carú (AgP)	10,13	Primeira ordem	$1,14 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$
Período chuvoso			
Amazonas 1 (AgB)	4,81	Primeira ordem	$2,40 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$
Amazonas 3 (AgB)	10,31	Primeira ordem	$1,12 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$
Madeira (AgB)	9,63	Primeira ordem	$1,20 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$
Arari (AgB)	19,94	Ordem Zero	$4,18 \times 10^{-4} \mu\text{mol}^{-1} \text{ min}^{-1}$
Anebá (AgP)	21,96	Primeira ordem	$5,26 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$
Carú (AgP)	28,52	Primeira ordem	$4,05 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$
Negro (AgP)	6,72	Primeira ordem	$1,72 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$
Paraconi (AgP)	13,25	Primeira ordem	$8,72 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$
Igarapé Caiaué (AgP)	20,13	Primeira ordem	$5,34 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$
NOM	48,73	Ordem Zero	$1,71 \times 10^{-4} \mu\text{mol}^{-1} \text{ min}^{-1}$

Fonte: Elaborado pela autora

Tabela 8 - Concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD), matéria orgânica lábil (MOL) e recalcitrante (MOR) determinadas para as amostras do experimento em microcosmos realizado com amostras águas brancas (AgB) e pretas (AgP) nos períodos de seca e de chuva.

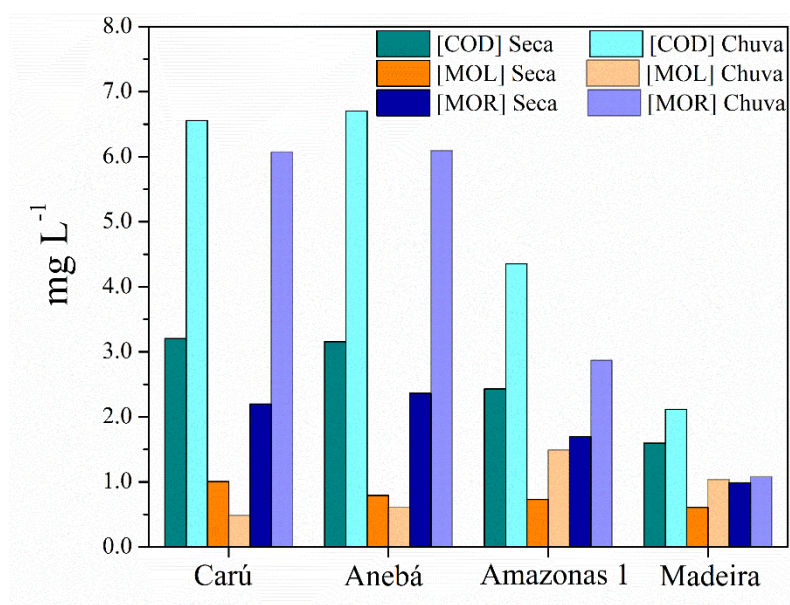
Amostras	[COD] (mg L^{-1})	[MOL] (mg L^{-1})	[MOR] (mg L^{-1})
Período de seca			
Amazonas 1 (AgB)	2,43	0,73	1,70
Madeira (AgB)	1,60	0,61	0,99
Anebá (AgP)	3,15	0,79	2,36
Carú (AgP)	3,20	1,01	2,20
Período chuvoso			
Amazonas 1 (AgB)	4,35	1,49	2,87
Amazonas 3 (AgB)	4,59	1,00	3,59
Madeira (AgB)	2,11	1,03	1,08
Arari (AgB)	3,83	0,66	3,17
Anebá (AgP)	6,70	0,61	6,09
Carú (AgP)	6,56	0,48	6,07
Negro (AgP)	10,03	1,25	8,78
Paraconi (AgP)	5,18	0,86	4,32
Igarapé Caiaué (AgP)	3,54	0,65	2,89
NOM	5,16	0,24	4,92

Fonte: Elaborado pela autora

No período chuvoso há um incremento na concentração de COD, como pode ser observado para as amostras que foram coletadas nos dois períodos (Tabela 8). Com o aumento da incidência dos eventos de chuva é esperado o aumento da concentração de COD devido à incorporação de material lixiviado, derivados de degradação alóctone. Ao final dos experimentos cinéticos verificou-se que a variação da concentração de COD foi inferior a 10 % para todas as amostras, comparando as concentrações de COD iniciais e finais dos experimentos cinéticos, para ambos os períodos de amostragem. Acredita-se que o H_2O_2 esteja reagindo com a MOD de maneira que ocorram transformações químicas na MOD das amostras, o que será apresentado nos itens de discussão a seguir, mas não a mineralização da MOD. Contudo, os reatores utilizados eram sistemas abertos, o que também pode ter permitido trocas gasosas e possíveis alterações no conteúdo de carbono inorgânico o que por exemplo pode ter afetado a aferição real dos dados de CI e consequentemente de COD.

Para fins comparativos, a Figura 5 ilustra as concentrações de MO lábil e recalcitrante em relação ao conteúdo total de COD das amostras de água superficial dos rios de águas pretas e brancas, que foram coletados em ambos os períodos de amostragem.

Figura 5 - Concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD), matéria orgânica lábil (MOL) e recalcitrante (MOR) determinadas para amostras coletadas nos períodos de seca e chuva nos rios Carú, Anebé, Amazonas 1 e Madeira.



*Classificação das águas: *Águas Pretas*: Carú e Anebé e *Águas Brancas*: Amazonas 1 e Madeira.
Fonte: Elaborado pela autora

Pode se observar que a concentração de MO recalcitrante foi sempre maior que a concentração de MO lábil, para ambos os períodos de amostragem. Esse comportamento era esperado, pois é de amplo conhecimento que grande parte da MON presente nos corpos aquáticos é oriunda da formação alóctone e é transportada via escoamento superficial dos solos (JAFFÉ et al., 2013). São crescentes na literatura os trabalhos de discussão que propõe uma visão mais ampla sobre os domínios da MO persistente (mais recalcitrante) no ambiente aquático (Figura 5).

Trabalhos mais recentes incorporam as variáveis ambientais como clima, tipo de solo, condições redox e disponibilidade de nutrientes, e consequentemente a atividade de degradação microbiológica nos solos às características de persistência da MON e não somente a sua composição química. Dessa forma, as características da MO que se acumula nos solos e que é posteriormente lixiviada são dependentes de diversos processos, além da consideração de que a MO derivada de plantas terrestres deva ser majoritariamente considerada como recalcitrante devido sua origem (MARÍN-SPIOTTA et al., 2014). Portanto, o emprego de outras técnicas analíticas pode contribuir para o entendimento das diferenças de reatividades da MOD presente nessas amostras.

Pode-se observar que para as amostras coletadas no período de seca, as amostras Amazonas 1 e Madeira (rios de águas brancas) apresentaram menor concentração de MO lábil, 0,73 e 0,60 mg L⁻¹, respectivamente. As amostras referentes aos rios de águas pretas, Carú e Anebá, apresentaram maiores concentrações de MO lábil sendo 1,01 e 0,79 mg L⁻¹, respectivamente, bem como as maiores concentrações de COD (Figura 5).

No período chuvoso, foi observado um comportamento inverso das concentrações de MO lábil, em relação ao período de seca, em que as amostras Amazonas 1 e Madeira tiveram um aumento de 51 e 41%, respectivamente, nas concentrações de MO lábil (Figura 5). Cabe ressaltar que apesar da concentração de COD também ter aumentado nesse período, ela não foi proporcional ao aumento de MO lábil, sendo essa variação menor que 50 % para essas amostras. Isso indica que o aumento na concentração de MO lábil se deve a incorporação de MO mais reativa nesses rios e não somente a um efeito de incorporação (concentração) de COD.

Para as amostras Carú e Anebá (águas pretas) houve um incremento de aproximadamente 50% nas concentrações de COD, porém foi observado um decréscimo de 52,5% na concentração de MO lábil para amostra Carú, e de 22% para a amostra Anebá. Essas constatações reforçam que há um aporte de MO com reatividades distintas durante o ciclo hidrológico (Figura 5). Sleighter e seus colaboradores (2014) realizaram experimentos de

biodegradação acerca da labilidade MON e verificaram a mesma variabilidade entre as concentrações das frações lábil, semi-lábil e recalcitrante nas amostras de água superficial empregadas em seus estudos. Verificou-se que a porção lábil foi duas vezes maior para amostras coletadas durante o outono, devido à queda mais intensa de folhas e consequente incorporação de MO mais fresca nos corpos aquáticos.

5.3.2 Avaliação da matéria orgânica dissolvida cromófora durante os experimentos de cinética de consumo de peróxido de hidrogênio

A Tabela 9 apresenta os índices $SUVA_{254}$, S_R além das razões $E_2:E_3$ calculados com base nas medidas de UV-Vis determinadas nas amostras antes e ao final do experimento cinético empregando H_2O_2 .

O parâmetro $SUVA_{254}$ tem sido positivamente correlacionado com aromaticidade da MOD cromófora (WEISHAAR et al., 2003). Pode-se verificar que para todas as amostras houve um decréscimo do valor de $SUVA_{254}$ durante o experimento cinético empregando H_2O_2 , indicando que ocorreram alterações na MOD cromófora presente nas amostras. Para a determinação de $SUVA_{254}$ calcula-se o quociente da absorbância em 254 nm pela concentração de COD na amostra, e como já citado no item 5.3.1, durante os experimentos cinéticos a variação da concentração de COD foi menor que 10 %. Dessa maneira, conclui-se que a variação dos valores de $SUVA_{254}$ nessas amostras se deve principalmente a mudanças de natureza química na composição das mesmas, ocasionada pela ação do H_2O_2 , e não devido a alguma variação na concentração de COD, utilizado como quociente no cálculo de $SUVA_{254}$ (Tabela 9).

Além da variação do índice $SUVA_{254}$ ser um indicativo de sutis mudanças na composição da MOD cromófora durante a cinética de consumo de H_2O_2 , os resultados obtidos também destacam os efeitos da sazonalidade, como era esperado. Os valores de $SUVA_{254}$ variam entre período de seca e chuva de 3,80 - 4,32; 4,25 - 4,51; 4,65 - 4,79; 4,17-5,16, para os rios Carú, Anebá, Amazonas 1 e Madeira, respectivamente. Além disso, houve um incremento de MOD cromófora de natureza mais aromática na estação chuvosa (Tabela 8). O mesmo comportamento foi observado por Spencer e seus colaboradores (2010), em que os autores correlacionaram a influência temporal na quantidade e na composição química da MOD em rios da bacia hidrográfica de uma região de floresta tropical (rio Epulu - República do Congo). Maiores valores de $SUVA_{254}$, menores valores para S_R indicam que existe um aporte de MO

com maior massa molecular e mais estruturas aromáticas, que pode ser relacionada como processo de lixiviação mais intenso das camadas superficiais do solo no período chuvoso, que também coincide com o outono, estação característica pela intensa queda de folhas da vegetação, que aumentando a quantidade material passível de ser degradado e então lixiviado (CORY; KAPLAN, 2012a).

Tabela 9 - Propriedades espectrais obtidas para matéria orgânica dissolvida cromófora das amostras de águas pretas (AgP) e brancas (AgB) coletadas durante as duas campanhas 1 (Nov/15 -seca) e 2 (Jul/16-chuvosa) nas amostras empregadas nos experimentos cinéticos; em que: (In) Início e (F).

Amostras	Coleta/Cinética	S ₂₇₅₋₂₉₅	S ₃₅₀₋₄₀₀	S _R	SUVA ₂₅₄ ^d (L mg ⁻¹ de C m ⁻¹)	E ₂ :E ₃
Carú (AgP)	1/(In)	0,0052	0,0066	0,783	3,81	3,91
	1/(F)	0,0051	0,0065	0,785	3,56	4,03
	2/(In)	0,0062	0,0071	0,871	4,32	4,45
	2/(F)	0,0061	0,0070	0,861	4,31	4,49
Anebé (AgP)	1/(In)	0,0055	0,0066	0,834	4,25	4,15
	1/(F)	0,0055	0,0067	0,819	4,09	4,13
	2/(In)	0,0059	0,0072	0,816	4,51	4,37
	2/(F)	0,0056	0,0058	0,962	-	3,67
Madeira (AgB)	1/(In)	0,0069	0,0064	1,083	4,17	4,52
	1/(F)	0,0067	0,0062	1,082	4,07	4,58
	2/(In)	0,0063	0,0070	0,895	5,16	4,52
	2/(F)	0,0060	0,0070	0,854	5,06	4,58
Amazonas 1 (AgB)	1/(In)	0,0060	0,0062	0,974	4,65	4,18
	1/(F)	0,0060	0,0062	0,963	4,48	4,15
	2/(In)	0,0052	0,0067	0,774	4,78	3,84
	2/(F)	0,005	0,007	0,800	4,66	3,94
Uatumã (AgP)	1/(In)	0,0070	0,0065	1,077	3,36	4,94
	1/(F)	0,0069	0,0069	1,001	2,86	4,81
Negro (AgP)	2/(In)	0,0051	0,0070	0,731	5,27	3,85
	2/(F)	0,0051	0,0069	0,738	5,18	3,87
Amazonas 3 (AgB)	2/(In)	0,0051	0,0067	0,766	5,29	3,86
	2/(F)	0,0050	0,0067	0,754	5,25	3,82
Arari (AgB)	2/(In)	0,0057	0,0072	0,789	5,25	4,14
	2/(F)	0,0056	0,0067	0,838	-	3,94
Paraoni (AgP)	2/(In)	0,0059	0,0076	0,776	3,77	4,55
	2/(F)	0,0059	0,0074	0,792	3,63	4,49
NOM	2/(In)	0,0056	0,0077	0,725	4,13	4,31
	2/(F)	0,0063	0,0062	1,013	4,13	4,40

(-) valor não determinado;

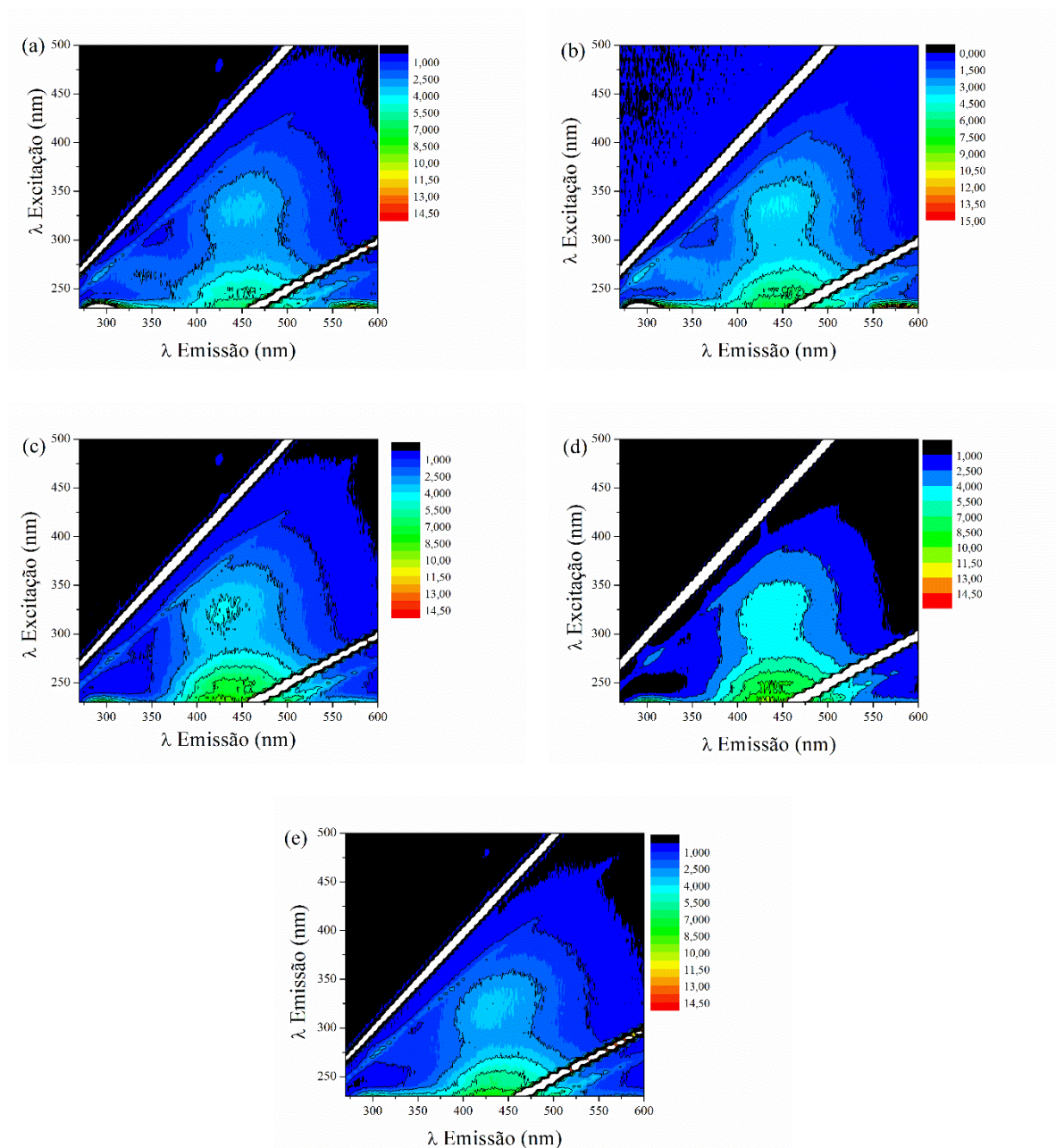
Classificação das águas - Águas Pretas: Carú, Anebé, Uatumã, Negro, Paraoni; Águas Brancas: Amazonas 1, Amazonas 3, Arari e Madeira.

Fonte: Elaborado pela autora

Os resultados apresentados a seguir avaliam a reatividade da subfração da MOD cromófora, denominada matéria orgânica dissolvida fluorescente (MODF). A Figura 6 ilustra

os espectros de fluorescência obtidos no modo Matriz Emissão-Excitação para as amostras de água superficial coletadas durante o período de seca.

Figura 6 - Espectros de Fluorescência obtidos no modo Matriz Emissão-Excitação (MEE) para as amostras de águas superficiais coletadas no período de seca e empregadas no experimento cinético: (a) rio Carú; (b) rio Anebé; (c) rio Madeira; (d) rio Amazonas e (e) rio Uatumã.



Classificação das águas - *Águas Pretas*: Carú, Anebé e Uatumã; *Águas Brancas*: Amazonas 1 e Madeira.
Fonte: Elaborado pela autora

O contorno dos espectros permite prever que a emissão de fluorescência é proveniente da contribuição de diferentes fluoróforos, como por exemplo foi observada a presença dos picos A e C, relativos aos componentes húmicos, em que esses picos possuem forma alongada e com algum deslocamento, característicos da contribuição de mais de um fluoróforo. Além disso, possivelmente há algum componente do tipo proteico pelas intensidades de emissão com excitação na região do UV, como era esperado considerando as características das amostras (Figura 6).

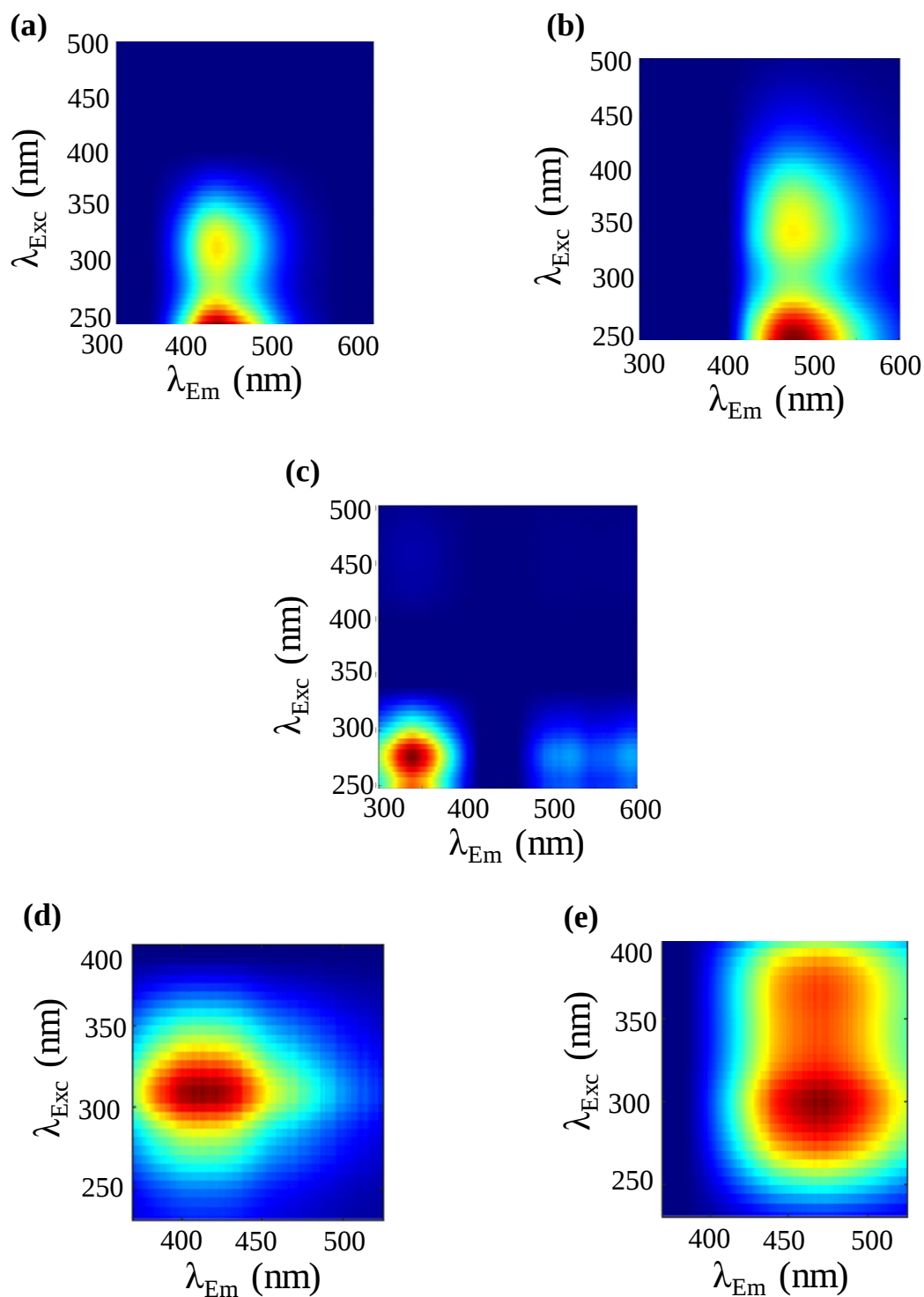
De maneira geral, os espectros obtidos apresentaram picos de emissão máxima que variaram de 400 a 450 nm, comprimentos de onda mais longos, ou seja, de maior energia, característicos da região do vermelho. Picos nessa região são típicos da presença de estruturas químicas mais complexas, como das ligações C=C de compostos aromáticos, que se deslocaram mais para região do vermelho para as amostras Carú e Anebá, indicando maior conjugação ou conteúdo aromático. Portanto, é possível inferir que essas amostras possuem influência de menos componentes fluoróforos, visto que os espectros têm um contorno mais definido. Tal fato pode indicar a presença de majoritária de fluoróforos puros na amostra (que serão discutidos a seguir). Todas as amostras apresentaram emissão máxima e excitação típicos da presença de material húmico alóctone.

Para melhor entendimento da contribuição da fração fluorescente da MOMD, o conjunto de matriz de dados dos espectros MEE foram submetidos ao tratamento matemático CP/PARAFAC para determinação dos componentes fluoróforos presentes nas amostras empregadas no experimento de labilidade da MOD. Os componentes identificados são ilustrados na Figura 7 e foram classificados segundo a nomenclatura proposta por Coble (1996).

Para as amostras coletadas no período de seca (novembro/2015) foram identificados três fluoróforos nas amostras, denominados de C1, C2 e C3, com um Corcondia de 89,8 %. Já para as amostras coletadas no período de cheia dos rios foram identificados dois componentes, C4 e C5 (Corcondia 99,9 %).

