



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

Isabela Carreira Constantino

**Avaliação de compostos modelos visando propor um método de  
diferenciação de matéria orgânica lábil e recalcitrante em ambientes  
aquáticos**

São José do Rio Preto  
2015

Isabela Carreira Constantino

Avaliação de compostos modelos visando propor um método de diferenciação de matéria orgânica lábil e recalcitrante em ambientes aquáticos

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

Orientadora: Prof. Dra. Márcia C. Bisinoti  
Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo F. Lima

São José do Rio Preto  
2015

Constantino, Isabela Carreira.

Avaliação de compostos modelos visando propor um método de diferenciação de matéria orgânica lábil e recalcitrante em ambientes aquáticos / Isabela Carreira Constantino. -- São José do Rio Preto, 2015  
59 f. : il., tabs.

Orientador: Márcia C. Bisinoti

Coorientador: Marcelo F. Lima

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Química ambiental. 2. Matéria orgânica. 3. Águas superficiais.  
4. Peróxido de hidrogênio. I. Bisinoti, Márcia Cristina. II. Lima, Marcelo de Freitas. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. IV. Título.

CDU – 54:577.4

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE  
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Isabela Carreira Constantino

Avaliação de compostos modelos visando propor um método de diferenciação  
de matéria orgânica lábil e recalcitrante em ambientes aquáticos

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

Comissão Examinadora

---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Márcia Cristina Bisinoti  
UNESP – São José do Rio Preto  
Orientadora

---

Prof. Dr. Pedro S. Fadini  
Universidade Federal de São Carlos – São Carlos

---

Prof. Dr. Diogo P. Volanti  
UNESP – São José do Rio Preto

São José do Rio Preto, 11 de fevereiro de 2015

## 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 força e coragem nos momentos difíceis e alegria nos bons momentos.

À professora Dr<sup>a</sup>. Márcia C. Bisinoti dedico minha sincera admiração e agradeço pela oportunidade, por toda a dedicação, incentivo, ensinamentos e orientação desde a iniciação científica.

Ao professor Marcelo F. Lima agradeço pela co-orientação, paciência e valiosas contribuições na execução deste trabalho.

Ao professor Altair B. Moreira pela amizade e incentivo.

Ao Daniel e a minha família, pelo apoio e presença em minha vida, em especial aos meus pais, Clóvis e Lucineide e aos meus tios Claudinor e Odair que sempre me ajudaram a caminhar até este objetivo.

A todos os professores do Departamento de Química e Ciências Ambientais (DQCA) pelos ensinamentos. Aos colegas Claudinei e Eliani sempre dispostos a ajudar.

À Amanda M. Tadini pela amizade e auxílio desde o início deste trabalho.

As alunas Juliana e Luana pela ajuda neste trabalho.

Aos amigos do laboratório LECA: Camila, Rosana, Daniely, Juliana, Luana, Augusto, Daniela, Otávio, Lucas, Julia, Alana, Laís e Hortênsia agradeço pela amizade e bons momentos juntos.

A todos meus amigos, em especial a minhas amigas desde a graduação, Mariana B. Santos e Anna Carolina S. Alves por se fazerem presentes em minha vida, pela amizade e ótimos momentos juntas ao longo de todos estes anos e a Rosana, Daniely e Camila pelas conversas, conselhos e muitas risadas.

À Fapesp pelo auxílio financeiro concedido ao projeto.

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

## Resumo

O desenvolvimento de um método que possibilite diferenciar a fração da matéria orgânica lábil da recalcitrante é fundamental para a interpretação dos processos ambientais nos ambientes aquáticos. A proposta desse trabalho foi avaliar o emprego da cinética de consumo de  $H_2O_2$  na presença de compostos modelos de matéria orgânica a fim de propor um indicador de labilidade de matéria orgânica para águas superficiais. Para isto, foram realizados experimentos em microcosmos com água e diferentes concentrações de compostos modelos de matéria orgânica (ácido