O fluoróforo C1 pode ser classificado como do tipo húmico M (Figura 8a) e é composto por dois picos não separados, simétricos com mesmo λ_{em} , 420 nm, com diferentes λ_{exc} , sendo um em 310 nm (pico M) e o outro um na região do UVC (100-280 nm) em 250 nm (pico A_M) (MURPHY et al., 2008). Esse fluoróforo é comumente associado com produção de material húmico de origem autóctone nos ambientes aquáticos ou pode ser derivado dos processos fotoquímicos de degradação nesse ambiente, os quais mudam as características de fluorescência do material húmico de origem terrestre (Figura 7).

Figura 7 - Fluoróforos identificados empregando CP/PARAFAC nos espectros de Fluorescência no modo MEE para as amostras de águas brancas e pretas e empregadas nos experimentos cinéticos, do período de seca: (a) C1, (b) C2 e (c) C3, e do período chuvoso (d) C4 e (e) C5.



Fonte: Elaborado pela autora

O componente do tipo húmico M foi inicialmente encontrado em amostras de águas marinhas e costeiras por Coble (1996). Entretanto, em estudos mais recentes, esse fluoróforo tem sido identificado em ambientes não marinhos e atribuído a presença de um material húmico de origem terrestre que tenha sofrido alterações (STEDMON; MARKAGER; BRO, 2003).

Na Figura 7b pode-se observar o segundo componente identificado (C2), que também possui dois picos não separados (pico C), o principal em $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 250/466$ nm e $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 365/466$ nm, ambos associados à MOD fluorescente do tipo húmica de fontes terrestres (COBLE, 1996).

O fluoróforo 3 (C3) é formado por um pico intenso com máximas em $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 275/338$ nm, característico do pico T, tradicionalmente atribuído na literatura ao componente do tipo proteico Triptofano, comumente composto por pico dual (A_T: $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 230/340$ nm e T: $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 275/340$ nm). Esse componente é comumente denominado do tipo proteico, desde que foi identificado por Coble (1996) e assim permaneceu nos trabalhos subsequentes. Tal atribuição deve-se ao fato do λ_{exc} observado nesse fluoróforo ser típico para aminoácidos similares a triptofano (Figura 7c). Tal fluoróforo é característico de áreas com alta atividade microbiológica e geralmente é considerado pouco persistente no ambiente (COBLE et al., 2014; CORY; KAPLAN, 2012b). Ambos os fluoróforos do tipo proteico descritos na literatura possuem característica de picos duais, exibindo excitações máximas no UVC, 230 e 275 nm. Entretanto, poucos estudos fazem a aquisição de espectros com comprimento de onda de excitação abaixo de 250 nm. No caso do fluoróforo C3, identificado no presente trabalho, é provável que esse componente tivesse um comportamento dual, com um segundo pico em $\lambda_{exc} = 230$ nm, como pode ser observado pelos contornos na Figura 7c, em que existem contorno dos sinais de fluorescência ($\lambda_{exc}/\lambda_{em} = \sim 230\text{-}240/324$ nm). Porém, os espectros de fluorescência no presente trabalho, os comprimentos de excitação empregados variaram de 240 a 510 nm.

Ainda assim, cabe ressaltar, que diversos estudos têm proposto quais moléculas estariam ligadas a fluorescência do componente do tipo proteico, além dos próprios aminoácidos. O triptofano apresenta grupo indol em sua composição, portanto, a fluorescência caracterizada pela presença de C3 pode ser consequência tanto da presença de triptofano quanto de material contendo outras estruturas com a presença de indol.

Além disso, tem sido demonstrado a influência de grupos fenólicos nos sinais de fluorescência, característicos para as assinaturas do tipo proteica, incluindo do tipo triptofano e tirosina. Nesse sentido, Maie et al. (2006) empregando Cromatografia líquida com exclusão de tamanho e análises de Fluorescência demonstrou em seu trabalho que fenóis simples e taninos,

que podem ser oriundos da degradação dos tecidos vegetais, naturalmente presentes na composição da MOD de suas amostras, eram os prováveis fluoróforos contribuintes do pico T (pico do tipo proteico).

Para o período chuvoso, ambos os componentes identificados são do tipo húmico, porém o fluoróforo C4 é formado por um único pico $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 310/\sim 417$ nm (Figura 7d). De acordo com a literatura o componente identificado pode ser do tipo húmico M ou do tipo húmico C. Considerando o componente do tipo húmico C, tem-se um pico denominado também como C (na literatura $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 320-365/420-470$ nm), portanto, o pico identificado apresenta um deslocamento para região do UV-Vis, com menores comprimentos de onda (*blue shift*). Tal deslocamento pode ser atribuído à diferenças na composição do componente, como por exemplo, maior grau de substituição dos anéis aromáticos.

O segundo componente, o fluoróforo C5, também do tipo húmico, sendo denominado C (Figura 7e). Comumente o fluoróforo do tipo húmico C apresenta dois picos simétricos, um pico com λ_{exc} na região do UVA (315-400 nm) sendo denominado pico A ou A_C e outro com λ_{exc} na região UVC (100-289 nm) chamado de pico C, tendo um único comprimento de emissão de fluorescência máxima entre 400 e 470 nm (COBLE, 1996; COBLE et al., 2014). Para o fluoróforo C5 os picos identificados foram, A_C com $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 370/470$ nm e pico C $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 295/470$ nm. Pode-se observar que para o pico C houve deslocamento para região do vermelho (*red shift*) no λ_{exc} , característico de material orgânico em que as moléculas estão altamente conjugadas (COBLE et al., 2014).

A avaliação da reatividade dos fluoróforos foi realizada de maneira comparativa, em que as intensidades máximas de fluorescência ($F_{m\acute{a}x}$) de cada um deles foi normalizada pela concentração de COD da respectiva amostra (Figura 8).

Dentre os fluoróforos identificados no período de seca, C1 apresentou intensidades iniciais similares entre os diferentes rios, enquanto C2 e C3 tiveram intensidades mais altas para as amostras Anebá e Carú. Já para o período chuvoso, os fluoróforos C4 e C5, ambos do tipo húmico, apresentaram intensidades iniciais próximas, com exceção para as amostras dos rios de água branca, Arari e Madeira, em que elas foram mais elevadas (Figura 8).

A variação da $F_{m\acute{a}x}/[COD]$ de cada um dos fluoróforos durante o experimento cinético foi considerada como a taxa de degradação causada pela ação do H_2O_2 , e aqui traduzida como a reatividade da MOD fluorescente frente a ação do agente oxidante.

É importante destacar que a degradação nesse contexto experimental foi inteiramente atribuída a ação oxidante do H_2O_2 , visto que as amostras utilizadas foram previamente filtradas

em membrana de 0,22 μm . Tal procedimento foi realizado a fim de evitar a ação de biodegradação dos microrganismos que pudessem estar naturalmente presentes nas amostras de água superficial. Além disso, os experimentos foram conduzidos sob iluminação ambiente do laboratório, que por sua vez tem pouca incidência de radiação do tipo UV, fator que seria importante a ser considerado, devido sua relação direta nas reações de fotodegradação da MON. Todavia, o efeito dessa exposição à radiação do ambiente laboratorial foi previamente avaliado por Constantino (2015), que testou a cinética de degradação de H_2O_2 com soluções de ácido húmico, e não foram observados efeitos significativos entre os experimentos conduzidos com a presença ou a ausência da iluminação do laboratório.

Dessa forma, diferentes reatividades foram observadas para cada fluoróforo, inclusive variando entre os tipos de águas (pretas e brancas), portanto, efeitos sazonais foram observados na composição da MOD fluorescente das águas dos rios desse estudo, como será discutido a seguir.

Para o fluoróforo do tipo húmico, C1, a degradação foi cerca de 10 vezes menor nos rios de águas brancas, sendo de 5,5 % para Amazonas 1 e não observada para amostra Madeira. Por outro lado, o mesmo fluoróforo identificado nas amostras dos rios de águas pretas, Carú e Anebá, apresentou degradação de 75,1 e 76,8 %, respectivamente. Tal variação, indica que C1 nas amostras de rios de águas pretas é mais reativo. Enquanto que nas amostras dos rios de águas brancas (Amazonas 1 e Madeira) a MODF referente ao C1 possui características mais recalcitrantes (Figura 8a).

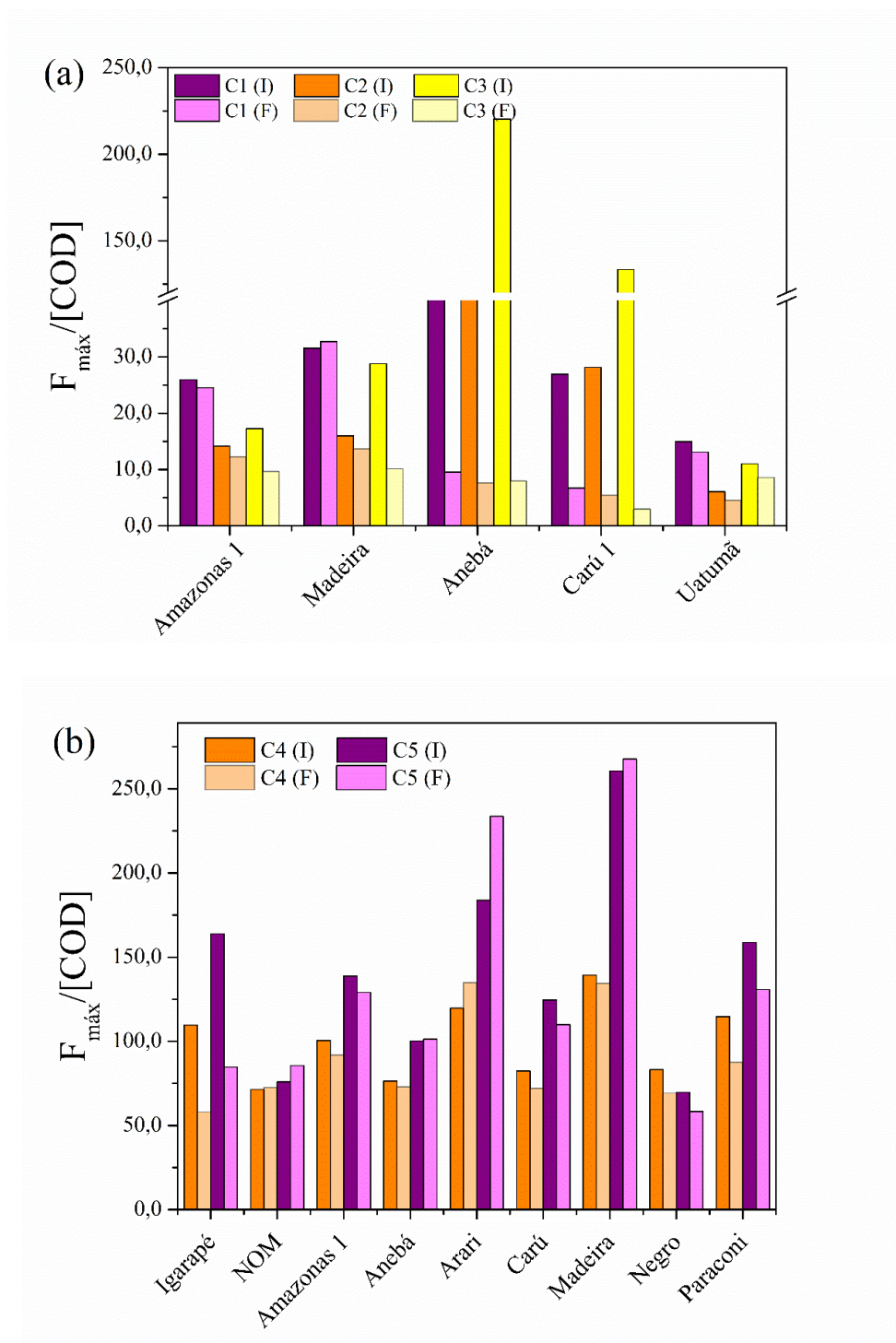
Um comportamento semelhante foi observado para o fluoróforo C2, em que Carú e Anebá apresentaram um decréscimo da $F_{\text{máx}}$ de mais de 80 %, e de 13,4 e 14,2 % para as amostras Amazonas 1 e Madeira, respectivamente (Figura 8a). Tal observação conduz a inferir que apesar de ambos os fluoróforos, C1 e C2, serem do tipo húmico, C2 apresentou uma natureza mais reativa, podendo ser classificado como mais lábil que C1, esse previamente identificado como derivado de material húmico mais degradado. Esses resultados corroboram com os achados de Cory e Kaplan (2012b), que em seus estudos determinaram que parte da MOD fluorescente do tipo húmica, a qual convencionalmente é atribuída uma classificação de recalcitrante, é parcialmente biolábil, pois observaram um decréscimo de 16 % na fluorescência dos componentes C1 ($\lambda_{\text{em}}/\lambda_{\text{exc}} = 420/310 \text{ nm}$), C2 ($\lambda_{\text{em}}/\lambda_{\text{exc}} = 500/420 \text{ nm}$) e C3 ($\lambda_{\text{em}}/\lambda_{\text{exc}} = 466/365 \text{ nm}$) (nomenclatura dos componentes adotada por Cory e Kaplan (2013), atribuídos aos componentes do tipo húmico).

Já para o fluoróforo C3, do tipo proteico, foram observadas as maiores taxas de degradação, ou seja, C3 representou a porção mais reativa da MOD fluorescente das amostras coletadas no período de seca. Todavia, para esse fluoróforo também foram observadas distinções entre os rios de águas pretas e brancas. Para Amazonas e Madeira, as taxas variaram de 44,5 a 64,2 %, respectivamente. E, novamente, as taxas de degradação para os rios de águas pretas foram superiores, sendo > 95 % (Figura 8a).

Nesse contexto, a MOD fluorescente do tipo proteica tem sido correlacionada à fração biodegradável da MO (CORY; KAPLAN, 2012b; HOOD et al., 2009). Altas taxas de mineralização dos componentes do tipo proteico foram observadas por Cory e Kaplan (2012b) em experimentos de biodegradação empregando amostras de água superficial da baía de White Clay Creek (USA) em ensaios com biorreatores. A MOD fluorescente semelhante ao triptofano apresentou uma labilidade de aproximadamente 30 %, enquanto que a MOD fluorescente do tipo tirosina foi 100 % biodegradada, comportamento similar ao observado para as amostras de águas dos rios Carú e Anebá. Considerando as taxas de decréscimo das intensidades de fluorescência para cada fluoróforo nas amostras coletadas no final do período de seca, foi observada a ordem decrescente: Anebá $\geq$ Carú > Amazonas 1 $\geq$ Madeira > Uatumã. Então, pode-se concluir que a fração da MO lábil presente nessas amostras está associada com a fração da MOD fluorescente, visto que a ordem decrescente de concentração de MO lábil das amostras foi similar a ordem destacada acima, em que Carú > Anebá > Amazonas 1 > Madeira > Uatumã.

No período chuvoso, em que foram identificados apenas dois fluoróforos do tipo húmico, pode-se observar que as maiores taxas de degradação foram obtidas para as amostras provenientes dos rios de águas pretas (Igarapé > Paraconí > Negro > Carú), variando de 47,1 a 12,8 % para C4 e de 48,3 a 11,9 % para C5. Na sequência, a ordem decrescente da variação de C4 e C5 é das amostras Amazonas 1 > Anebá > Madeira. Portanto, com exceção da amostra Anebá (água preta) pode-se concluir que os rios de águas pretas apresentaram MODF um pouco mais reativa à ação do H₂O₂ quando comparado com os rios de águas brancas (Amazonas 1, Madeira e Arari) (Figura 8b). Entretanto, é importante verificar que de maneira geral, as taxas de degradação dos componentes C4 e C5, foram menores quando comparadas as do fluoróforos do tipo húmico identificados no período de seca, C1 e C2.

Figura 8 – Variação de intensidade dos fluoróforos (C1, C2, C3, C4 e C5) durante o experimento cinético (Início (I) e Final (F)) para determinação da labilidade das amostras coletadas no (a) período de seca e no (b) período de chuva nos rios de águas brancas e águas pretas.



Período de seca: C1: componente 1; C2: componente 2; C3: componente 3; Período chuvoso: C4: componente 4; C5: componente 5;

Alíquotas: I: Início da cinética; F: Final da cinética.

Classificação das águas - *Águas Pretas*: Carú, Anebá, Uatumã, Negro, Paraoni, Igarapé Caiuaué; *Águas Brancas*: Amazonas 1, Amazonas 3, Arari e Madeira. Fonte: Elaborado pela autora

Destaca-se que para todas as amostras a variação de degradação dos fluoróforos C4 e C5 apresentaram valores muito similares entre si, reforçando a similaridade da composição desses componentes nessas amostras. Todavia, foi observado um aumento da concentração de MO lábil para os rios de águas brancas nesse período, apesar dos menores valores de COT. Dessa forma, pode-se inferir que a fração lábil da MOD quantificada para esses corpos aquáticos não está associada a fração fluorescente da MOD.

De forma geral, pode-se inferir que os rios Carú e Anebé, durante o período de chuva menos intensas na região, apresentaram uma MOD fluorescente com características mais lábeis em relação aos rios de água branca, Amazonas 1 e Madeira. As maiores intensidades dos fluoróforos C1 e C2 nos rios Anebé e Carú são coerentes, visto que os rios de águas pretas são conhecidos pela grande presença de material húmico na composição da MOD presente em suas águas. Esses rios são cercados pelas áreas alagáveis, dessa forma o processo de exportação de MOD é bastante intenso. Esse comportamento é mais pronunciado nesses rios quando comparado aos rios de água branca (Amazonas 1 e Madeira), que também possuem áreas de inundação às suas margens, de forma que a diferença na reatividade entre a porção cromófora da MOD podem ser influenciada pelos fatores bióticos e abióticos, característicos desses corpos aquáticos.

Os rios de águas brancas são conhecidos por apresentarem uma vazão mais elevada, em que a MOD pode ser carregada por quilômetros, o que pode diminuir os processos de degradação microbológica, visto que a absorção da MOD pelos micro-organismos heterótrofos é dependente da vazão, profundidade e demanda biológica de cada sistema aquático (SLEIGHTER et al., 2014). Sendo assim, a MOD presente nos rios de água preta, pode ter sofrido mais reações de transformação, tanto microbológicas, quanto químicas ou fotoquímicas, apresentando uma MOD de composição mais alterada, resultando em maior suscetibilidade a ação do H_2O_2 .

Um comparativo entre as amostras de águas dos rios coletadas no período de seca (Figura 8a) e das coletadas no período chuvoso (Figura 8b) evidenciou uma reatividade diferente dos fluoróforos do tipo húmico, C1, C2, C4 e C5, que por sua vez, pode ser atribuída a composição dos mesmos (Figura 7). Essa variação na composição é atribuída aos diferentes processos de transformação pelo qual a MOD tenha sido exposta. Durante o período de chuvas mais intensas, a pluviosidade acumulada para o mês de Julho foi de 120 mm (INMET, 2018). Os eventos de chuva mais regulares intensificaram os eventos de escoamento superficial dos solos, levando as camadas mais superficiais, onde se encontra a maior parte da MOD, até os

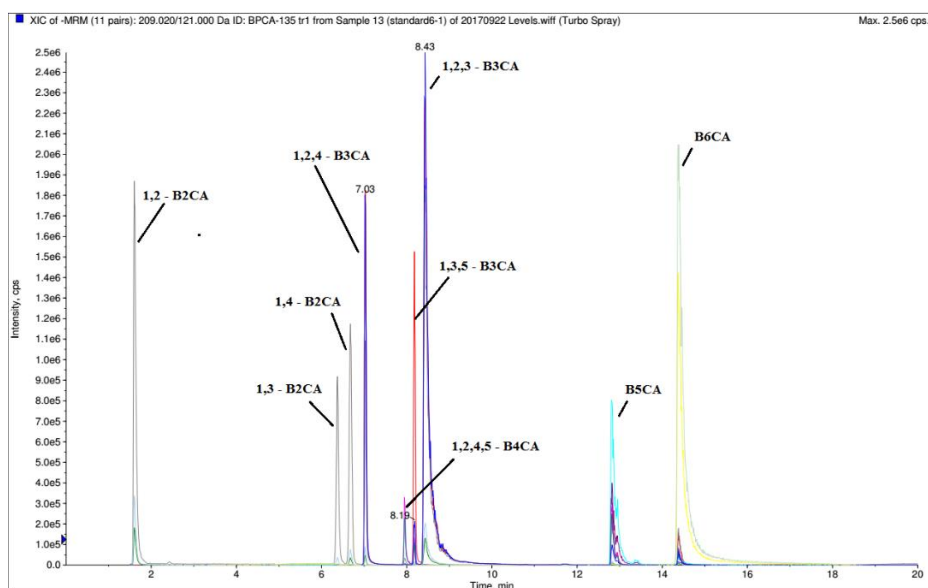
corpos aquáticos. Esse poderia ser um fator importante, pois o menor tempo de residência levaria essa MO ainda pouco degradada, ou humificada, a ser aportada na coluna d'água. Tal fato, pode ser visualizado quando se comparam as diferenças de concentração de MO lábil e MO recalcitrante entre os rios de águas pretas e brancas. Os rios de águas pretas, como já citado anteriormente, sofrem intenso aporte de material lixiviado dos solos.

Os dados gerados nessa análise complementaram os resultados obtidos no experimento de determinação de labilidade da MOD, permitindo uma avaliação a cerca da sua composição. As diferenças de reatividade avaliadas nesse trabalho foram exclusivamente relacionadas com a capacidade da MODF consumir o H_2O_2 , o que no ambiente aquático pode implicar diretamente em outras condições ambientais, como por exemplo no potencial redox (E_H). Contudo, além de alterações nos parâmetros físico-químicos, tais reações podem alterar a qualidade da MOD, como demonstrado pelo decréscimo do percentual dos fluoróforos, consequentemente afetando o seu tempo de residência no ambiente.

5.3.3 Black Carbon dissolvido em rios da região Amazônica

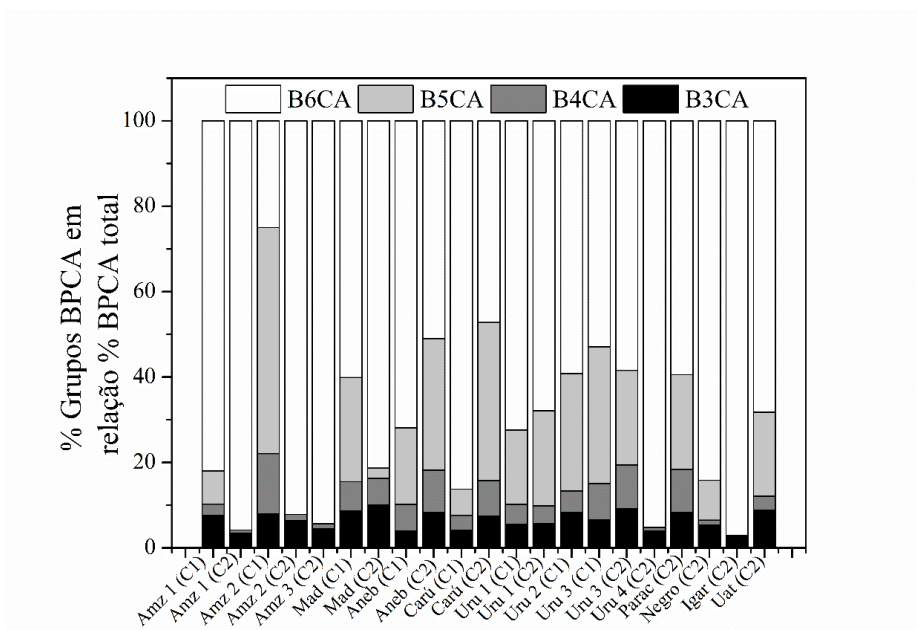
A Figura 9 mostra um cromatograma típico obtido para solução padrão mista dos BPCA (padrão 6, veja Tabela 3) utilizado para construção das curvas analíticas (Figura 1B do Apêndice B). Alguns cromatogramas obtidos para as amostras analisadas nesse trabalho constam na Figura 2B (Apêndice B).

Figura 9 - Cromatograma típico obtido na identificação dos BPCA empregando UHPLC-MS-MS.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 10 - Distribuição relativa dos BPCA na matéria orgânica dissolvida extraída das amostras de águas brancas e pretas^a em ambos períodos de coleta^b.



^a Classificação das águas - Águas Pretas: Carú, Anebá, Uatumã, Negro, Paraconi, Igarapé Caiuaé, Urubu 1,2,3 e 4; Águas Brancas: Amazonas 1, Amazonas 3, Arari e Madeira.

^b Períodos de coleta: C1: período de seca; C2: período chuvoso;

Siglas das amostras: Amz: Amazonas; Mad: Madeira; Aneb: Anebá; Uru: Urubu; Parac: Paraconi; Igar: Igarapé Caiuaé; Uat: Uatumã.

Fonte: Elaborado pela autora

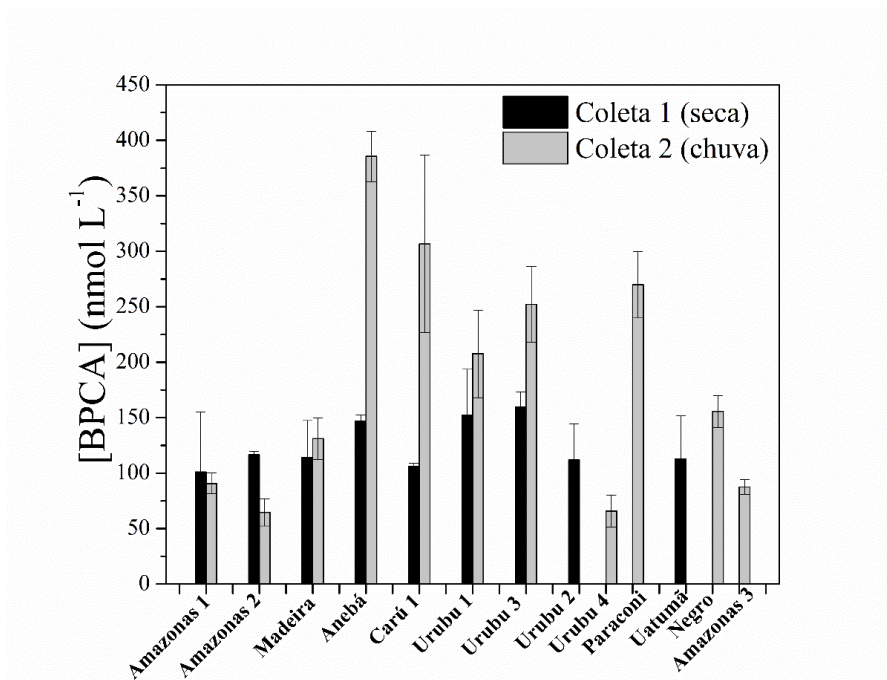
A Figura 10 ilustra a distribuição dos quatro principais grupos de BPCA, utilizados como marcadores da presença da DBC. De maneira geral, foi possível observar que a maior parte dos BPCA quantificados são B5CA e B6CA, cujos valores variaram de 77,9 a 94,0 % do teor de BPCA total nas amostras desse estudo, indicando presença de DBC com estrutura aromática e condensada. Para os rios de águas brancas, Amazonas 1 e Madeira, não foram detectados teores B5CA nos períodos de chuva, com B6CA majoritário. Os teores de B4CA variaram de 0,7 a 14,1 %, tendo decrescido no período de cheia para rios de águas brancas. Já o teor de B3CA variou de 3,4 a 10,0 %.

A razão B6CA/B5CA indica um decréscimo de B6CA para os rios de águas pretas no período de chuva. (Tabela 1B, Apêndice B).

Dittmar (2008) demonstrou a aplicação da extração SPE de MOD e uso do método BPCA (por HPLC-DAD) para quantificação de DBC em amostras de água do mar e alguns materiais de referência (carvões e ácido húmico). Os percentuais de B3CA, B4CA e B5CA mostraram-se maiores que de B6CA, indicando baixo grau de condensação do DBC para suas amostras de água. Enquanto, a porção relativa de B5CA e B6CA para as amostras de carvão ativado e ácido húmico variaram cerca de 80 a 50 %, respectivamente. Portanto, foi possível

inferir que o DBC presente nas amostras do presente estudo possui estrutura altamente condensada.

Figura 11 - Concentração total de BPCA nas amostras de águas brancas e pretas^a coletadas em ambos os períodos de amostragem.



^a Classificação das águas - *Águas Pretas*: Carú, Anebé, Uatumã, Negro, Paraconí, Igarapé Caiuaé, Urubu 1,2,3 e 4; *Águas Brancas*: Amazonas 1, Amazonas 3, Arari e Madeira.

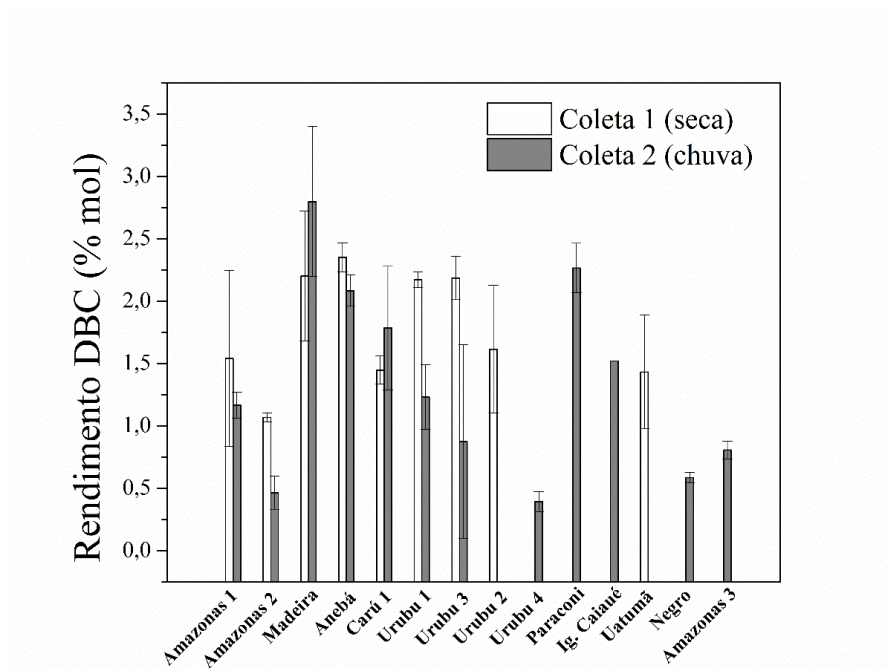
Fonte: Elaborado pela autora

A concentração dos BPCA total variou de 101,0 a 159,0 nmol L⁻¹ para a amostragem realizada durante o período de seca e teve maior variação para as amostras coletas no período chuvoso, de 64,6 a 365,0 nmol L⁻¹. Comparando as amostras coletadas em ambos os períodos, foi possível observar que houve incremento na concentração de BPCA para os rios de águas pretas, e pouca variação para os rios de águas brancas (Figura 11).

A concentração de DBC (nmol L⁻¹) foi estimada a partir das concentrações dos BPCA (nmol) segundo a seguinte Equação 6 apresentada no item 4.4.3 e em seguida, o rendimento do DBC em % molar foi calculado pela divisão da [DBC] pela [COD], os quais são ilustrados na Figura 12.

A variação de rendimento de DBC foi de 0,4 a 2,8 % mol, valores semelhantes ao determinado em amostras de águas marinhas empregando o método BPCA, porém com HPLC-DAD (0,9 a 2,6 %) (DITTMAR, 2008).

Figura 12 - Rendimento molar do DBC em função da concentração de COD para amostras de águas brancas e pretas^a coletas no período de seca e período chuvoso.



^a Classificação das águas - *Águas Pretas*: Carú, Anebé, Uatumã, Negro, Paraconí, Igarapé Caiuaé, Urubu 1,2,3 e 4; *Águas Brancas*: Amazonas 1, Amazonas 3, Arari e Madeira.

Fonte: Elaborado pela autora

5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS E INTERAÇÃO COM METAIS

5.4.1 Substâncias Húmicas Aquáticas

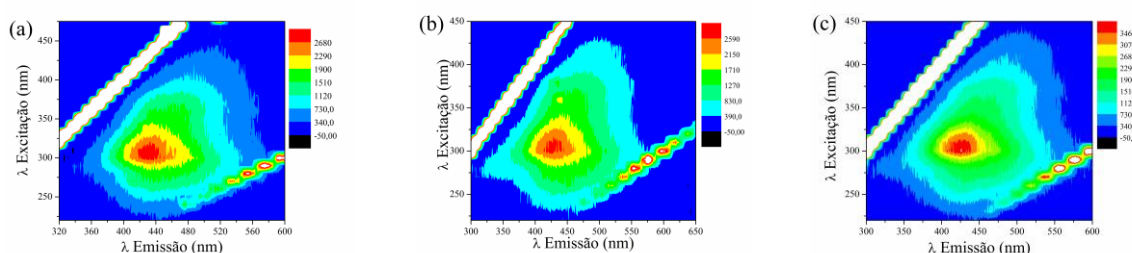
A Figura 13 apresenta os gráficos de contorno obtidos na análise de fluorescência total no modo MEE para as amostras de SHA do rio Negro e rio Carú (RC-I período de seca e RC-II período chuvoso).

Preliminarmente, pode-se observar que as três amostras de SHA tiveram picos de emissão máxima similares. Para a amostra SHA RN a intensidade máxima de fluorescência ocorreu em $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 300/431$ nm. Para a amostra de SHA RC-I $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 300/426$ nm e por último a amostra SHA RC-II obteve $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 310/420$ nm. Os picos observados podem ser classificados com o pico C, do tipo húmico ($\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 320-365/420-470$). Esse pico é atribuído principalmente a presença de material húmico alóctone, encontrado em solos, mas também identificado em águas continentais e oceanos.

Entretanto, é possível observar que existe um discreto deslocamento dos comprimentos máximos de emissão e excitação para comprimentos mais curtos no espectro UV (*blue shift*)

para as SHA RC em comparação a SHA RN. Tal fato pode estar relacionado à menor extensão do sistema elétrons, ou das ligações conjugadas, ou seja, pode ser atribuída a menor presença de componentes fluoróforos contendo anéis aromáticos, o que por sua vez pode ser atribuída tanto à formação do material húmico, quanto aos processos de fotodegradação que o mesmo pode sofrer ao ser aportado no ambiente aquático (COBLE, 1996).

Figura 13 - Espectros de Fluorescência Total obtidos no modo MEE das amostras de SHA (5 mg L⁻¹, pH 8,0) (a) RN, (b) RC-II e (c) RC-I.



Fonte: Elaborado pela autora

A Tabela 10 mostra os valores das razões e índices espectrais calculados para as três amostras de SHA empregando as medidas de UV-Vis e Fluorescência. O valor mais alto para HIX (12,36) obtido para SHA RN permite inferir que essa apresenta-se mais humificada. O BIX, indicativo da presença de MOD de origem autóctone e recente foi maior para a SHA RC-II, o que corrobora com o observado para o HIX, sendo essa MOD mais fresca e com percentual autóctone ligeiramente maior (BIX). Cabe ressaltar que ambientes aquáticos que tem produção autótrofa expressiva apresentam $BIX > 1$. Os valores de FI não variam para SHA (Tabela 9), sendo que os resultados foram $\sim 1,2$, o que está associado a presença de material húmico presente nesses ambientes é oriundo majoritariamente de fontes terrestres (CORY; MCKNIGHT, 2005).

As medidas de UV-Vis (Tabela 10) corroboram com os resultados discutidos acima, pois a SHA RN apresentou maior grau de aromaticidade (31,5), em relação as SHA RC. O índice $SUVA_{254}$, geralmente é utilizado para inferir grau de aromaticidade, porém ele não variou entre as três amostras. A SHA RN também apresentou menor razão $E_2:E_3$ (3,09), indicando presença de estruturas mais aromáticas e maior tamanho molecular. Ainda, o maior tamanho molecular tem sido associado com menores valores de S_R . Portanto, para a SHA RN é possível atribuir maior tamanho molecular em relação as SHA RC, que apresentaram valores de S_R de 2,68 e 2,64.

Tabela 10 – Índices calculados pelas medidas de fluorescência e UV-Vis obtidas para as amostras de SHA dos rios Negro (RN) e Carú (seca: RC-I e chuva: RC-II).

SHA	HIX ^a	BIX ^b	FI ^c	SUVA ₂₅₄ ^c	E ₂ :E ₃ ^d	S _R ^e
RC-I	6,96	0,40	1,19	6,10	4,05	2,68
RC-II	7,45	0,42	1,23	5,59	3,63	2,64
RN	12,36	0,34	1,20	6,05	3,09	2,36

^a HIX (índice de humificação) = $\Sigma \lambda_{em} (435-480) \text{ nm} / \Sigma \lambda_{em} (300-345 + 435-480) \text{ nm}$ com $\lambda_{exc} = 254 \text{ nm}$;

^b BIX = β/α ($\beta = (F_{m\acute{a}x} (\lambda_{exc} (310-320 \text{ nm}) \text{ e } \lambda_{em} (380-420 \text{ nm})))$ e $\alpha = F_{m\acute{a}x} (\lambda_{exc} (330-350 \text{ nm}) \text{ e } \lambda_{em} (420-480 \text{ nm})))$;

^c FI (índice de fluorescência) = $(F_{m\acute{a}x} (\lambda_{em} 470 \text{ nm}) / F_{m\acute{a}x} (\lambda_{em} 520 \text{ nm}))$ com $\lambda_{exc} 370 \text{ nm}$;

^d SUVA₂₅₄ = $a(254 \text{ nm}) / [\text{COD}]$, expresso em L mg⁻¹ de COD m⁻¹;

^e Razão E₂:E₃ = $A(250 \text{ nm}) / A(365 \text{ nm})$;

^f Razão *Spectral slope* – S_R = $(S_{275-295} / S_{350-400})$;

Fonte: Elaborado pela autora

A composição elementar e as razões atômicas (H/C, O/C, H/C) das SHA do rio Negro e rio Carú estão apresentadas na Tabela 11.

Os percentuais de carbono obtidos para as amostras SHA estão dentro dos valores citados na literatura para amostradas isoladas de rios (KALBITZ; GEYER; GEYER, 1999). Os percentuais variaram de 35,4 a 43,2 % de carbono, sendo o menor valor para SHA RC-I. Os percentuais de C e H da SHA RN também estão de acordo com os determinados em trabalhos prévios (LEENHEER, 1980; SARGENTINI JUNIOR et al., 2001). Destaca-se uma maior variação para o percentual de nitrogênio, ou seja, que pode estar incorporado na estrutura menos degradada.

Tabela 11 - Composição elementar (C, H, N e S) e razões atômicas das SHA dos rios Carú (RC-I e RC-II) e Negro (RN).

SHA	C %	H %	N %	S %	H/C	C/N
RN	41,6	4,1	0,6	-	1,17	74,52
RC-I	35,4	3,0	1,6	3,0	1,01	25,75
RC-II	43,2	3,7	1,1	3,6	1,02	46,79

(-) não detectado

Fonte: Elaborado pela autora

A razão atômica H/C pode ser usada para inferir sobre o grau de aromaticidade da amostra. Maior valor da razão atômica H/C indica maior proporção de carbonos alifáticos (-CH₂), logo indicando menor caráter aromático da estrutura. Portanto, a SHA RN apresentou maior razão H/C (1,17), o que indica maior proporção de estruturas alifáticas na composição.

Já a relação entre carbono e nitrogênio expressa pela razão atômica C/N é utilizada como um indicativo do grau de humificação, em que menores valores de C/N são associados a presença de nitrogênio incorporado a estrutura pouco humificada (ALLARD, 2006; ROCHA; ROSA, 2003). Sendo assim, SHA RN apresentou maior valor C/N (74,75), indicando a presença de estrutura mais humificada. SHA isoladas do rio Carú, RC-I e RC-II, apresentaram razões C/N de 25,75 e 46,79, respectivamente (Tabela 11). Esse resultado pode ser associado a sazonalidade, em que SHA RC-II coletada no período de cheia, apresenta-se mais humificada, o que pode ser associado a uma alta contribuição do aporte de material orgânico oriundo dos solos já degradado e com maior humificação. SHA RC-I pode-se inferir que sua estrutura seja composta por estruturas mais lábeis, assim como pela influência da formação autóctone.

Informações importantes relativas aos principais grupos funcionais foram obtidas nos espectros de Infravermelho (região de 4000 a 400 cm^{-1} , Figura 1C – Apêndice C). De modo geral, os espectros são ligeiramente semelhantes. Uma banda larga foi observada nas regiões de 3500-3000 cm^{-1} , relativa a sobreposição do estiramento O-H de álcoois, fenóis e/ou grupos carboxílicos; um ombro em 2980 cm^{-1} , que corresponde ao estiramento de ligações C-H de estruturas alifáticas (alcanos), sendo mais evidente em RC-I (PAVIA et al., 2009; RODRÍGUEZ; NÚÑEZ, 2011).

Todavia, os espectros de infravermelho de amostras complexas, como as de SHA podem parecer muito simples, frente a grande quantidade de grupos funcionais que geralmente estão presentes. Isso ocorre devido as várias sobreposições de bandas. Sendo assim, para melhor interpretação dos espectros de infravermelho, na Figura 14 estão apresentados os espectros originais (acima) e seus respectivos espectros da segunda derivada (abaixo) na região selecionada de 2000 a 670 cm^{-1} das amostras de SHA do rio Carú (seca e chuvoso) e rio Negro e as principais atribuições feitas aos modos de vibração observados estão apresentadas na Tabela 12.

Observando a segunda derivada do espectro de infravermelho na Figura 14 é possível observar as principais bandas já observadas nos espectros originais (Figura 1C), bem como visualizar o aparecimento de bandas, antes não evidenciadas devido a sobreposição e formação de ombros nos espectros originais. Na região de 1700 cm^{-1} é possível observar as bandas em 1712, 1703 e 1704 cm^{-1} , para RC-I, RC-II e RN, respectivamente, que são relativas ao estiramento do C=O de grupos funcionais carboxílicos protonados. A presença de grupos carboxilatos (COO^-) é marcada pela presença de bandas em torno de 1600 e 1400 cm^{-1} , relativas aos estiramentos assimétricos e simétricos, respectivamente (ABDULLA; MINOR;

HATCHER, 2010). Entretanto, apesar de todas as amostras apresentarem bandas nas regiões citadas, apenas RN e RC-II parecem ter a presença do grupo carboxílico desprotonado, visto que além das bandas citadas estarem presentes, a banda referente ao estiramento assimétrico deve ser maior. No caso para RN, observam-se as bandas 1567 e 1394 cm^{-1} e para RC-II em 1571 e 1402 cm^{-1} . Além disso as bandas 1268 e 1269 cm^{-1} podem ser relativas ao estiramento C-O de ácidos carboxílicos, bem como de amidas terciárias, o que ainda será discutido. Ainda sobre grupos carboxílicos, as amostras RC-I e RC-II apresentaram bandas 1397 e 1402 cm^{-1} que podem ser referentes ao dobramento da ligação O-H no plano, enquanto RC-I e RN também apresentaram bandas em 945 e 936 cm^{-1} do dobramento O-H fora do plano, evidenciando que essa amostra deve apresentar maior presença de grupos carboxílicos protonados.

Destacam-se também a presença de ésteres. Bandas em 1764 cm^{-1} em RC-I e RC-II e em 1761 cm^{-1} são referentes ao estiramento C=O de ésteres cíclicos, mais especificamente de γ -lactonas (Figura 14). A γ -butirolactona tem banda C=O característica em 1770 cm^{-1} (PAVIA et al., 2009). Essa lactona pode ser derivada da degradação de componentes de plantas, como o linalol, um terpeno. Os terpenos derivados de plantas mais comuns são constituídos por pireno, algumas resinas, ácido abiético e óleos essenciais como o mentol. Sabe-se que dentre os terpenos, ao contrário dos de cadeia aberta e aromáticos, os que possuem estrutura alicíclica tem uma biodegradação mais difícil. (LEENHEER; NANNY; MCINTYRE, 2003). Dentre as três amostras, bandas mais evidentes foram observadas para RC-I e RN, podendo indicar que essas SHA passaram por mais processos de degradação. A presença de ésteres alifáticos é menos provável, embora as bandas em 1043 , 1052 e 1046 cm^{-1} (RC-I, RC-II e RN) possam ser relativas ao estiramento O-C-C, não foram observadas bandas relativas ao estiramento C-C-O, nem do dobramento simétrico característico de $-\text{CH}_3$ do grupo acetil por volta de 1430 cm^{-1} (ABDULLA; MINOR; HATCHER, 2010; MAYO; MILLER; HANNAH, 2004; PAVIA et al., 2009).

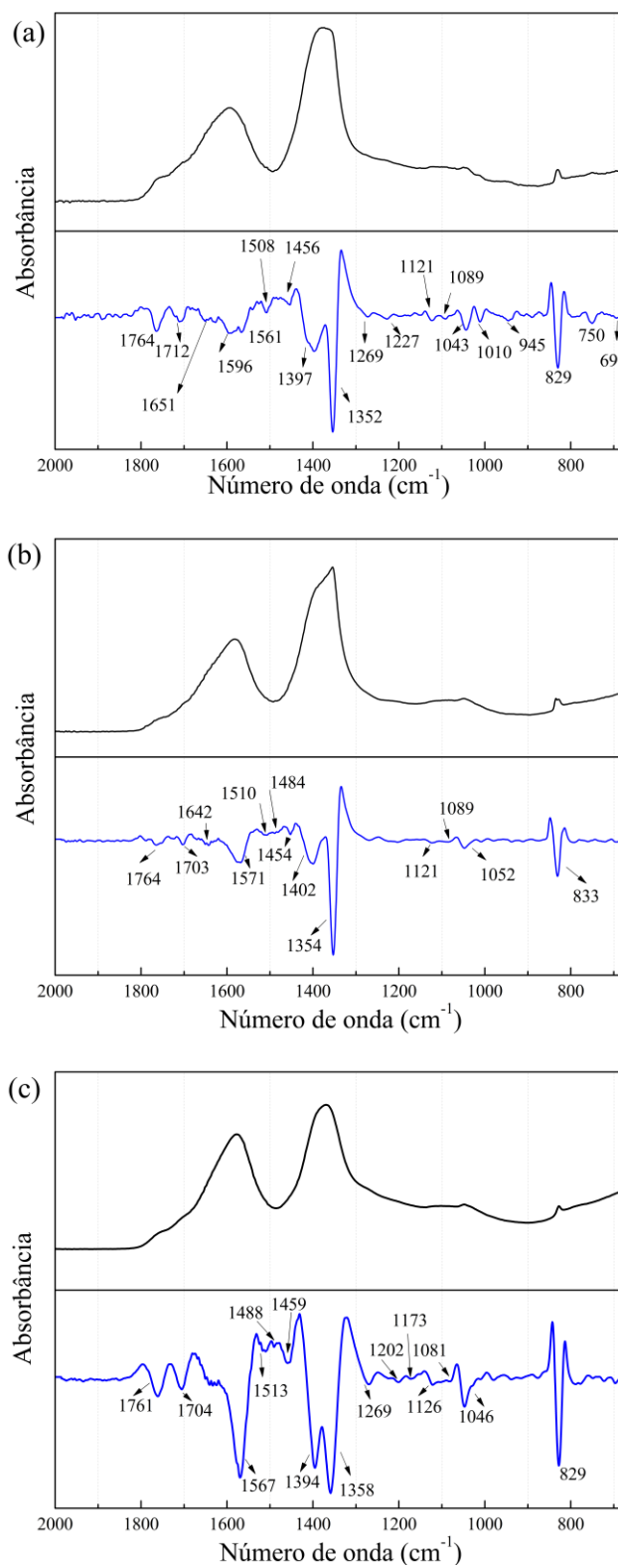
A presença de função amida era esperada, visto os resultados obtidos pela análise elementar. A banda $\sim 1650\text{ cm}^{-1}$ concerne tanto ao estiramento C=O (1680 - 1630 cm^{-1}), como da deformação angular (*scissoring*) N-H (1640 - 1620 cm^{-1}) de amidas primárias (NH_2). Para amostras RC-I e RC-II são observadas bandas em 1642 e 1651 cm^{-1} . Além do estiramento da ligação N-H em amidas primárias citado, as amostras podem apresentar outras duas bandas mais largas em 1125 cm^{-1} e por volta de ~ 650 - 700 cm^{-1} que podem ser atribuídas a deformação angular (*wagging*) N-H de amidas primárias, sendo que para todas as SHA foram observadas bandas em 1121 , 1126 , 691 , 693 e 697 cm^{-1} (Tabela 12).

Tabela 12 – Principais atribuições feitas aos modos de vibração observados nos espectros da segunda derivada do infravermelho das SHA nesse trabalho

Atribuições		Banda no FTIR	Posição da banda		
			RC-I	RC-II	RN
Ligninas (Fenóis)	Aromático-OH	ν C-O assimétrico ($1230 \pm 30 \text{ cm}^{-1}$)	1227	-	1202
	Aromático-lignina	ν C=C ($1515 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$)	1508	1510	1513
Amidas	Amida I	ν C=O ($\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$)	1642	1651	-
		δ N-H <i>wagging</i> (1125 e $\sim 650\text{-}700 \text{ cm}^{-1}$)	1121, 691	1121, 693	1126, 697
	Amida III	ν C=O ($1260 \pm 40 \text{ cm}^{-1}$)	1227	-	1269
Carboidratos		ν C-O assimétrico ($1100 \pm 100 \text{ cm}^{-1}$)	1089, 1121	1089, 1121	1081, 1126
		δ O-H no plano ($1350 \pm 50 \text{ cm}^{-1}$)	1352	1354	1358
Ácidos Carboxílicos	-COOH	ν C=O ($1710 \pm 15 \text{ cm}^{-1}$)	1703	1704	1712
		ν C-O ($1265 \pm 55 \text{ cm}^{-1}$)	1269	1268	1269
		δ O-H no plano ($1418 \pm 22 \text{ cm}^{-1}$)	-	-	-
		δ O-H fora do plano ($930 \pm 30 \text{ cm}^{-1}$)	945	-	936
	-COO ⁻	ν simétrico ($1405 \pm 45 \text{ cm}^{-1}$)	-	1402	1394
		ν assimétrico ($1600 \pm 40 \text{ cm}^{-1}$)	-	1571	1567
Parafinas	Alifáticas	δ CH ₂ <i>scissoring</i> ($1450 \pm 10 \text{ cm}^{-1}$)	1456	1454	1459
		δ CH ₃ <i>umbrella</i> ($1375 \pm 10 \text{ cm}^{-1}$)	1397	-	-
Ésteres	γ -lactonas	ν C=O ($1770 \pm 10 \text{ cm}^{-1}$)	1764	1764	1761
	Alifáticos	ν O-C-C ($1065 \pm 35 \text{ cm}^{-1}$)	1043, 1010	1052	1046
		ν C-C-O ($1185 \pm 25 \text{ cm}^{-1}$)	1152	-	1173

Fonte: Adaptado de Abdulla; Minor; Hatcher (2010)

Figura 14 - Espectros de Infravermelho (acima) e seus respectivos espectros da segunda derivada (abaixo) na região de 2000 a 670 cm^{-1} das SHA (a) RC-I, (b) RC-II e (c) RN.



Fonte: Elaborado pela autora

Ademais, foram observadas bandas relativas a torção N-H de amidas terciárias em RC-I e RN, 1227 e 1269 cm^{-1} (MAYO; MILLER; HANNAH, 2004). O estiramento C-H da porção $\text{CH}_2\text{-N}$ aparece por volta de 2850-2720 cm^{-1} para aminas secundárias e terciárias, ou seja, essa banda pode ser sobreposta pelo estiramento C-H de estruturas alifáticas (alcanos). Dessa forma, as observações relativas aos grupos amida corroboram com os dados de % N e razão atômica C/N que foram maiores para amostras RC-I e RC-II, sendo a presença de porções nitrogenadas nas SHA atribuída a presença de glicoconjugados (ALUWIHARE; REPETA; CHEN, 2002).

A porção aromática das SH pode ser observada pelo aparecimento de duas bandas, que estão relacionadas a presença de ligninas. Essas bandas são resultantes de vibração de ligação C-O de fenol ($\sim 1230 \text{ cm}^{-1}$) e C=C (1600 a 1475 cm^{-1}) da estrutura do anel aromático (Tabela 12). Dessa forma, a banda em $\sim 1515 \text{ cm}^{-1}$ tem sido atribuída ao estiramento da ligação C=C (aromático), em amostras derivadas de plantas, sendo essa banda relativa a presença de lignina e tanino (ABDULLA; MINOR; HATCHER, 2010; LAMMERS; ARBUCKLE-KEIL; DIGHTON, 2009; PAVIA et al., 2009). Tal banda foi observada em todas as amostras (Figura 14), sendo 1508, 1510 e 1513 cm^{-1} , para RC-I, RC-II e RN, respectivamente. Além dessas duas bandas, o dobramento =C-H (fora do plano) é característico nas regiões 900 a 690 cm^{-1} e contribui para a identificação de substituintes no anel, dentre as quais as funções alquil-, alcóxi-, amino- e carbonil-substituídos são mais precisamente identificados. As amostras RC-I e RN apresentaram bandas em torno de 750 e 690 cm^{-1} , além de bandas mais alongadas em 829 cm^{-1} , podendo ser atribuídas ao estiramento =C-H de aromáticos (1,3) meta-di-substituídos (PAVIA et al., 2009). Enquanto, em RC-II observa-se uma banda intensa em 833 cm^{-1} , que pode ser atribuída a aromáticos di-substituídos na posição *para* (1,4). A presença de C-O ligado ao anel aromático (fenol) foi observado pelas bandas em torno de 1230 cm^{-1} , ligeiramente maior do que os observados para C-O de alifáticos, sendo em 1227 cm^{-1} em RC-I e 1202 cm^{-1} em RN.

A presença de estruturas alifáticas é atribuída as bandas 1460 cm^{-1} do estiramento assimétrico de $\text{CH}_3\text{-}$ e 1450 cm^{-1} da deformação simétrica de $\text{-CH}_2\text{-}$ (*scissoring*) (Tabela 12). Para RC-I as bandas aparecem em 1456 cm^{-1} (deformação $\text{CH}_3\text{-}$ assimétrico) e em 1397 cm^{-1} (deformação $\text{CH}_3\text{-}$ simétrica (*umbrella*)). Enquanto, em RC-II são observadas bandas em 1454 e 1484 cm^{-1} e para RN em 1454 e 1488 cm^{-1} .

A contribuição dos carboidratos na composição das SHA pode ser avaliada nos espectros de infravermelho pelo aparecimento de bandas referentes ao estiramento assimétrico de C-O (1100 cm^{-1}) e de O-H (no plano 1350 cm^{-1} e fora do plano 650 cm^{-1}). Dessa forma, bandas de C-O foram observadas em 1089 e 1121 cm^{-1} em RC-I; em 1089 e 1121 cm^{-1} em RC-

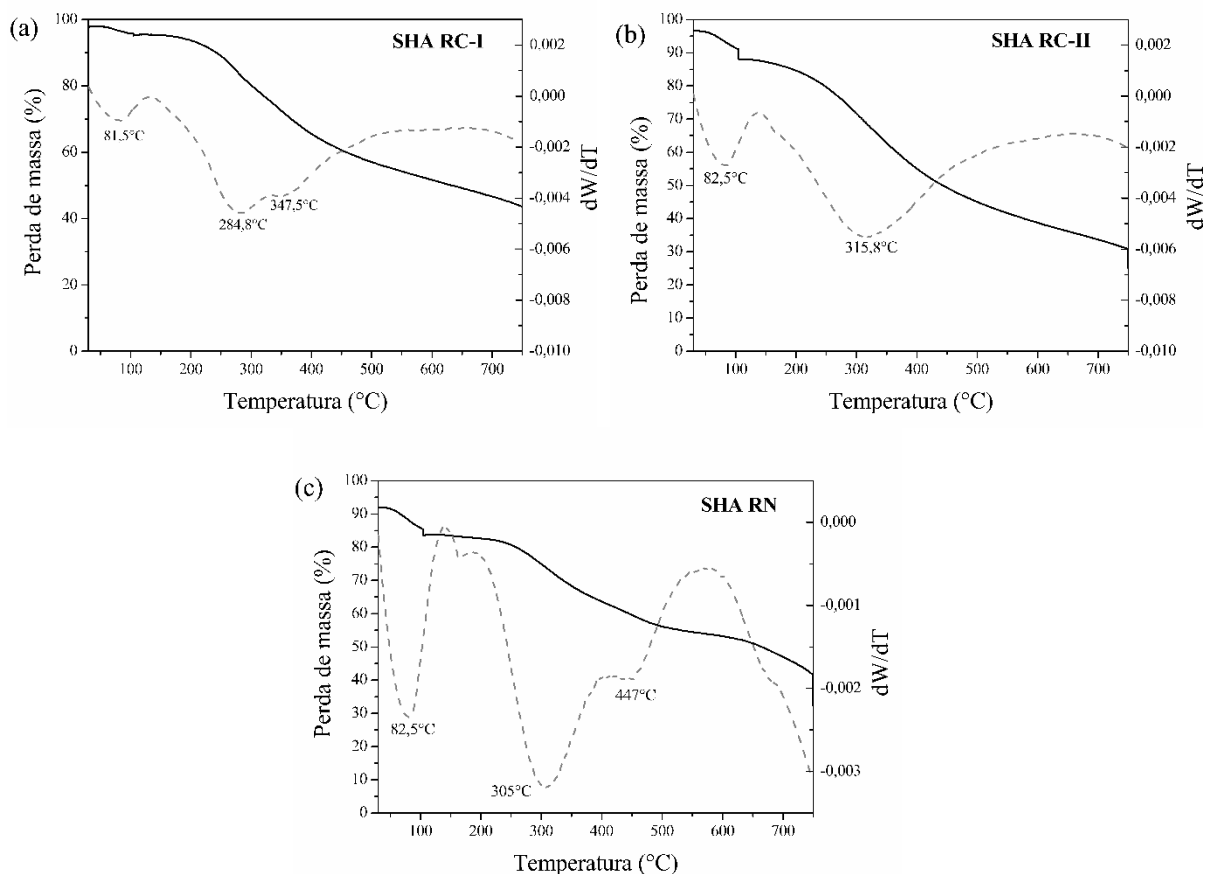
II e em 1081 e 1126 cm^{-1} em RN. Todas as amostras apresentaram bandas atribuídas ao estiramento O-H no plano (carboidratos), sendo 1352, 1354 e 1358 cm^{-1} , para RC-I, RC-II e RN, respectivamente (Figura 14) (ABDULLA; MINOR; HATCHER, 2010; SPACCINI; PICCOLO, 2007; TADINI et al., 2015a).

As curvas termogravimétricas (TGA) e suas derivadas primeira (DTG) estão ilustradas na Figura 15. Para todas as amostras, um primeiro evento relacionado a desidratação foi observado entre 30 e 140 °C, em que a perda de massa se deu pela evaporação da umidade incorporada ou adsorvida, sendo essas de 4,6, 12,4 e 16,4 % para RC-I, RC-II e RN, respectivamente.

Os picos seguintes marcam as diferenças estruturais entre as SHA. Entre as SHA do rio Carú, a amostra coletada no período de seca (RC-I) apresentou dois picos, em 284,8 e 347,5 °C, representando 20,7 e 31,7 % de perda de massa. O primeiro pode ser atribuído a combustão de polissacarídeos e a perda de grupos oxigenados como carboxílicos, carbonílicos, fenólicos e alcoólicos. Enquanto o segundo foi relacionado à combustão de estruturas alifáticas (MONTECCHIO et al., 2006). Especificamente, para SHA RC-II apenas um pico foi observado em 315,8 °C, sendo a perda de massa de 43 %. Já para amostra RN, um pico menos intenso em 305 °C indica menor presença de estruturas com grupos oxigenados em relação as amostras RC. Ainda para SHA RN o pico em 447 °C foi relacionado com a combustão de estruturas com domínios aromáticos, representando 23,7 % da perda de massa (CUNHA et al., 2007). A massa residual em 750 °C variou de 35 a 48 %, valores similares aos reportados na literatura para ácidos húmicos (GIOVANELA et al., 2010). Tais diferenças estruturais também foram constatadas pela análise de FTIR.

Comparativamente, as amostras RC-I e RN foram coletadas em períodos similares, durante período com menos eventos de chuvas na região de amostragem (meados de novembro a março). Ambas as amostras se mostraram similares quanto a resistência à degradação térmica, apresentando eventos em temperaturas mais altas, porém, maior para SHA RN (447 °C) (Figura 15c). Tal fato, pode ser associado ao processo de degradação da biomassa precursora, em que durante o período de seca, o material orgânico permanece mais tempo nas camadas superficiais do solo e está disponível para ser decomposto, além de sofrer o processo de humificação, dando origem as estruturas supramoleculares.

Figura 15 -Curvas termogravimétricas: TGA (—) e DTG (---) das SHA (a) RC-I, (b) RC-II e (c) RN.



Fonte: Elaborado pela autora

Na Figura 16 estão apresentados os espectros de RMN de ^{13}C das amostras de SHA RC-I, RC-II e RN. Os espectros evidenciam a composição complexa das amostras, exibindo picos relativos a presença de C aromático, como também de C presente em estruturas mais alifáticas, um perfil comum para amostras de MON (KÖGEL-KNABNER, 1997; TADINI et al., 2015a).

De maneira geral, intervalos de ressonância foram associados a diferentes tipos de carbono, em que os picos da região de 0 a 45 ppm são característicos da presença de C alifático (grupo metil ($-\text{CH}_3$) em final de cadeia, C metileno ($-\text{CH}_2-$) em anéis ou cadeias alifáticas). Mais especificamente, pico em 30 ppm pode ser atribuído ao C-álquil de cadeias de poliésteres lipídicos, identificados na região alifática dos espectros de cutinas derivada de folhas em decomposição (Figura 16) (PACCHIANO et al., 1993).

A região de 46-60 ppm refere-se ao O-Alquil encontra-se em picos da região de 61-90 ppm, principalmente associada com açúcares e polissacarídeos (BONANOMI et al., 2013). Picos menos intensos de 52-57 ppm na região O-Alquil, possivelmente podem ser atribuídos ao

C-metóxi, comumente presente nas estruturas derivadas de lignina, como guaiacil e siringil (BONANOMI et al., 2013). Já a região de 111-160 ppm pode ser atribuída a presença de C aromático e/ou fenólico, como de compostos derivados da lignina. Este intervalo pode ser ainda dividido em duas regiões, as quais serão denominadas neste trabalho como Região-I e II. A Região-I corresponde a C-aromático, enquanto a Região-II refere-se a C-aromático, de compostos fenólicos, ligados O ou N (Figura 16).

Na Tabela 13 estão apresentados os dados de distribuição relativa de grupos, grau de aromaticidade, razão Alquil (AR) e de lignina (LR). A AR é calculada pelo quociente do percentual de C-alkil (0-45) pelo percentual de O-Alquil (61-110).

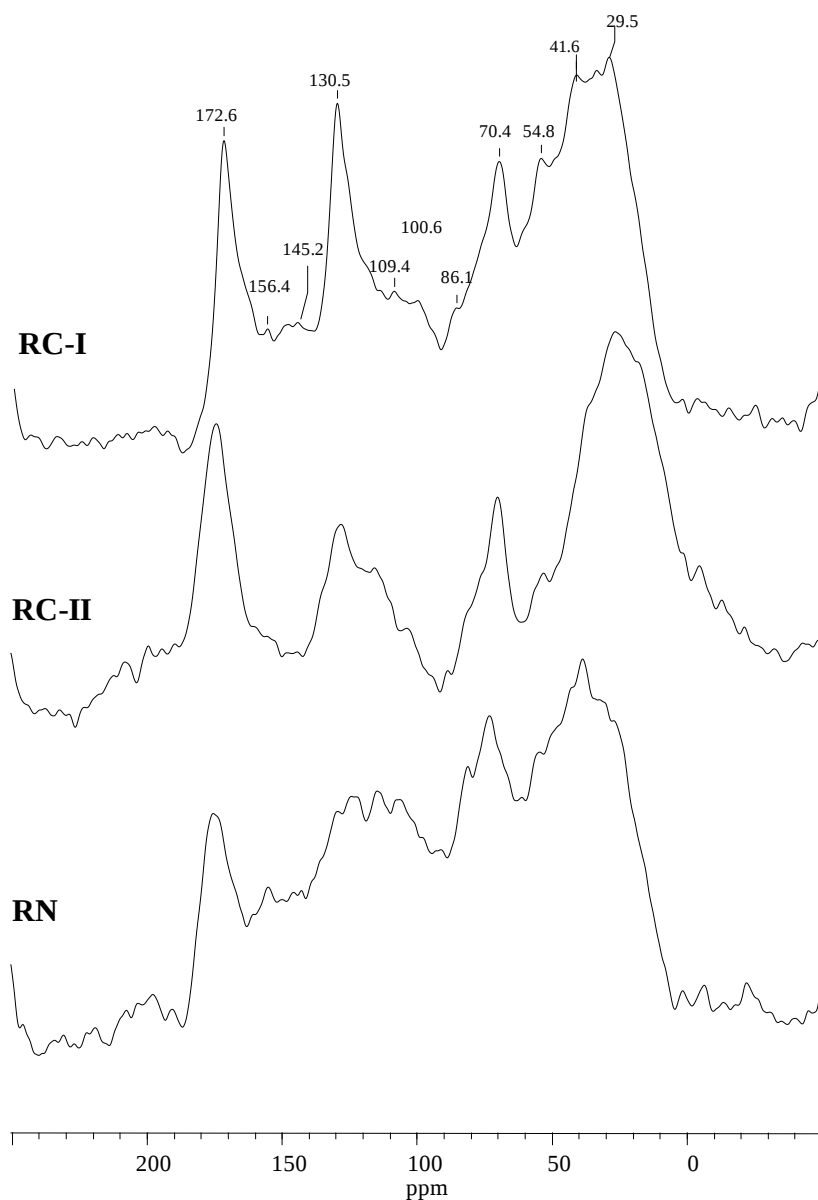
De acordo com os dados apresentados na Tabela 13, pode-se notar que a amostra SHA RC-II foi a que apresentou maior valor de AR (2,1), indicando que o material húmico dessa amostra parece ter sofrido mais processos de degradação, quando comparado com as demais amostras, e que apresenta maior conteúdo de estruturas com ligações de C-Alquil. Já a amostra SHA RN foi a que apresentou menor valor de AR (0,8), indicando maior proporção da fração correspondente as estruturas com ligações O-Alquil, a qual pode estar relacionada com a presença de maior conteúdo de derivados de polissacarídeos preservados ou não-decompostos (KÖGEL-KNABNER; RUMPEL, 2018). Portanto, o grau de decomposição da amostra segue a seguinte relação crescente: $RN < RC-I < RC-II$. Esta informação corrobora com os dados inferidos a partir dos espectros de Infravermelho.

Todas as amostras apresentaram picos na região de 110-160 ppm, relativos à presença de C-aromático. Os percentuais de aromaticidade foram similares para as três SHA (em torno de 20 %), conforme apresentado na Tabela 13. Estas informações corroboram com os resultados de $SUVA_{254}$ (Tabela 10). Para a Região-I (111-145 ppm), destaca-se a SHA-RC-II com menor percentual, 13,8 %, seguida de SHA RN e RC-I com 16,8 e 17,4 %, respectivamente.

Já com relação a Região-II (146 a 160 ppm) pode ser observado que a SHA RC-II apresentou maior percentual (9,3) em relação as SHA RC-I e RN (Tabela 13). Desta forma, o C-aromático na amostra SHA-RC-II pode ser atribuído a presença de estruturas fenólicas e não de lignina, fato evidenciado pelo menor valor de LR (0,7), o qual é calculado pela razão entre as regiões correspondentes ao C-metóxi e ao C-aromático ligado ao O, ambos característicos da estrutura química da lignina. Por outro lado, o valor de LR foi de 4,0 para SHA RC-I, indicando um deslocamento químico da região 46-60 (C-metóxi, aminoácidos) maior que o da região 146-160 ppm, portanto, a região de 46-60 ppm pode ser atribuída a prevalência da ligação C-N, como já visto pelo maior teor de N%. Além disso, a amostra SHA-RC-I apresentou pico

intenso em 130 ppm, o qual pode ser indicativo da presença de lignina alterada ou materiais de outras fontes (por exemplo, carvão). Por fim, para SHA RN, o valor intermediário de LR indica a presença de estruturas de lignina em sua composição ($1,0 < LR < 2,0$).

Figura 16 - Espectros ^{13}C RMN das amostras de SHA.



Fonte: Elaborado pela autora

Tabela 13 - Distribuição das integrações relativas (%) dos RMN de ^{13}C , grau de aromaticidade, razão alquil (AR) e de lignina (LR) presentes nas amostras de SHA desse estudo.

% Integração relativa						
	Deslocamento químico (ppm)	RC-I	RC-II	RN	RN (Oliveira, 2007)	RN (Rocha et al, 1999)
C=O (aldeído e cetonas)	220-190	-	6,5	-	-	3,0
C=O (ác. carboxílicos éster)	190-160	6,1	15,1	5,6	9,6	12,0
O-Aromático	160-145	3,5	5,4	4,9	9,3	35,0
Aromático	145-110	17,6	13,4	16,7		
O-Alquil	110-60	22,4	16,9	32,6	17,1	17,0
Metóxi	60-45	14,6	6,5	13,0	53,1	33,0
Alquil	45-0	35,7	36,1	27,2		
Grau de aromaticidade^a		23,6	19,5	22,7	10,4	35
LR^b		4,0	0,7	2,7	-	-
AR^c		1,6	2,1	0,8	-	-

^aAromaticidade (%) = $(112 \text{ a } 163 \text{ ppm}) / (0 \text{ a } 220 \text{ ppm}) \times 100$

^bLR: Razão Lignina = $(45-60) / (145 \text{ a } 160)$

^cAR: Razão Alquil = $(0-45) / (60-110)$

Fonte: Elaborado pela autora

Com relação a região de 161 a 190 ppm, esta é dominada pelo pico máximo em torno de 174 ppm, o qual é atribuído a presença de estruturas contendo ligação C=O (carboxílico, carbonílico ou de amidas). Estruturas contendo este tipo de ligação indicam oxidação do material húmico derivado de plantas, acentuada pelas condições ambientais que favoreçam a degradação (ALMENDROS et al., 2000; KÖGEL-KNABNER, 1997; SPACCINI et al., 2000). O percentual de C=O nas amostras variou de 5,7 a 15,5 %, sendo o maior valor observado para a amostra SHA RC-II (Tabela 13). O menor percentual de C=O corresponde a amostra de SHA RN, este resultado corrobora com os dados inferidos nos espectros de Infravermelho, onde o desaparecimento da banda referente ao grupo C=O foi evidente nesta amostra.

Em um estudo realizado por Oliveira (2007) foram feitas análises de ^{13}C RMN de amostras coletadas no rio Negro, durante um ano (Março 2002 a Fevereiro 2003). Neste estudo foram observadas diferenças significativas no conteúdo dos grupos funcionais presentes nas amostras de SHA, como por exemplo, foi observado maior grau de aromaticidade no período de seca do que chuvoso, o qual corrobora com os resultados apresentados neste trabalho. A este comportamento, os autores definiram como maior grau de humificação.

Portanto, pode-se concluir que apesar dos índices de aromaticidade similares, as SHA analisadas nesse estudo apresentaram características diferentes em sua composição, que podem ser associadas a sazonalidade e aos vários efeitos bióticos e abióticos que influenciam os processos de degradação.

5.4.2 Interação Das Substâncias Húmicas Aquáticas Com Íons Metálicos

A interação das SHA com as espécies metálicas foi observada pelo efeito de *Quenching* ou Supressão de Fluorescência. A Figura 17 apresenta os espectros de fluorescência no modo MEE para a amostra de SHA-RN na ausência e presença de diferentes concentrações de Cu(II) em escala normalizada para todos. Foi possível observar o aumento da supressão da intensidade máxima de fluorescência com o aumento das concentrações de Cu(II), sendo que a adição de 5,0 mg L⁻¹ de Cu(II) ocasionou a supressão de aproximadamente 55 % da intensidade máxima de fluorescência da amostra ($\lambda_{Exc}/\lambda_{Em} = 313/430$ nm).

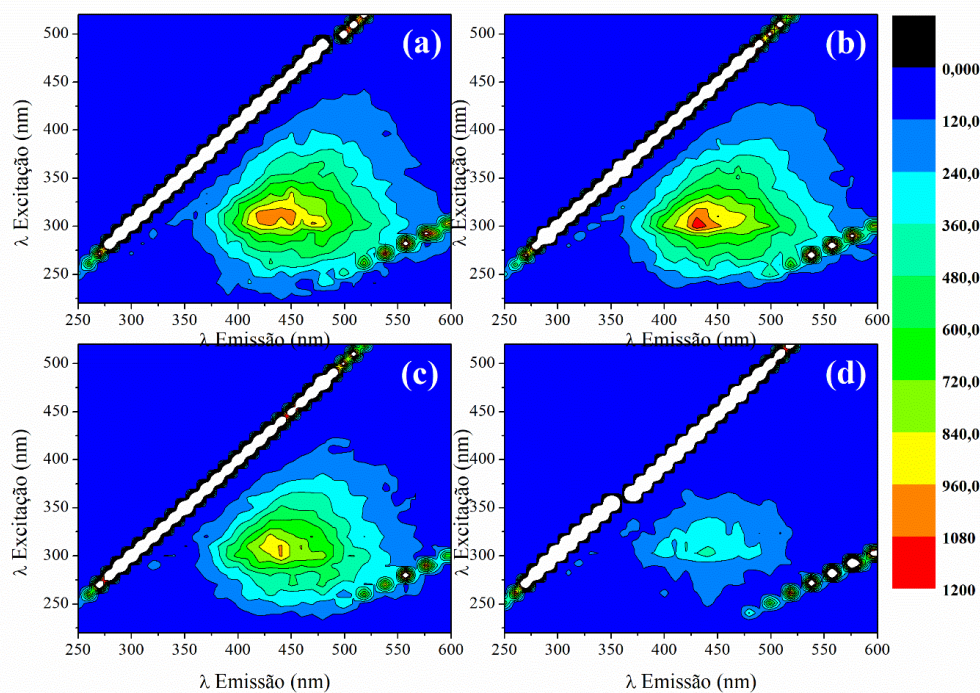
Para melhor avaliação da interação do material húmico com as espécies metálicas, os espectros de fluorescência no modo MEE foram submetidos ao tratamento estatístico CP/PARAFAC, a qual forneceu informações sobre os componentes (ou fluoróforos) presentes nas amostras de SHA desse estudo, bem como da supressão ou deslocamento dos mesmos durante os experimentos de titulação com íons metálicos.

Para todos os ensaios realizados com as diferentes SHA e os íons Cu(II), Al(III) e Fe(III) o tratamento CP/PARAFAC obteve melhores valores de Concordia para dois componentes. Os componentes foram denominados de C1 e C2, sendo que eles apresentaram-se muito similares para todas as SHA, o que era esperado, pois como exposto no item 5.4.1 (Figura 13) os espectros de fluorescência total no modo MEE também foram bastante semelhantes, indicando a possível presença dos mesmos tipos de fluoróforos, aqui confirmada. Dessa forma, os componentes identificados em cada ensaio são apresentados na Figura 1D, para ensaio com Cu(II), no Apêndice D.

Em todos os ensaios, o componente C1, em todas as SHA apresentou maior intensidade de fluorescência na região do azul, com excitação (λ_{exc}) em 310 nm e emissão (λ_{em}) em 420 nm, indicando caráter mais alifático da MOD fluorescente. Por outro lado, o componente C2 apresentou formato mais alongado, com emissão máxima de fluorescência em comprimentos de onda mais longos, deslocados para região do vermelho. Nesse caso, as intensidades máximas de fluorescência para C2 foram observadas em $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 310/470$ nm para SHA RC-I e o efeito

de deslocamento seguiu para região do vermelho para SHA RC-II ($\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 300/480$ nm) e SHA RN ($\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 300/490$ nm).

Figura 17 -Espectros de Fluorescência obtidos no modo MEE para SHA do rio Negro: (a) sem adição de íon metálico; (b) com adição de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu(II) (c) com adição de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu(II) e (d) com adição de $5000 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu(II).



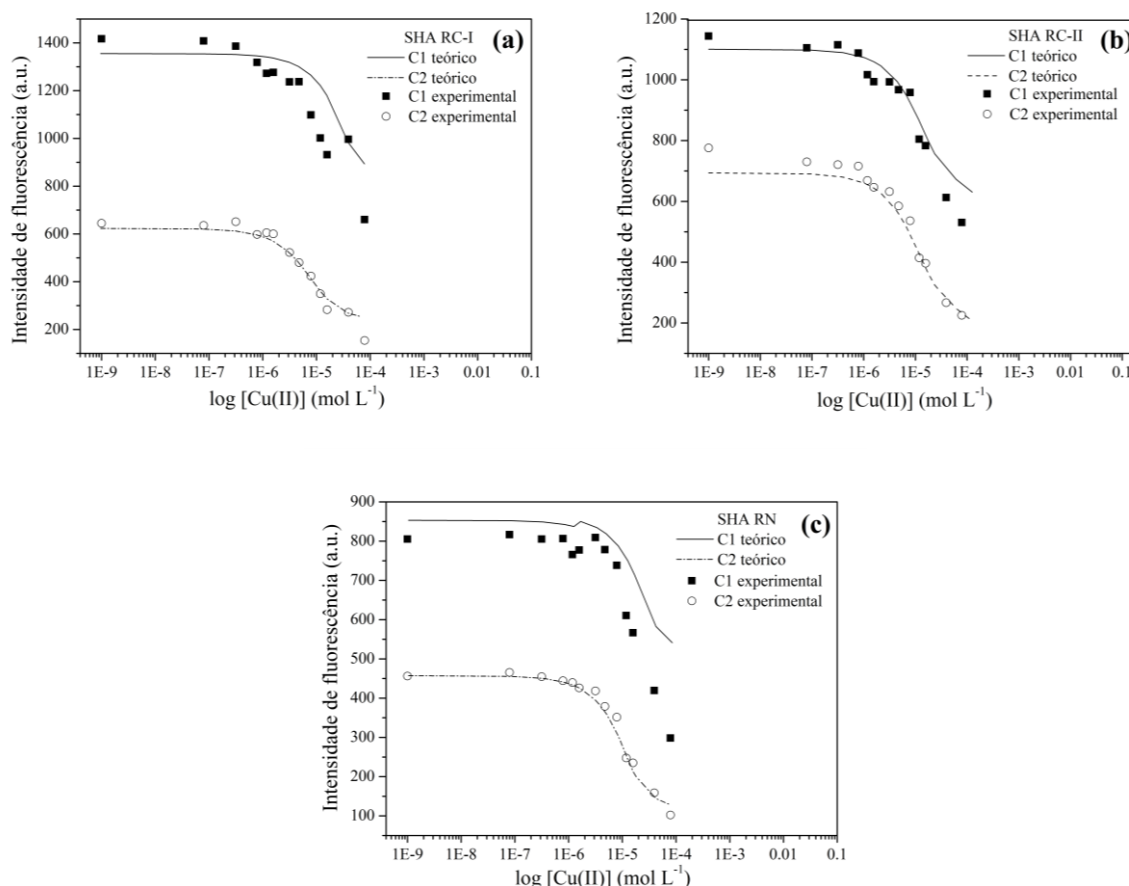
Fonte: Elaborado pela autora

As intensidades máximas de fluorescência de cada componente nos ensaios de complexação podem ser consultadas na Tabela 1D (Apêndice D). De maneira geral, as maiores intensidades máximas de fluorescência foram obtidas para C1 e C2, presentes em SHA RC-I > RC-II > RN. Segundo Coble et al (2014), C1 e C2 podem ser classificados como picos tipicamente húmicos, sendo o C2 mais característico em amostra com origem terrestre.

As informações obtidas nos ensaios de supressão de fluorescência, em relação a cada componente, foram aplicadas ao modelo de complexação proposto por Ryan-Weber para modelo de interação 1:1 (ligante:metal). Alguns parâmetros de ligação SHA- M^{n+} foram determinados, como as constantes de estabilidade conformacional do complexo SHA- M^{n+} para cada íon metálico, além da determinação da concentração de sítios ligantes (L_M) e da capacidade de complexação das SHA (CC). A Figura 18 apresenta as curvas de titulação dos ensaios de

complexação das SHA com Cu(II), as demais curvas de titulação encontram-se na Figura 2D e 3D (Apêndice D).

Figura 18 - Curvas de titulação de supressão de fluorescência dos componentes C1 e C2 com Cu(II) nas amostras de SHA (a) RC-I, (b) RC-II e (c) RN.



Fonte: Elaborado pela autora

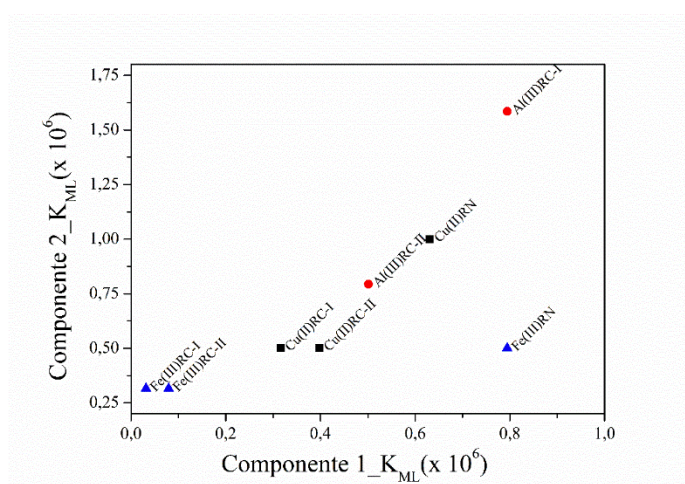
Para a avaliação do modelo empregado para complexação das espécies estudadas, empregou-se o valor de Biais, que consiste na soma absoluta da diferença entre os valores de intensidade de fluorescência experimental e teórico (Tabela 1D). Dessa forma, o Biais representa o erro entre os valores esperados, calculados pelo modelo, e os valores experimentais. Foram obtidos bons ajustes entre os dados experimentais e dos valores calculados pelo modelo. Nos ensaios de complexação os valores de Biais variaram de 0,48 a 3,47, indicando que os dados experimentais se ajustaram bem ao modelo teórico, com exceção para o ensaio com Fe(III) e SHA RN, porém somente para C2, em que o Biais foi de 11,5 (Figura 3D - Apêndice D). No

ensaio com Al(III) e SHA RN, para ambos os componentes, os dados não se ajustaram ao modelo (Figura 2D - Apêndice D).

Os resultados obtidos para as SHA nesse trabalho estão de acordo com os valores apresentados na literatura (ANTUNES; PEREIRA; ESTEVES DA SILVA, 2007; CHEN et al., 2015; HUANG et al., 2018; MOUNIER et al., 2011). Consideram como fortes ligantes aqueles com concentrações de ligantes (L_T) cerca de 10^{-6} mol L^{-1} e constante de estabilidade (K_{ML}) da ordem de 10^5 (ANTUNES; PEREIRA; ESTEVES DA SILVA, 2007; MOUNIER et al., 2011). As K_{ML} variaram de $3,0 \times 10^4$ a $1,0 \times 10^6$ e a concentração de L_T variou de $4,0 \times 10^{-6}$ e $7,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} .

De maneira geral, pode ser observado que as maiores estabilidades entre os complexos SHA-Cu(II) ou SHA-Fe(III) foram obtidos para SHA RN, sendo esse o material húmico que apresentou maiores deslocamentos dos componentes fluoróforos para região do vermelho (presença de sistemas conjugados e aromáticos) (Tabela 1D – Apêndice D e Figura 19). Enquanto, K_{ML} tanto para C1 quanto para C2 foram próximos para SHA RC-I e RC-II nos ensaios com Cu(II) e Fe(III) (Figura 19). Romão et al (2003) comparou dois métodos de avaliação da capacidade complexante de MO aquática e terrestre com Cu(II), dentre elas amostra extraída do rio Negro, em que obteve valores similares para log K (4,22).

Figura 19 - Variação das constantes de estabilidade dos complexos com Cu(II), Al(III) e Fe(III) para os componentes identificados pelo CP/PARAFAC nas amostras de SHA.

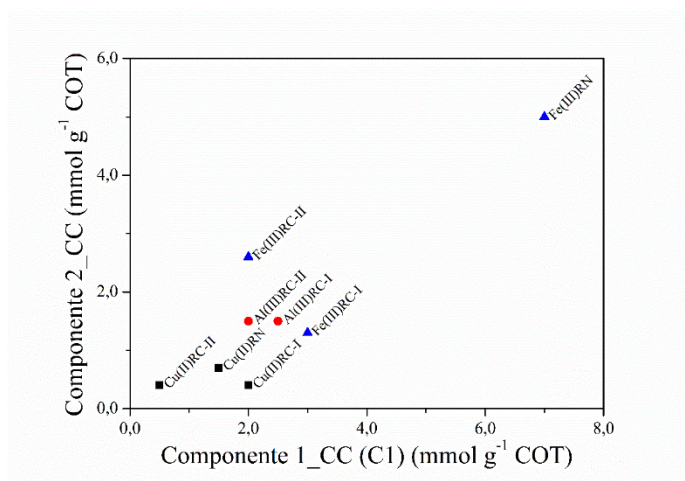


Fonte: Elaborado pela autora

Entretanto, destaca-se a interação da SHA RC-I com Al(III) tendo altos valores de K_{ML} tanto para C1 quanto para C2, em que K_{ML} foi de $7,9 \times 10^5$ e $5,0 \times 10^5$ para C1 em RC-I e RC-II, respectivamente. Enquanto os valores de K_{ML} para C2 foram de $1,5 \times 10^5$ e $7,9 \times 10^5$ para RC-I e RC-II, respectivamente (Tabela 1D – Apêndice D). Cabe explicar, que nesse ensaio para RN, não foi possível determinar os parâmetros referentes da interação entre SHA e Al(III), como pode ser observado na Figura 3D (Apêndice D), para as concentrações testadas não foi atingido o equilíbrio de complexação do modelo.

Em relação a capacidade de complexação, C1 e C2 apresentaram concentrações de sítios de ligantes por gramas de carbono similares para os ensaios de interação com Cu(II), para as amostras RN e RC-I. A maior capacidade complexante foi observada para RN com Fe(III), para ambos os componentes (Figura 20 e Tabela 1D – Apêndice D). Considerando as capacidades complexantes relativas a ambos os componentes, fica evidente que a SHA RN possui mais sítios de ligação por g de COT para Fe(III) e equivalentes a RC-I para Cu(II). As ordens decrescentes por íon metálico testado foram as seguintes, para Cu(II): RC-I > RN > RC-II, para Al(III): RC-I > RC-II e para Fe(III): RN > RC-II > RC-I.

Figura 20 – Capacidade de complexação (CC) dos componentes identificados pelo CP/PARAFAC nas amostras de SHA.



Fonte: Elaborado pela autora

A análise 2D-COS dos espectros de FTIR foi empregada na avaliação dos grupos funcionais envolvidos na formação dos complexos SHA- M^{n+} , para cada íon metálico testado. Além disso, a avaliação dos mapas de contorno síncrono e assíncrono forneceram informações sobre o ordenamento dos eventos (HUANG et al., 2018). A Figura 21 ilustra os mapas de

contorno síncronos e assíncronos para as SHA no ensaio com Cu(II). Os mapas obtidos para os ensaios realizados com SHA e os íons metálicos Al(III) e Fe(III) estão ilustrados na Figura 22 e 23, respectivamente.

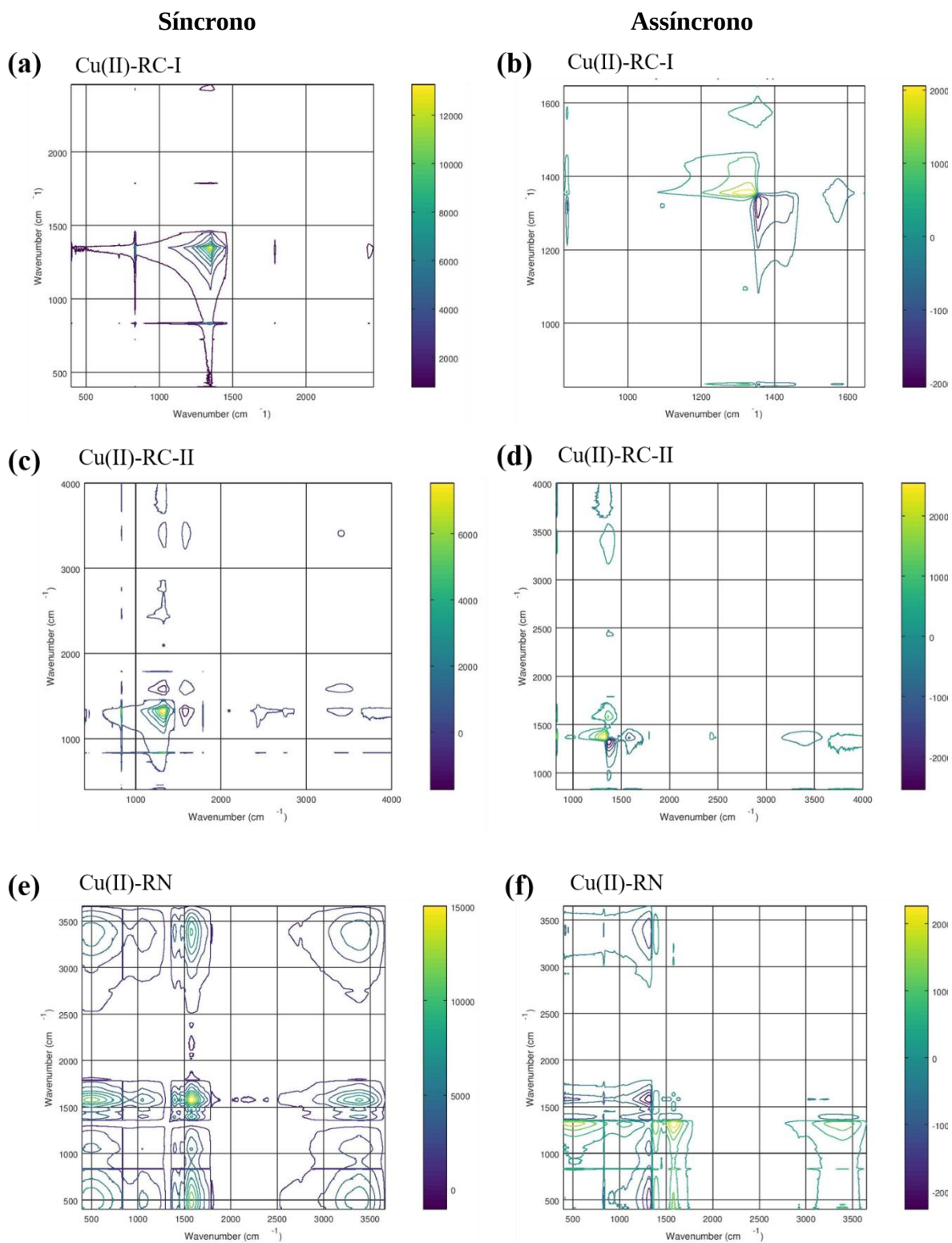
A Figura 21 (a) representa o espectro síncrono das alterações decorrentes do incremento de 0,05 a 5,00 mg L⁻¹ de Cu(II) na SHA RC-I. Foi observado um autotopo principal e intenso em 1350 cm⁻¹, atribuído ao estiramento do -COOH. Ademais foram observados dois pequenos picos cruzados positivos, 1780 x 1350 cm⁻¹ e 2426 x 1350 cm⁻¹. Entretanto, observando o espectro assíncrono (Figura 21 (b)) são observados picos cruzados associados unicamente ao autotopo em 1350 cm⁻¹, revelando que essa foi a única mudança significativa ocorrida devido a adição de Cu(II) em RC-I.

As Figuras 21 (c) e (d) são referentes aos espectros síncrono e assíncrono da amostra RC-II no ensaio com adição de Cu(II). Foram observados três autotopos principais, sendo eles em 1346, 1573 e 3413 cm⁻¹, sendo que as bandas atribuídas a esses autotopos foram estiramentos simétricos e assimétricos do grupo carboxilatos (COO⁻) e ao estiramento O-H. Além disso, os picos cruzados observados foram todos positivos, indicando que os eventos aconteceram de forma síncrona (na mesma direção). Esses picos foram observados em 1573 x 1346 cm⁻¹, 3413 x 1346 cm⁻¹ e 3413 x 1573 cm⁻¹. Analisando o espectro assíncrono (Figura 21 (d)) o ordenamento dos eventos decorrentes da adição de Cu(II) em RC-II foi o seguinte: COO⁻ > O-H.

Já para a amostra RN foram observados quatro autotopos principais (Figura 21 (e)). Esses picos foram identificados em 1054, 1432, 1579 e 3364 cm⁻¹. Novamente mudanças conformacionais foram relacionadas aos modos de vibração dos grupos COO⁻ (estiramentos simétrico e assimétrico), sendo esses dois autotopos (1432 e 1579 cm⁻¹) referentes aos eventos mais intensos, seguidos do estiramento O-H e de C-O de polissacarídeos (Tabela 12). Dessa forma, é possível concluir que a interação de Cu(II) ocorreu nas SHA estudadas nesse trabalho, principalmente com o grupo carboxilatos e hidroxila, nessa ordem exatamente.

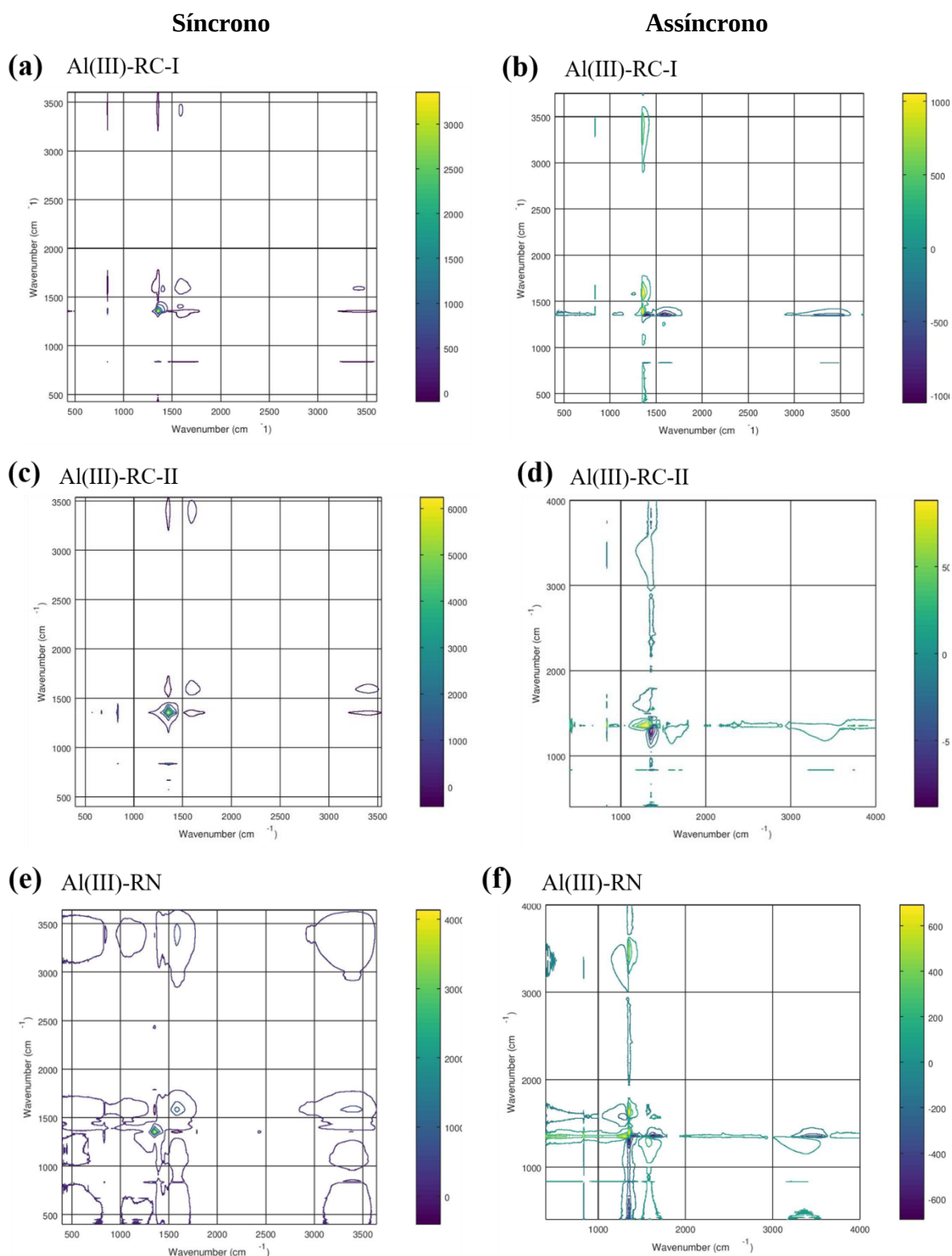
A Figura 22 ilustra os mapas síncronos e assíncronos dos espectros de FTIR das SHA nos ensaios com adição de Al(III). Para todas as SHA foram observados autotopos em 1353 e 1588 cm⁻¹, relativos aos estiramento O-H de carboidratos e estiramento assimétrico de COO⁻, respectivamente. A ordem sequencial das interações entre Al(III) foi de COO⁻ e O-H para SHA RC-I e O-H e COO⁻ para SHA RC-II e RN.

Figura 21 - Mapas Síncronos e Assíncronos gerados de 400 a 4000 cm^{-1} dos espectros de infravermelho das SHA com Cu(II).



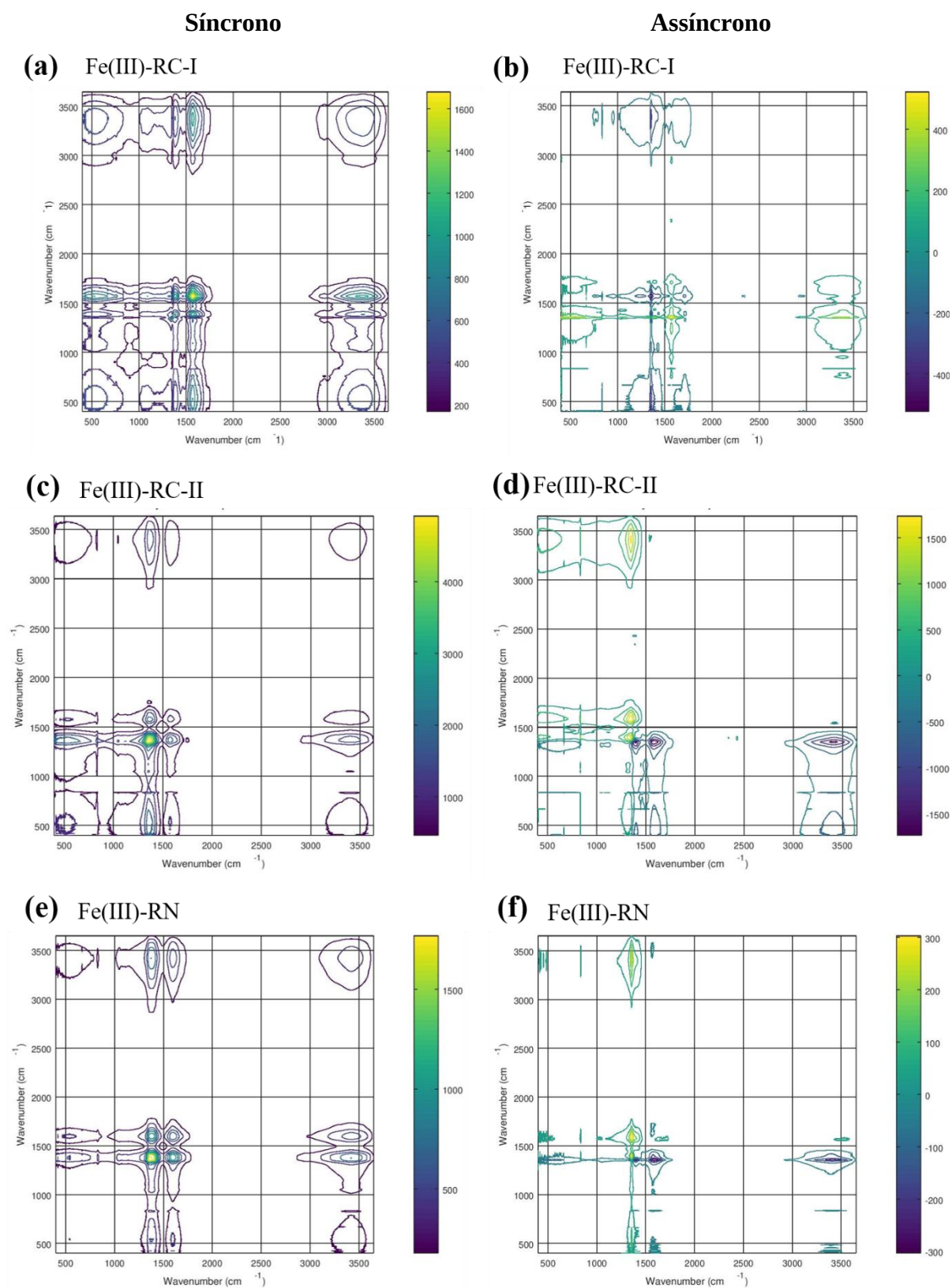
Fonte: Elaborado pelo Prof. Dr. Marinônio L. Cornélio

Figura 22 - Mapas Síncronos e Assíncronos gerados de 400 a 4000 cm^{-1} dos espectros de infravermelho das SHA com Al(III).



Fonte: Elaborado pelo Prof. Dr. Marinônio L. Cornélio

Figura 23 - Mapas Síncronos e Assíncronos gerados de 400 a 4000 cm^{-1} dos espectros de infravermelho das SHA com Fe(III).



Fonte: Elaborado pelo Prof. Dr. Marinônio L. Cornélio

Já para os ensaios de complexação com as SHA e o íon Fe(III), para RC-I (Figura 23 (a) e (b)) foram observados três autopicos 1353, 1382 e 1588 cm^{-1} . Para RC-II e RN apenas dois autopicos foram observados, sendo eles em 1382 e 1588 cm^{-1} (Tabela 12), sendo 1353 cm^{-1} o autopico mais intenso. Dessa forma, a ordem sequencial de interação de Fe(III) com grupos funcionais em RC-II e RN foram 1588 e 1382 cm^{-1} . Enquanto, para RC-I foi 1353, 1382 e 1588 cm^{-1} , sendo relativos aos estiramentos O-H e COO^- (Tabela 12).

De maneira geral, os resultados obtidos nos ensaios de complexação pela análise de correlação bidimensional de infravermelho corroboram com os parâmetros obtidos para interação SHA- M^{n+} . A amostra SHA RN apresentou maior diversidade de autopicos para todos os íons metálicos empregados nesse estudo, associados principalmente aos grupos funcionais COO^- e O-H. E também apresentou a maior concentração de sítios de ligação e capacidade complexante em relação aos íons (Tabela 1D). Destaca-se também a semelhança entre os resultados obtidos para interação das SHA e os íons metálicos nas amostras RC-II e RN, ambas referentes aos materiais coletados no período chuvoso.

6 CONCLUSÃO

A determinação de metais totais nas amostras de águas superficiais da região estudada, permitiu inferir que os corpo aquáticos estudados, enquadrados como classe 2, estiveram em conformidade com a legislação brasileira vigente. Cabe destacar que parte dos resultados gerados nesse trabalho são inéditos e fornecem dados importantes para a composição de um histórico das características da região. Ademais, a maior parte dos metais foram encontrados na forma particulada, o que indica que estão mais susceptíveis ao transporte entre os rios. Para as amostras de sedimentos superficiais, os valores determinados também estiveram em conformidade com valores limítrofes estabelecidos pela legislação empregada para comparação nesse trabalho (Valores Guias de Qualidade de Sedimentos da *Canadian Council of Ministers of the Environment* (CCME), que preconiza valores limites quanto a toxicidade à biota.

Os estudos empregando a cinética de consumo de H_2O_2 como indicador da labilidade da matéria orgânica dissolvida (MOD) mostraram que a maior parte do COD em corpos aquáticos de águas brancas e pretas encontram-se na forma de MO recalcitrante e também permitiram delinear o regime de maior incorporação dessa fração no período de chuvas. A porção cromófora da MOD foi avaliada por meio das técnicas espectroscópicas de UV-Vis e Fluorescência durante os experimentos cinéticos, as quais evidenciaram características distintas

relacionadas ao regime sazonal. Como por exemplo, o índice $SUVA_{254}$, comumente correlacionado com a porção aromática da MOD, teve um aumento sazonal com a incorporação de material de origem alóctone, de forma mais intensa no período chuvoso, conforme era esperado.

Ainda sobre a avaliação da porção cromófora da MOD, o emprego da ferramenta de análise de fatores paralelos (CP/PARAFAC) às medidas de fluorescência obtidas para as amostras empregadas nos ensaios cinéticos, proporcionou a identificação de 5 componentes (fluoróforos) distintos que contribuem para a fração fluorescente da MOD. Além disso, foi possível verificar que nos rios de água preta (Carú e Anebá) a fração reativa e fluorescente da MOD está relacionada a porção mais lábil em relação aos rios de água branca (Amazonas 1 e Madeira) coletados no mesmo período (seca). Entretanto, para o período chuvoso, a porção fluorescente da MOD não foi relacionada com a fração lábil determinada nesse estudo, visto que houve pouca variação da intensidade de fluorescência máxima dos componentes identificados nesse período.

A análise do BPCA na MOD extraída das águas superficiais proporcionou a determinação do conteúdo do DBC, que variou de 0,4 a 2,8 % mol, além de uma avaliação qualitativa da porção aromática e condensada da MOD presente nas amostras. Nesse sentido, no período chuvoso houve incorporação da fração mais aromática e condensada, evidenciado pelo aumento dos teores de B6CA e B5CA (ácidos penta- e hexa- carboxílicos de benzeno). Esses resultados corroboram com os resultados obtidos anteriormente, que demonstraram um caráter mais recalcitrante da MOD presente nas amostras em ambas as estações de amostragem.

As amostras de SHA (RN e RC I e II), todas extraídas de rios de águas pretas, permitiram uma avaliação mais profunda acerca das características da porção hidrofóbica da MOD presente nessas águas, bem como das suas interações com espécies metálicas. A partir dos resultados obtidos por meio das diferentes técnicas empregadas, foi possível concluir que a SHA do rio Negro apresentou maior conteúdo aromático e tamanho molecular quando comparado as SHA do rio Carú. Nos ensaios de complexação também ficou evidenciado que SHA RN possui maior capacidade de complexação e de concentração de sítios ligantes em relação as amostras SHA RC. Foi possível verificar que para todas as amostras de SHA, dentro a diversidade de grupos funcionais presentes, os grupos -OH e -COO⁻ são os mais envolvidos na interação SHA-Mⁿ⁺.

Portanto, esse estudo mostrou que os corpos aquáticos da região estudada, com ênfase na região de Itacoatiara, que é um importante município do estado do Amazonas, encontram-se em conformidade com a legislação brasileira que visa o enquadramento e qualidade das águas

superficiais. A MON presente nos corpos aquáticos tem grande influência da origem alóctone, como evidenciado pelas características apontadas nos estudos de caracterização (labilidade e black carbon). A SHA empregadas nesse estudo, apesar de fazerem parte de rios de águas pretas (Negro e Carú), com características similares, existe a influência sazonal e de formação; tais variações influenciam diretamente na capacidade de interação dessas SHA interagirem com outras espécies, como mostrado com os metais.

REFERÊNCIAS

- ABDULLA, H. A. N.; MINOR, E. C.; HATCHER, P. G. Using two-dimensional correlations of ^{13}C NMR and FTIR to investigate changes in the chemical composition of dissolved organic matter along an estuarine transect. **Environmental Science and Technology**, v. 44, n. 21, p. 8044–8049, 2010.
- ABIVEN, S. et al. Pyrogenic carbon soluble fraction is larger and more aromatic in aged charcoal than in fresh charcoal. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43, n. 7, p. 1615–1617, 2011.
- ALLARD, B. A comparative study on the chemical composition of humic acids from forest soil, agricultural soil and lignite deposit. **Geoderma**, v. 130, p. 77–96, 2006.
- ALMENDROS, G. et al. ^{13}C NMR assessment of decomposition patterns during composting of forest and shrub biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, n. 6, p. 793–804, 2000.
- ALUWIHARE, L. I.; REPETA, D. J.; CHEN, R. F. Chemical composition and cycling of dissolved organic matter in the Mid-Atlantic Bight. **Deep-Sea Research Part II**, v. 49, p. 4421–4437, 2002.
- ANTUNES, M. C. G.; PEREIRA, C. C. C.; ESTEVES DA SILVA, J. C. G. MCR of the quenching of the EEM of fluorescence of dissolved organic matter by metal ions. **Analytica Chimica Acta**, v. 595, n. 1–2 SPEC. ISS., p. 9–18, 2007.
- AUCOUR, A. et al. The Amazon River: behaviour of metals (Fe, Al, Mn) and dissolved organic matter in the initial mixing at the Rio Negro/Solimões confluence. **Chemical Geology**, v. 197, p. 271–285, 2003.
- BADER, H.; STURZENEGGER, V.; HOIGNÉ, J. Photometric Method for the Determination of low concentrations of hydrogen peroxide by the peroxidase catalyzed oxidation of n,n-diethyl-p-phenylenediamine (DPD). **Water Research**, v. 22, n. 9, p. 1109–1115, 1988.
- BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.
- BEGGS, K. M. H.; SUMMERS, R. S. Character and chlorine reactivity of dissolved organic matter from a mountain pine beetle impacted watershed. **Environmental Science and Technology**, v. 45, p. 5717–5724, 2011.
- BIRDWELL, J. E.; ENGEL, A. S. Characterization of dissolved organic matter in cave and spring waters using UV-Vis absorbance and fluorescence spectroscopy. **Organic Geochemistry**, v. 41, n. 3, p. 270–280, 2010.
- BONANOMI, G. et al. Litter quality assessed by solid state ^{13}C NMR spectroscopy predicts decay rate better than C/N and Lignin/N ratios. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 56, p. 40–48, 2013.
- BRASIL. CONAMA. **Resolução Conama nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento,[...] e**

dá outras providências. Brasília- DF. Disponível em: <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>>. Acesso em: 13 abr. 2015.

BRODOWSKI, S. et al. Revised black carbon assessment using benzene polycarboxylic acids. **Organic Geochemistry**, v. 36, n. 9, p. 1299–1310, 2005.

BRODOWSKI, S. et al. Black carbon contribution to stable humus in German arable soils. **Geoderma**, v. 139, n. 1–2, p. 220–228, 2007.

BROOKS, M. L.; MEYER, J. S.; MCKNIGHT, D. M. Photooxidation of wetland and riverine dissolved organic matter: Altered copper complexation and organic composition. **Hydrobiologia**, v. 579, p. 95–113, 2007.

CARVALHO, D. P. et al. Dynamics of metals in lacustrine sediments : case study of the Madeira River , Amazon region. **Revista brasileira de Recursos Hídricos**, v. 23, 2018.

CATALÁN, N. et al. Higher reactivity of allochthonous vs. autochthonous DOC sources in a shallow lake. **Aquatic Sciences**, v. 75, n. 4, p. 581–593, 2013.

CETESB. **Guia Nacional de Coleta e Preservação de amostras: Água, Sedimento, Comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. Disponível em: <<http://arquivos.ana.gov.br/institucional/sge/CEDOC/Catalogo/2012/GuiaNacionalDeColeta.pdf>>. Acesso em: 3 jun. 2015.

CHANG, Z. et al. Benzene polycarboxylic acid — A useful marker for condensed organic matter, but not for only pyrogenic black carbon. **Science of The Total Environment**, v. 626, p. 660–667, 2018.

CHEN, W. et al. FTIR and synchronous fluorescence heterospectral two-dimensional correlation analyses on the binding characteristics of copper onto dissolved organic matter. **Environmental Science and Technology**, v. 49, p. 2052–2058, 2015.

COBLE, P. G. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. **Marine Chemistry**, v. 51, n. 4, p. 325–346, 1996.

COBLE, P. G. et al. **Aquatic Organic Matter Fluorescence**. New York: Cambrige University Press, 2014.

CONSTANTINO, I. C. **Avaliação de compostos modelos visando propor um método de diferenciação de matéria orgânica lábil e recalcitrante em ambientes aquáticos**. [s.l.] UNESP UNiversiade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2015.

CORY, R. M.; KAPLAN, L. A. Biological lability of streamwater fluorescent dissolved organic matter. **Lignin and Lignans**, v. 57, n. 5, p. 1347–1360, 2012a.

CORY, R. M.; KAPLAN, L. A. Biological lability of streamwater fluorescent dissolved organic matter. **Limnology and Oceanography**, v. 57, n. 5, p. 1347–1360, 2012b.

CORY, R. M.; KAPLAN, L. A. Biological lability of streamwater fluorescent dissolved organic matter (Erratum). **Limnology and Oceanography**, v. 58, n. 1, 2013.

CORY, R. M.; MCKNIGHT, D. M. Fluorescence Spectroscopy Reveals Ubiquitous Presence of Oxidized and Reduced Quinones in Dissolved Organic Matter Fluorescence Spectroscopy Reveals Ubiquitous Presence of Oxidized and Reduced Quinones in Dissolved Organic Matter. **Environmental Science and Technology**, v. 39, p. 8142–8149, 2005.

COYNEL, A. et al. Spatial and seasonal dynamics of total suspended sediment and organic carbon species in the Congo River. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 19, n. 4, p. 1–17, 2005.

CUNHA, T. J. F. et al. Fracionamento químico da matéria orgânica e características de ácidos húmicos de solos com horizonte a antrópico da amazônia (Terra Preta). **Acta Amazonica**, v. 37, n. 1, p. 91–98, 2007.

DEL VECCHIO, R.; BLOUGH, N. V. On the origin of the optical properties of humic substances. **Environmental Science and Technology**, v. 38, n. 14, p. 3885–3891, 2004.

DING, Y. et al. Dissolved black carbon in grassland streams: Is there an effect of recent fire history? **Chemosphere**, v. 90, n. 10, p. 2557–2562, 2013.

DING, Y. et al. Environmental dynamics of dissolved black carbon in wetlands. **Biogeochemistry**, v. 119, n. 1–3, p. 259–273, 2014.

DING, Y. et al. Dissolved black carbon in boreal forest and glacial rivers of central Alaska: assessment of biomass burning versus anthropogenic sources. **Biogeochemistry**, v. 123, n. 1–2, p. 15–25, 2015.

DITTMAR, T. et al. A simple and efficient method for the solid-phase extraction of dissolved organic matter (SPE-DOM) from seawater. **Limnology and Oceanography: Methods**, v. 6, n. 6, p. 230–235, 2008.

DITTMAR, T. The molecular level determination of black carbon in marine dissolved organic matter. **Organic Geochemistry**, v. 39, n. 4, p. 396–407, 2008.

DITTMAR, T. et al. Continuous flux of dissolved black carbon from a vanished tropical forest biome. **Nature Geoscience**, v. 5, n. 9, p. 618–622, 2012.

DITTMAR, T.; KOCH, B. P. Thermogenic organic matter dissolved in the abyssal ocean. **Marine Chemistry**, v. 102, p. 208–217, 2006.

FEARNSIDE, P. M.; GRAÇA, P. M. L. A.; RODRIGUES, F. J. A. Burning of Amazonian rainforests : burning efficiency and charcoal formation in forest cleared for cattle pasture near Manaus , Brazil. **Forest Ecology and Management**, v. 146, p. 115–128, 2001.

FILELLA, M. Freshwaters: Which NOM matters? **Environmental Chemistry Letters**, v. 7, n. 1, p. 21–35, 2009.

GIOVANELA, M. et al. Chemical and spectroscopic characterization of humic acids extracted from the bottom sediments of a Brazilian subtropical microbasin. **Journal of Molecular Structure**, v. 981, n. 1–3, p. 111–119, 2010.

GLASER, B. et al. Black carbon in soils: the use of benzenecarboxylic acids as specific markers. **Organic Geochemistry**, v. 29, n. 4, p. 811–819, 1998.

GLASER, B.; BIRK, J. J. State of the scientific knowledge on properties and genesis of Anthropogenic Dark Earths in Central Amazonia (terra preta de Índio). **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 82, p. 39–51, 2012.

GOUVEIA, D. et al. Preparação de membranas de acetato de celulose organomodificadas para adsorção dos íons Cu(II), Cd(II), Mn(II) e Ni(II). **Química Nova**, v. 33, n. 5, p. 1135–1140, 2010.

GUBERNATOROVA, T. N.; DOLGONOSOV, B. M. Modeling the biodegradation of multicomponent organic matter in an aquatic environment: 3. Analysis of lignin degradation mechanisms. **Water Resources**, v. 37, n. 3, p. 332–346, 2010.

GUO, X.; FENG, C. Biological toxicity response of Asian Clam (*Corbicula fluminea*) to pollutants in surface water and sediment. **Science of the Total Environment**, v. 631–632, p. 56–70, 2018.

HAMMES, K. et al. Comparison of quantification methods to measure fire-derived (black/elemental) carbon in soils and sediments using reference materials from soil, water, sediment and the atmosphere. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 21, n. 3, p. n/a-n/a, 2007.

HANSEN, A. M. et al. Optical properties of dissolved organic matter (DOM): Effects of biological and photolytic degradation. **Limnology and Oceanography**, v. 61, n. 3, p. 1015–1032, 2016.

HELMS, J. R. et al. Helms, J.R., et al. Absorption spectral slopes and slope ratios as indicators of molecular weight, source, and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.*, 53(3), 2008, 955–969. v. 53, n. 3, p. 1–15, 2008.

HINDERSMANN, B.; ACHTEN, C. Accelerated benzene polycarboxylic acid analysis by liquid chromatography–time-of-flight–mass spectrometry for the determination of petrogenic and pyrogenic carbon. **Journal of Chromatography A**, v. 1510, p. 57–65, 2017.

HOCKADAY, W. C. et al. The transformation and mobility of charcoal in a fire-impacted watershed. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 71, n. 14, p. 3432–3445, 2007.

HOOD, E. et al. Glaciers as a source of ancient and labile organic matter to the marine environment. **Nature**, v. 462, n. 7276, p. 1044–1047, 2009.

HORBE, A. M. C.; ANA, G.; SANTOS, S. Chemical Composition of Black-Watered Rivers in the Western Amazon Region (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 6, p. 1119–1126, 2009.

HUANG, M. et al. Investigating binding characteristics of cadmium and copper to DOM derived from compost and rice straw using EEM-PARAFAC combined with two-dimensional FTIR correlation analyses. **Journal of Hazardous Materials**, v. 344, p. 539–548, 2018.

HUDSON, N.; BAKER, A.; REYNOLDS, D. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters - a review. **River Research and Applications**, v. 23, p. 631–649, 2007.

HUGUET, A. et al. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary.

Organic Geochemistry, v. 40, n. 6, p. 706–719, 2009.

INMET. **Instituto Nacional de Meteorologia (INMET)**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=tempo2/mapasPrecipitacao>>. Acesso em: 20 ago. 2018.

JAFFÉ, R. et al. Global charcoal mobilization from soils via dissolution and riverine transport to the oceans. **Science**, v. 340, n. 6130, p. 345–347, 2013.

JARDIM, W. F. et al. Mercury Redox Chemistry in the Negro River Basin , Amazon : The Role of Organic Matter and Solar Light. **Aquatic Geochemistry**, v. 16, p. 267–278, 2010.

JOSEPH R. LAKOWICZ. **Principles of fluorescence spectroscopy**. Third ed. New York: Springer, 2006.

KALBITZ, K.; GEYER, W.; GEYER, S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances - A reflection of land use history in a fen area. **Biogeochemistry**, v. 47, n. 2, p. 219–238, 1999.

KIM, S. et al. Hydrogen-deficient molecules in natural riverine water samples - Evidence for the existence of black carbon in DOM. **Marine Chemistry**, v. 92, n. 1–4 SPEC. ISS., p. 225–234, 2004.

KÖGEL-KNABNER, I. ¹³C and ¹⁵N spectroscopy as a tool in soil organic matter studies. **Geoderma**, v. 80, p. 243–270, 1997.

KÖGEL-KNABNER, I.; RUMPEL, C. Advances in Molecular Approaches for Understanding Soil Organic Matter Composition, Origin, and Turnover: A Historical Overview. **Advances in Agronomy**, v. 149, p. 1–48, 2018.

KÜCHLER, I. L.; MIEKELEY, N.; FORSBERG, B. R. A Contribution to the Chemical Characterization of Rivers in the Rio Negro Basin , Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, n. 3, p. 286–292, 2000.

LAMMERS, K.; ARBUCKLE-KEIL, G.; DIGHTON, J. FT-IR study of the changes in carbohydrate chemistry of three New Jersey pine barrens leaf litters during simulated control burning. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 340–347, 2009.

LARSON, J. H. et al. Relationships Between Land Cover and Dissolved Organic Matter Change Along the River to Lake Transition. **Ecosystems**, v. 17, n. 8, p. 1413–1425, 2014.

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

LEENHEER, J. A.; CROUÉ, J.-P. Characterizing Dissolved Aquatic Matter. **Environmental Science and Technology**, n. 37, p. 18A–26A, 2003.

LEENHEER, J. A.; NANNY, M. A.; MCINTYRE, C. Terpenoids as major precursors of dissolved organic matter in landfill leachates, surface water, and groundwater. **Environmental Science and Technology**, v. 37, n. 11, p. 2323–2331, 2003.

LI, W. et al. Composition and copper binding properties of aquatic fulvic acids in. **Chemosphere**, v. 172, p. 496–504, 2017.

LI, X. et al. New insight into chemical changes of dissolved organic matter during anaerobic digestion of dewatered sewage sludge using EEM-PARAFAC and two-dimensional FTIR correlation spectroscopy. **Bioresource Technology**, v. 159, p. 412–420, 2014.

LINDELL, M. J.; GRANÉLI, W.; TRANVIK, L. J. Enhanced bacterial growth in response to photochemical transformation of dissolved organic matter. **Limnology and Oceanography**, v. 40, n. 1, p. 195–199, 1994.

MAIE, N. et al. Spatial, geomorphological, and seasonal variability of CDOM in estuaries of the Florida Coastal Everglades. **Hydrobiologia**, v. 569, n. 1, p. 135–150, 2006.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu Impacto Ambiental: Micronutrientes e Metais Pesados, Mitos, Mistificação, e Fatos**. São Paulo: ProduQuímica, 1994.

MALHI, Y. et al. The regional variation of aboveground live biomass in old-growth Amazonian forests. **Global Change Biology**, v. 12, n. 7, p. 1107–1138, 2006.

MARÍN-SPIOTTA, E. et al. Paradigm shifts in soil organic matter research affect interpretations of aquatic carbon cycling: Transcending disciplinary and ecosystem boundaries. **Biogeochemistry**, v. 117, n. 2–3, p. 279–297, 2014.

MARTÍN-TORRE, M. C. et al. Metal Release from Contaminated Estuarine Sediment under pH Changes in the Marine Environment. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 68, n. 3, p. 577–587, 2015.

MASIELLO, C. A.; LOUCHOUARN, P. Fire in the ocean. **Science**, v. 340, n. 6130, p. 287–288, 2013.

MATHERS, N. J. et al. ¹³C-NMR analysis of decomposing litter and fine roots in the semi-arid Mulga Lands of southern Queensland. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, n. 5, p. 993–1006, 2007.

MAYO, D. W.; MILLER, F. A.; HANNAH, R. W. **Course Notes on the Interpretation of Infrared and Raman Spectra**. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc, 2004.

MCKNIGHT, D. M. et al. 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.

MELO, C. A. et al. Solar radiation effect on the complexation capacity of aquatic humic substances with metals. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 10, p. 1871–1879, 2012.

MILLER, W. L.; MORAN, M. A. Interaction of photochemical and microbial processes in the degradation of refractory dissolved organic matter from a coastal marine environment. **Limnology and Oceanography**, v. 42, n. 6, p. 1317–1324, 1997.

MOGA, M. **The development of an LC-MS/MS method for the quantification of BPCAS**.

[s.l.] Universidade de Amsterdã, 2017.

MONTECCHIO, D. et al. Thermal analysis (TG-DTA) and drift spectroscopy applied to investigate the evolution of humic acids in forest soil at different vegetation stages. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 83, n. 2, p. 393–399, 2006.

MORAN, M. A.; ZEPP, R. G. Role of photoreactions in the formation of biologically compounds from dissolved organic matter. **Limnology and Oceanography**, v. 42, n. 6, 1997.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. **Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização, preparação, purificação**. São Paulo: E. Blucher, 2001.

MOUNIER, S. et al. Copper complexing properties of dissolved organic matter: PARAFAC treatment of fluorescence quenching. **Biogeochemistry**, v. 106, n. 1, p. 107–116, 2011.

MURPHY, K. R. et al. Distinguishing between terrestrial and autochthonous organic matter sources in marine environments using fluorescence spectroscopy. **Marine Chemistry**, v. 108, n. 1–2, p. 40–58, 2008.

NEBBIOSO, A.; PICCOLO, A. Molecular characterization of dissolved organic matter (DOM): a critical review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 37, n. 405, p. 109–124, 2013.

NODA, I. Generalized two-dimensional correlation method applicable to infrared, Raman, and other types of spectroscopy. **Applied Spectroscopy**, v. 47, p. 1329–1336, 1993.

NODA, I.; OZAKI, Y. **Two-Dimensional Correlation Spectroscopy - Applications in Vibrational and Optical Spectroscopy**. West Sussex, England: John Wiley & Sons, Inc, 2004.

OHNO, T. Fluorescence inner-filtering correction for determining the humification index of dissolved organic matter. **Environmental Science and Technology**, v. 36, n. 4, p. 742–746, 2002.

OLIVEIRA, L. C. DE et al. The influence of seasonality on the structural characteristics of aquatic humic substances extracted from Negro River (Amazon State) waters : Interactions with Hg (II). v. 18, n. 4, p. 860–868, 2007.

OLIVEIRA, L. C. et al. Influência das características físico-químicas dos solos no ciclo hidrobiogeoquímico do mercúrio na região do rio Aracá-AM. **Química Nova**, v. 34, n. 8, p. 1303–1308, 2011.

PACCHIANO, R. A. et al. Isolation and Spectral Characterization of Plant-Cuticle Polyesters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, n. 1, p. 78–83, 1993.

PARLANTI, E. et al. Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. **Organic Geochemistry**, v. 31, n. 12, p. 1765–1781, 2000.

PAUL, A. et al. Photogeneration of singlet oxygen by humic substances : comparison of humic substances of aquatic and terrestrial origin. **Photochemical & Photobiological Sciences**, n. 3, p. 273–280, 2004.

PAUL, A. et al. UV irradiation of natural organic matter (NOM): impact on organic carbon and bacteria. **Aquatic Sciences**, v. 74, p. 443–454, 2012.

PAVIA, D. L. et al. **Introduction to spectroscopy**. . Belmont, CA: Brooks/Cole, Cengage Learning, 2009.

PEREIRA, C. F.; PASQUINI, C. Espectroscopia de correlação bidimensional: Fundamentos, aplicações e perspectivas. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 143–148, 2006.

PEURAVUORI, J.; KOIVIKKO, R.; PIHLAJA, K. Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: Synchronous scanning fluorescence spectroscopy. **Water Research**, v. 36, n. 18, p. 4552–4562, 2002.

PEURAVUORI, J.; PIHLAJA, K. Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 337, n. 2, p. 133–149, 1997.

RIEDEL, T.; DITTMAR, T. A method detection limit for the analysis of natural organic matter via fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 16, p. 8376–8382, 2014.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. **Substâncias húmicas aquáticas: Interação com espécies metálicas**. [s.l.] Unesp, 2003.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A. **Introdução à Química Ambiental**. 2. ed. [s.l.] Artmed, 2009.

RODRÍGUEZ, F. J.; NÚÑEZ, L. A. Characterization of aquatic humic substances. **Water and Environment Journal**, v. 25, n. 2, p. 163–170, 2011.

ROMÃO, L. P. C. et al. 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. et al. Estudo da labilidade de Cu(II), Cd(II), Mn(II) E Ni(II) em substâncias húmicas aquáticas utilizando-se membranas celulósicas organomodificadas. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 59–65, 2007.

RYAN, D. K.; WEBER, J. H. Fluorescence Quenching Titration for Determination of Complexing Capacities and Stability Constants of Fulvic Acid. **Analytical Chemistry**, v. 54, n. 6, p. 986–990, 1982.

SAATCHI, S. S. et al. Distribution of aboveground live biomass in the Amazon basin. **Global Change Biology**, v. 13, p. 816–837, 2007.

SANTOS, A. et al. Competition between humic substances and alpha-amino acids by metal species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 3, p. 437–440, 2004.

SANTOS, C. H. et al. Structure of humic substances from some regions of the Amazon assessed coupling 3D fluorescence spectroscopy and CP/PARAFAC. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 6, p. 1136–1142, 2015.

SARGENTINI JUNIOR, E. et al. Substâncias húmicas aquáticas: Fracionamento molecular e caracterização sw rearranjos internos após complexação com íons metálicos. **Química Nova**, v. 24, n. 3, p. 339–344, 2001.

SCHMIDT, F. et al. Molecular characterization of dissolved organic matter in pore water of continental shelf sediments. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 73, n. 11, p. 3337–3358, 2009.

SCHNEIDER, M. P. W. et al. The benzene polycarboxylic acid (BPCA) pattern of wood pyrolyzed between 200°C and 1000°C. **Organic Geochemistry**, v. 41, n. 10, p. 1082–1088, 2010.

SENA, M. M.; TREVISAN, M. G.; POPPI, R. J. PARAFAC: Uma ferramenta quimiométrica para tratamento de dados multidimensionais. Aplicações na determinação direta de fármacos em plasma humano por espectrofluorimetria. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 910–920, 2005.

SGROI, M. et al. Use of fluorescence EEM to monitor the removal of emerging contaminants in full scale wastewater treatment plants. **Journal of Hazardous Materials**, v. 323, p. 367–376, 2017.

SHRESTHA, G.; TRAINA, S. J.; SWANSTON, C. W. Black carbon's properties and role in the environment: A comprehensive review. **Sustainability**, v. 2, n. 1, p. 294–320, 2010.

SLEIGHTER, R. L. et al. A coupled geochemical and biogeochemical approach to characterize the bioreactivity of dissolved organic matter from a headwater stream. **Journal of Geophysical Research: Biogeosciences**, p. 1520–1537, 2014.

SMITH, N. J. H. The Biophysical Setting. In: **Man, Fishes and the Amazon**. New York: Columbia University Press, 1981.

SOUTHWORTH, B. A. (BARBARA A.; VOELKER, B. M. Hydroxyl radical production via the photo-Fenton reaction in natural waters. **Environmental Science and Technology**, v. 37, n. 6, p. 1130–1136, 2002.

SPACCINI, R. et al. Transformation of organic matter from maize residues into labile and humic fractions of three European soils as revealed by ¹³C distribution and CPMA-S-NMR spectra. **European Journal of Soil Science**, v. 51, p. 583–594, 2000.

SPACCINI, R.; PICCOLO, A. Molecular Characterization of Compost at Increasing Stages of Maturity. 2. Thermochemolysis–GC-MS and ¹³C-CPMA-S-NMR Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 2303–2311, 2007.

SPENCER, R. G. M. et al. Temporal controls on dissolved organic matter and lignin biogeochemistry in a pristine tropical river, Democratic Republic of Congo. **Journal of Geophysical Research: Biogeosciences**, v. 115, n. 3, p. 1–12, 2010.

STEDMON, C. A.; BRO, R. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: A tutorial. **Limnology and Oceanography: Methods**, v. 6, n. 11, p. 572–579, 2008.

STEDMON, C. A.; MARKAGER, S.; BRO, R. Tracing dissolved organic matter in aquatic

environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. **Marine Chemistry**, v. 82, p. 239–254, 2003.

STRIEGL, R. G. et al. Carbon export and cycling by the Yukon, Tanana, and Porcupine rivers, Alaska, 2001–2005. **Water Resources Research**, v. 43, n. 2, p. 2001–2005, 2007.

TADINI, A. M. et al. Characterization of typical aquatic humic substances in areas of sugarcane cultivation in Brazil using tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis. **Science of the Total Environment**, v. 518–519, p. 201–208, 2015a.

TADINI, A. M. et al. Off-line TMAH-GC/MS and NMR characterization of humic substances extracted from river sediments of northwestern São Paulo under different soil uses. **Science of the Total Environment**, v. 506–507, p. 234–240, 2015b.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. (ED.). (ED.). **Manual de métodos de análise de solo**. 3. ed. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2017.

TFAILY, M. M. et al. Investigating dissolved organic matter decomposition in northern peatlands using complimentary analytical techniques. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 112, p. 116–129, 2013a.

TFAILY, M. M. et al. Investigating dissolved organic matter decomposition in northern peatlands using complimentary analytical techniques. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 112, p. 116–129, 2013b.

THURMAN, E. M. et al. Molecular size of aquatic humic substances. v. 4, p. 27–35, 1982.

TONIETTO, A. E. **Especiação Química de cobre e zinco nas águas do reservatório do Iraí: efeitos da matéria orgânica e interação com microalgas**. [s.l.] Universidade Federal do Paraná, 2006.

TWARDOWSKI, M. S. et al. Modeling the spectral shape of absorption by chromophoric dissolved organic matter. **Marine Chemistry**, v. 89, n. 1–4, p. 69–88, 2004.

USEPA. **Method 3005A: Acid Digestion of Waters for Total Recoverable or Dissolved Metals for Analysis by FLAA or ICP Spectroscopy**. Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3005a.pdf>>. Acesso em: 8 ago. 2015.

USEPA. **Method 3050B - Acid Digestion of sediments, sludge and soils**. Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/epa-3050b.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2015.

UYGUNER-DEMIREL, C. S.; BEKBOLET, M. Significance of analytical parameters for the understanding of natural organic matter in relation to photocatalytic oxidation. **Chemosphere**, v. 84, n. 8, p. 1009–1031, 2011.

VALLS, M.; DE LORENZO, V. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 327–338, 2002.

VANLOON, G. W.; DUFFY, S. J. Organic matter in water. In: **Environmental Chemistry: A global perspective**. 2 nd ed. [s.l.] Oxford University Press, 2005. p. 254–272.

WAGNER, S. et al. In-stream sources and links between particulate and dissolved black carbon following a wildfire. **Biogeochemistry**, v. 124, n. 1–3, p. 145–161, 2015.

WEISHAAR, J. L. et al. Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. **Environmental Science and Technology**, v. 37, n. 20, p. 4702–4708, 2003.

WESTERHOFF, P. et al. Relationships between the structure of natural organic matter and its reactivity towards molecular ozone and hydroxyl radicals. **Water Resources**, v. 33, n. 10, p. 2265–2276, 1999.

WESTERHOFF, P. et al. Electron pulse radiolysis determination of hydroxyl radical rate constants with Suwannee river fulvic acid and other dissolved organic matter isolates. **Environmental Science and Technology**, v. 41, n. 13, p. 4640–4646, 2007.

WETZEL, R. G.; HATCHER, P. G.; BIANCHI, T. S. Natural photolysis by ultraviolet irradiance of recalcitrant dissolved organic matter to simple substrates for rapid bacterial metabolism. **Limnology and Oceanography**, v. 40, n. 8, p. 1369–1380, 1995.

WIEDEMEIER, D. B.; BRODOWSKI, S.; WIESENBERG, G. L. B. Pyrogenic molecular markers: Linking PAH with BPCA analysis. **Chemosphere**, v. 119, p. 432–437, 2015.

WILSON, C. L. et al. Hydrogen peroxide cycling in surface geothermal waters of yellowstone national park. **Environmental Science and Technology**, v. 34, n. 13, p. 2655–2662, 2000.

WINTER, A. R. et al. Photodegradation of natural organic matter from diverse freshwater sources. **Aquatic Toxicology**, v. 84, p. 215–222, 2007.

XIAO, M. et al. Investigation of low-molecular weight organic acids and their spatiotemporal variation characteristics in Hongfeng Lake , China. v. 25, n. 2, p. 237–245, 2013.

ZSOLNAY, A. et al. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. **Chemosphere**, v. 38, n. 1, p. 45–50, 1999.

APÊNDICE A – Determinação de metais em água e sedimentos

Tabela 1A – Parâmetros instrumentais empregados nas determinação de metais nas águas superficiais por GFAAS.

Elemento	Corrente da lâmpada (mA)	Abertura de fenda (nm)	Comprimento de onda (nm)	Volume de injeção de modificador (µL)	Temperatura de atomização (°C)
Al	10,0	0,5	396,2	-	2500
Cd	5,0	0,5	228,8	6,0	1800
Cr	7,0	0,5	357,9	6,0	2600
Cu	4,0	0,5	327,4	12,0	2300
Fe	5,0	0,2	248,3	8,0	2300
Ni	10,0	0,2	232,0	8,0	2400
Pb	10,0	0,5	283,3	8,0	2100

Fonte: Elaborado pela autora

Tabela 2A – Parâmetros instrumentais empregados nas determinação de metais nos sedimentos por FAAS.

Elemento	Corrente da lâmpada (mA)	Abertura de fenda (nm)	Comprimento de onda (nm)	Oxidante
Al	10,0	0,5	309,3	Óxido nitroso
Cd*	-	-	-	-
Cr*	-	-	-	-
Cu	4,0	0,5	324,8	Ar comprimido
Fe	5,0	0,2	372,0	Ar comprimido
Ni	10,0	0,2	232,0	Ar comprimido
Pb	10,0	1,0	217,0	Ar comprimido
Zn	5,0	1,0	213,9	Ar comprimido

*Análise realizada empregando GFAAS

Fonte: Elaborado pela autora

]

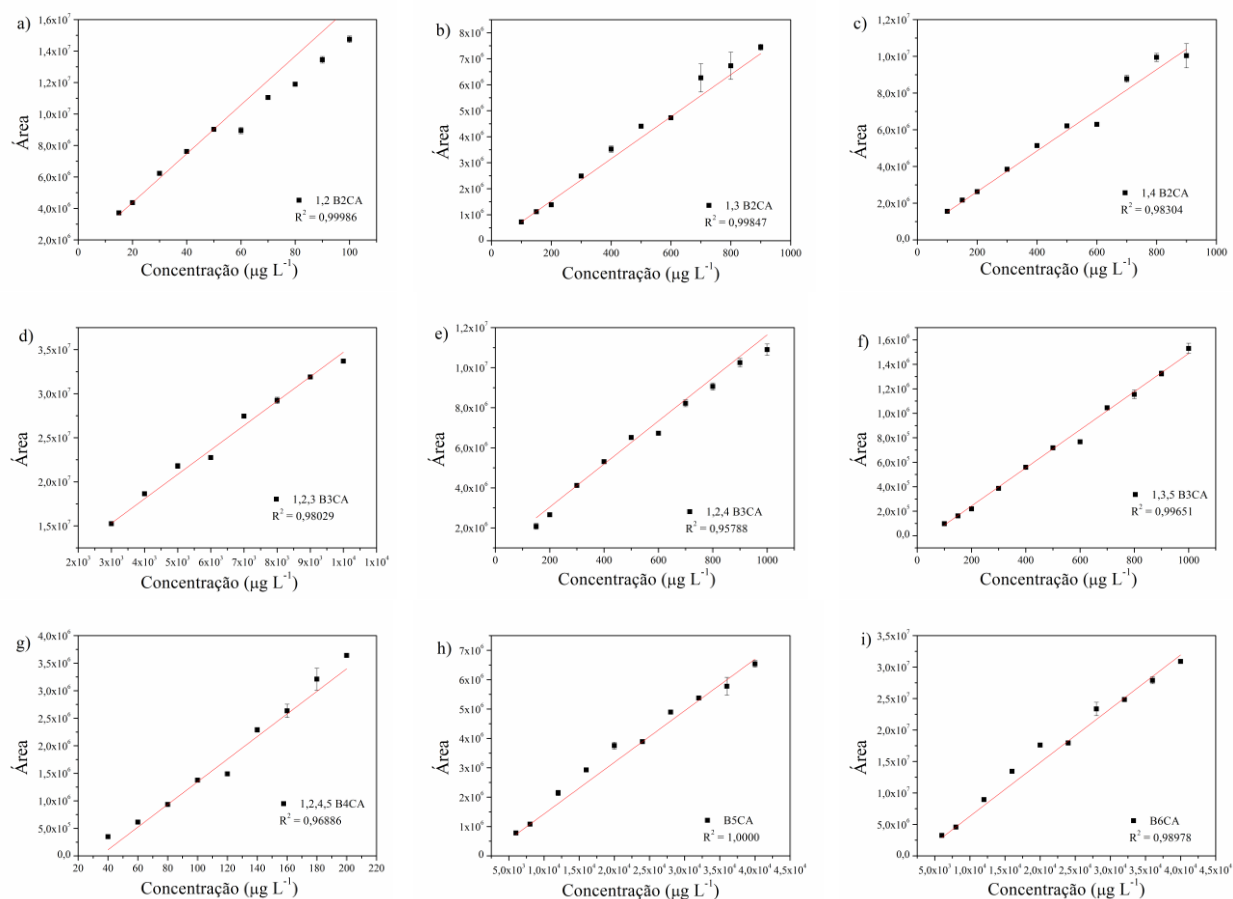
Tabela 3A - Valores determinados para concentrações dissolvidas e totais dos metais Cr, Ni, Cd, Cu, Pb, Fe e Al nas amostras de água superficial coletados na amostragem realizada em novembro/2015 (período de seca) e Julho/2016 (período chuva).

Amostras	Cr µg L ⁻¹		Ni µg L ⁻¹		Cd µg L ⁻¹		Cu µg L ⁻¹		Pb µg L ⁻¹		Fe mg L ⁻¹		Al mg L ⁻¹	
	MT	MD	MT	MD	MT	MD	MT	MD	MT	MD	MT	MD	MT	MD
Período de Seca														
Amazonas 1	7,67±1,41	<2,78	5,41±1,12	2,37±0,55	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	16,38±0,97	<5,66	5,72±0,66	0,63±0,20	11,13±1,70	2,06±0,17
Amazonas 2	Nd	Nd	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	3,10±0,12	1,80±0,19	5,15±0,06	1,65±0,16
Madeira	10,29±1,36	3,31±0,19	8,75±1,27	6,71±1,64	<0,25	<0,25	5,68±0,79	3,44±1,70	13,66±3,17	<5,66	8,42±0,88	5,01±0,58	14,88±3,96	2,56±0,63
Carú 1	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	0,16±0,02	0,16±0,02	2,97±0,40	0,30±0,01
Carú 2	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	0,12±0,00	0,02±0,01	0,63±0,20	0,04±0,00
Anebá	13,15±0,49	3,26±0,64	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	0,15±0,02	0,05±0,01	1,30±0,05	0,17±0,00
Urubu 1	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	0,51±0,04	0,22±0,01	1,36±0,18	0,23±0,03
Urubu 2	5,58±1,56	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	7,84±3,85	<5,66	0,44±0,03	0,22±0,01	1,22±0,17	0,21±0,01
Urubu 3	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	0,60±0,07	0,27±0,03	1,50±0,41	0,27±0,02
Urubu 4	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	17,59±6,20	<5,66	0,58±0,19	0,29±0,01	1,53±0,62	0,28±0,00
Uatumã	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	0,50±0,05	0,63±0,20	0,73±0,17	0,10±0,06
Período Chuvoso														
Amazonas 1	3,37±0,23	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	3,65±0,12	1,13±0,12	2,39±0,54	0,37±0,01
Amazonas 2	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	18,14±0,76	<2,46	<5,66	<5,66	3,10±0,07	0,95±0,12	1,68±0,04	0,47±0,09
Amazonas 3	6,70±0,53	<2,78	7,16±0,44	2,90±0,01	<0,25	<0,25	7,93±0,64	<2,46	<5,66	<5,66	6,81±0,04	3,05±0,02	7,70±0,34	1,67±0,04
Madeira	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	15,36±2,27	<2,46	<5,66	<5,66	3,89±0,03	1,30±0,02	1,36±0,40	0,35±0,04
Carú 1	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	4,39±1,40	<2,46	<5,66	<5,66	0,72±0,02	0,25±0,01	0,19±0,05	0,07±0,00
Carú 2	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	3,81±1,04	<2,46	<5,66	<5,66	0,25±0,01	0,09±0,01	0,27±0,11	0,05±0,00
Anebá	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	0,32±0,03	0,10±0,01	0,05±0,00	0,69±0,28
Urubu 1	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	5,30±0,49	<2,46	<5,66	<5,66	2,04±0,03	0,65±0,01	0,69±0,28	0,12±0,00
Urubu 2	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	1,99±0,03	0,65±0,01	0,72±0,08	0,13±0,00
Urubu 3	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	7,34±5,53	<2,46	<5,66	<5,66	1,96±0,02	0,66±0,02	0,66±0,17	0,13±0,01
Urubu 4	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	1,86±0,01	0,61±0,02	0,55±0,12	0,12±0,01
Arari	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	2,80±0,19	1,06±0,01	0,37±0,30	0,69±0,28
Paraconi	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	0,28±0,00	0,10±0,00	0,09±0,00	0,08±0,00
Iguarapé	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	0,17±0,00	0,06±0,01	0,18±0,00	0,06±0,00
Caiaué	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	<2,46	<2,46	<5,66	<5,66	0,17±0,00	0,06±0,01	0,18±0,00	0,06±0,00
Negro	<2,78	<2,78	<1,22	<1,22	<0,25	<0,25	7,60±1,17	<2,46	<5,66	<5,66	1,14±0,01	0,36±0,01	0,62±0,11	0,15±0,00
LQ	2,78 µg L ⁻¹		1,22 µg L ⁻¹		0,25 µg L ⁻¹		2,46 µg L ⁻¹		5,66µg L ⁻¹		0,011 mg L ⁻¹		0,002 mg L ⁻¹	
Valores máximos permitidos														
Resolução CONAMA	50,0 µg L ⁻¹		25,0 µg L ⁻¹		1,0 µg L-1		9,0 µg L ⁻¹		10,0 µg L ⁻¹		0,3 mg L ⁻¹		0,1 mg L ⁻¹	
357/2005 (rios classe 2)														

Fonte: Elaborado pela autora

APÊNDICE B – Análise dos ácidos de benzenonpolicarboxílicos

Figura 1B– Curvas analíticas típicas obtidas na quantificação dos BPCA: (a) 1,2 - B2CA; (b) 1,3 - B2CA; (c) 1,4 - B2CA; (d) 1,2,3 - B3CA; (e) 1,2,4 - B3CA; (f) 1,3,5 - B3CA; (g) 1,2,4,5 - B4CA; (h) B5CA; (i) B6CA.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 2B– Cromatogramas obtidos na identificação dos BPCA em algumas amostras de águas brancas (a) Amazonas 1 e (b) Amazonas 3; e de águas pretas (c) e (d) Carú.

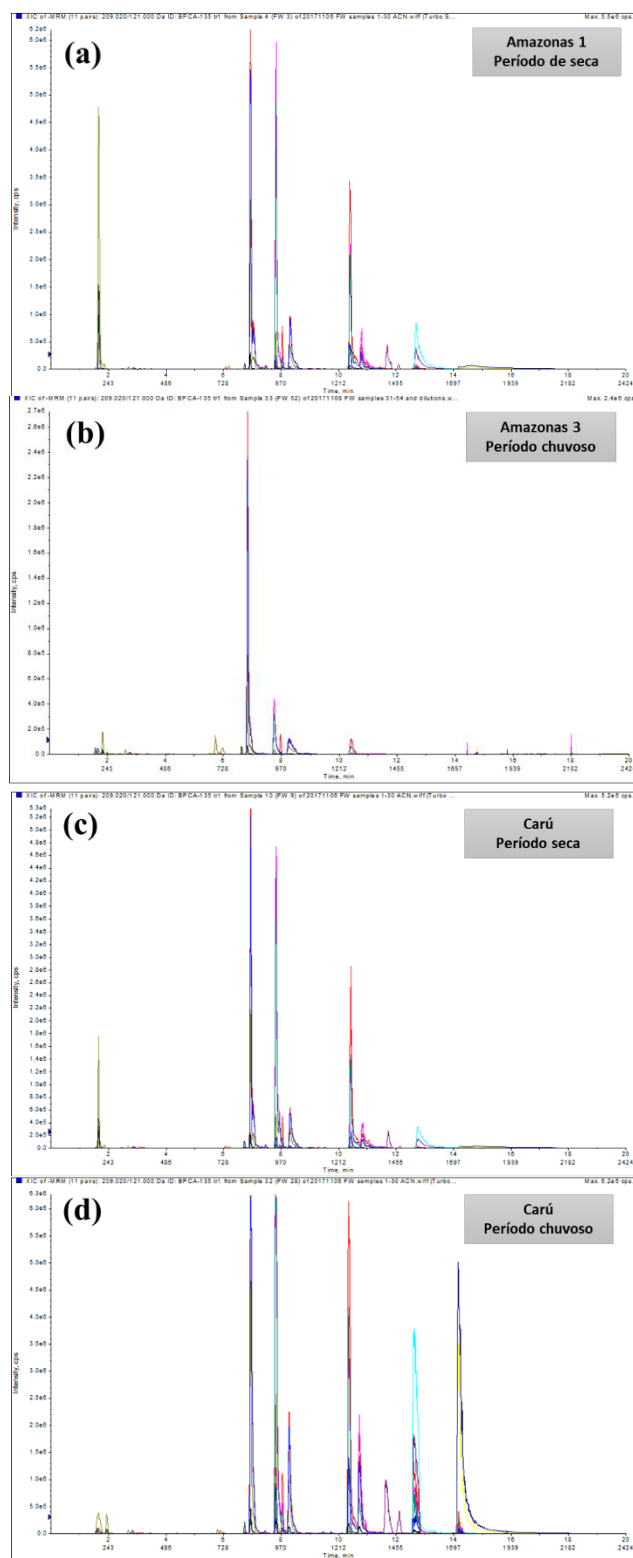


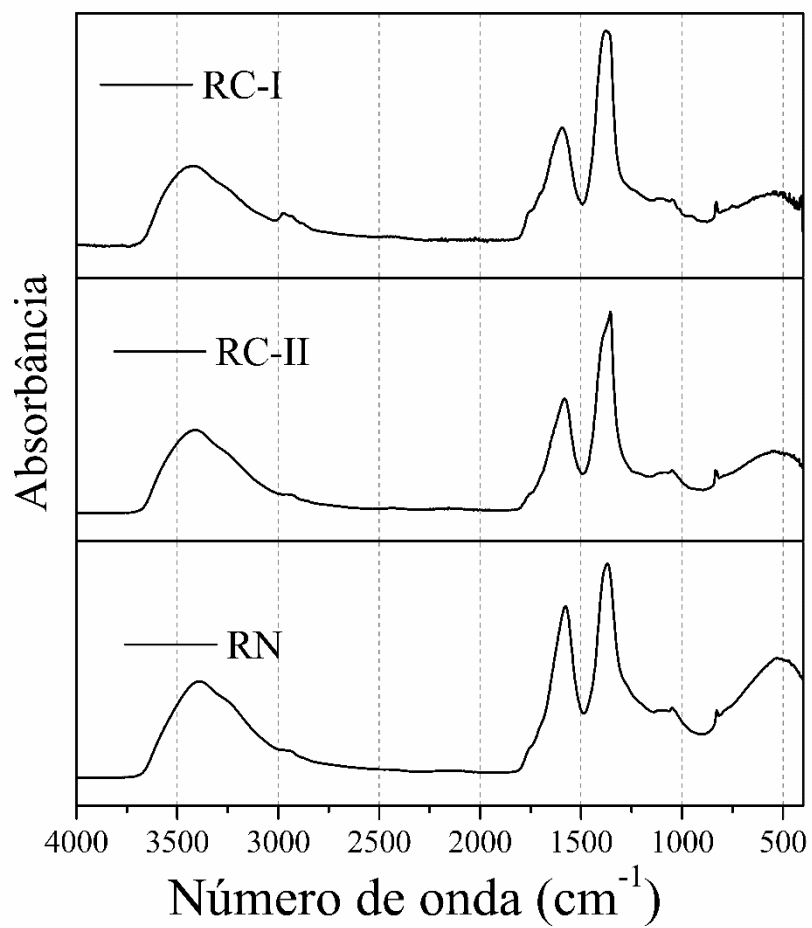
Tabela 1B – Distribuição percentual dos BPCA, rendimento do DBC e razão B6CA:B5CA para amostras de água superficial desse estudo.

Amostras	Coleta ^a / Classificação ^b	%B3CA	%B4CA	%B5CA	%B6CA	DBC ^c (%mol)	B6CA/ B5CA
Amazonas 1	1/AgB	7,6	2,7	7,8	82,0	1,54±0,70	10,55
Amazonas 1	2/AgB	3,4	0,7	*	95,8	1,17±0,10	-
Amazonas 2	1/AgB	7,9	14,2	52,9	25,0	1,07±0,03	0,47
Amazonas 2	2/AgB	6,3	1,5	*	92,1	0,46±0,13	-
Madeira 1	1/AgB	8,7	6,8	24,4	60,1	2,20±0,52	2,46
Madeira 1	2/AgB	10,0	6,2	2,4	81,3	2,80±0,60	34,47
Anebá	1/AgP	4,0	6,2	17,9	71,9	2,35±0,12	4,03
Anebá	2/AgP	8,3	9,9	30,8	51,0	2,08±0,12	1,65
Carú	1/AgP	4,1	3,5	6,1	86,2	1,45±0,11	14,06
Carú	2/AgP	7,5	8,3	37,0	47,2	1,78±0,49	1,28
Urubu 1	1/AgP	5,5	4,6	17,4	72,4	2,17±0,06	4,15
Urubu 1	2/AgP	5,7	4,1	22,3	67,9	1,23±0,26	3,05
Urubu 3	1/AgP	6,5	8,5	32,0	52,9	2,78±0,17	1,65
Urubu 3	2/AgP	9,2	10,2	22,2	58,4	0,87±0,77	2,64
Urubu 2	1/AgP	8,3	5,0	27,5	59,2	1,61±0,51	2,16
Urubu 4	1/AgP	4,0	0,8	*	95,2	0,40±0,08	-
Paraconi	2/AgP	8,2	10,2	22,1	59,4	2,27±0,20	2,68
Uatumã	1/AgP	8,9	3,2	19,6	68,3	1,43±0,46	3,48
Negro	2/AgP	5,4	1,1	9,3	84,2	0,58±0,04	9,01
Amazonas 3	2/AgB	4,4	1,2	*	94,4	0,81±0,07	-
Ig. Caiaué	2/AgP	2,8	0,1	*	97,1	1,52	-

^aPeríodo de amostragem (1): seca; (2): chuva^bClassificação corpos aquáticos (AgB): águas brancas; (AgP): águas pretas.^cRendimento DBC (% mol);

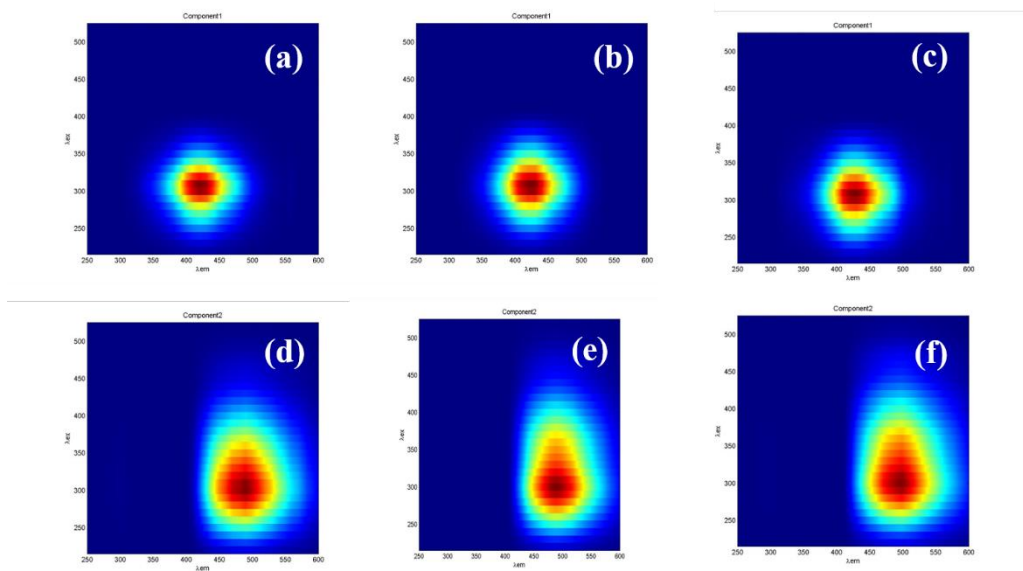
(*) Valores abaixo do Limite de detecção;

(-) Não determinado. Fonte: Elaborado pela autora.

APÊNDICE C – Caracterização das substâncias húmicas aquáticas**Figura 1C** – Espectros de Infravermelho obtidos no modo ATR para as SHA.

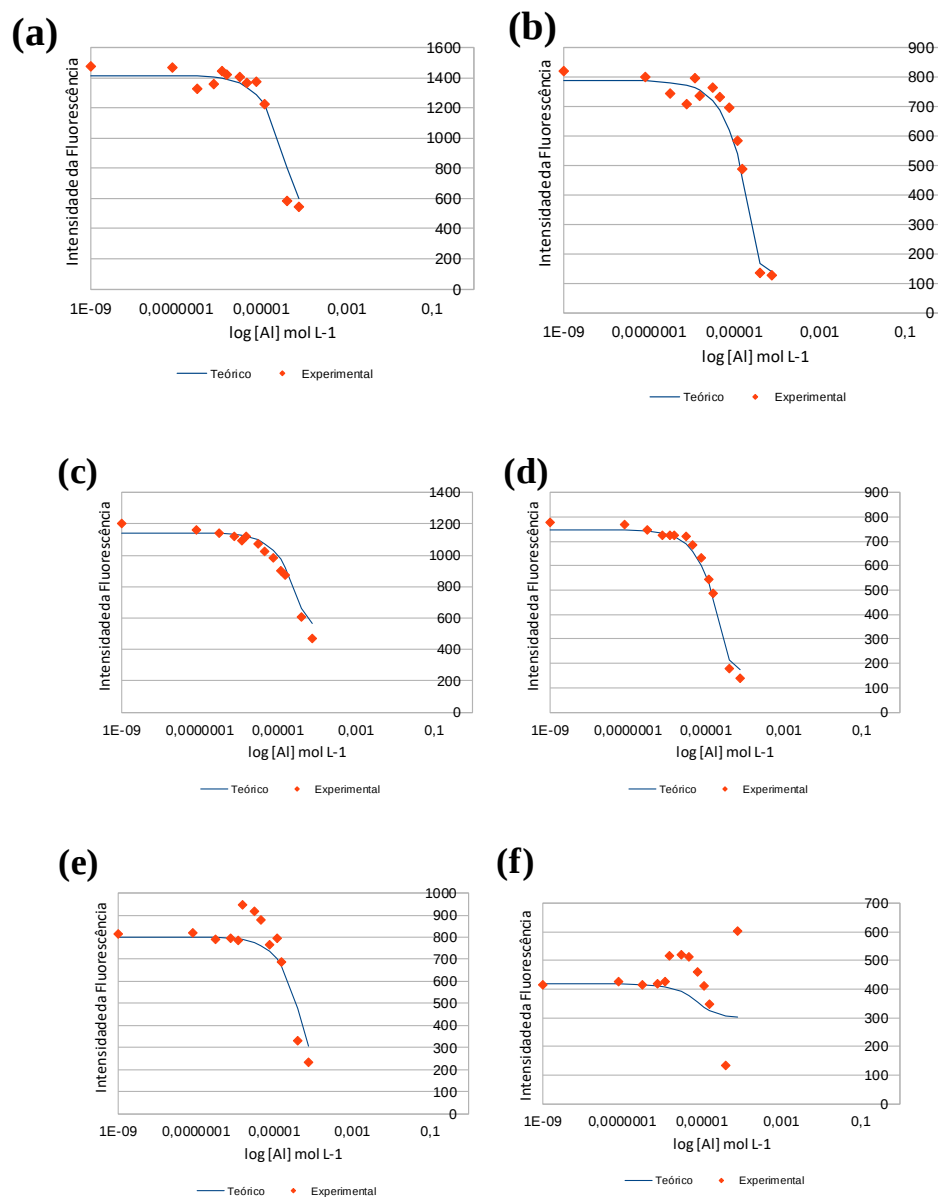
APÊNDICE D – Interação das substâncias húmicas aquáticas e íons metálicos

Figura 1D– Componentes identificados pelo tratamento CP/PARAFAC dos espectros de MEE dos ensaios de complexação das SHA com Cu(II), Fe(III) e Al(III) sendo o Componente 1 (C1): **(a)** SHA RC-I, **(b)** SHA RC-II, **(c)** SHA RN e para Componente 2 (C2): **(d)** SHA RC-I, **(e)** SHA RC-II e **(f)** SHA RN.



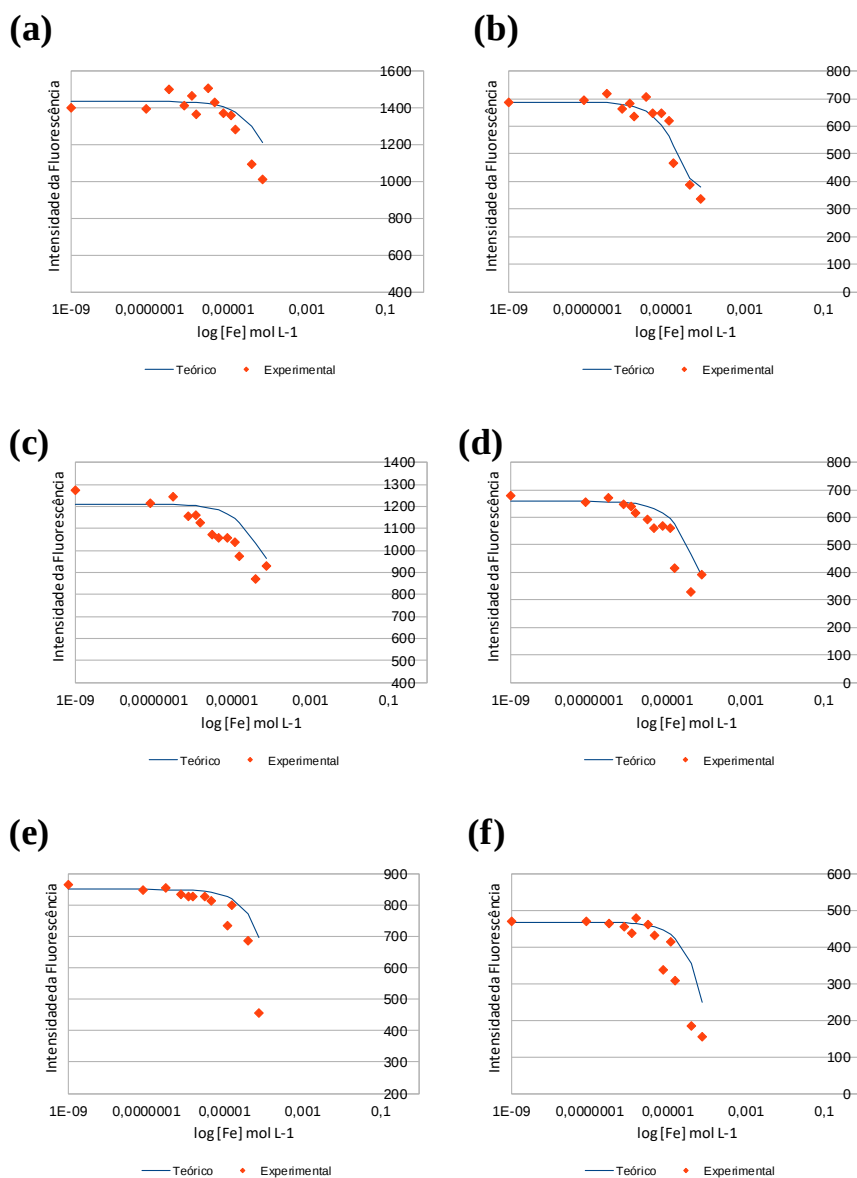
Fonte: Elaborado pela autora

Figura 2D – Curvas de titulação de supressão de fluorescência dos componentes com Al(III) nas amostras de **SHA RC-I** (a) C1 e (b) C2; **RC-II** (c) C1 e (d) C2 e **RN** (e) C1 e (f) C2.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 3D – Curvas de titulação de supressão de fluorescência dos componentes com Fe(III) nas amostras de **SHA RC-I** (a) C1 e (b) C2; **RC-II** (c) C1 e (d) C2 e **RN** (e) C1 e (f) C2.



Fonte: Elaborado pela autora

Tabela 1D- Intensidades de fluorescência máxima e parâmetros relativos à interação dos componentes C1 e C2 das SHA com Cu(II), Al(III) e Fe(III): bias, concentração de sítios ligantes (L_T), constante de estabilidade (K_{ML}) e capacidade de complexação (CC).

		C1						C2					
		$F_{\text{máx}}$	Bias	L_T ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	K_{ML} ($\times 10^6$)	$\log K_{ML}$	CC (mmol g^{-1} COT)	$F_{\text{máx}}$	Bias	L_T ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	K_{ML} ($\times 10^6$)	$\log K_{ML}$	CC (mmol g^{-1} COT)
Cobre	RC-I	1417	1,94	20	0,32	5,5	2,0	645	2,15	4	0,50	5,7	0,4
	RC-II	1144	1,06	5	0,40	5,6	0,5	776	1,43	4	0,50	5,7	0,4
	RN	805	0,78	15	0,63	5,8	1,5	456	3,47	7	1,0	6,0	0,7
Alumínio	RC-I	1474	1,07	25	0,79	5,9	2,5	821	0,91	15	0,15	6,2	1,5
	RC-II	1200	0,59	20	0,50	5,7	2,0	778	0,91	15	0,79	5,9	1,5
	RN	815	3,29	30	nd	5,9	3,0	416	nd	nd	nd	nd	nd
Ferro	RC-I	1403	0,70	30	0,03	4,5	3,0	688	0,48	13	0,31	5,5	1,3
	RC-II	1275	0,94	20	0,08	4,9	2,0	677	2,80	26	0,31	5,5	2,6
	RN	865	2,42	70	0,08	5,9	7,0	472	11,5	50	0,50	5,7	5,0

(nd) não determinado

Fonte: Elaborado pela autora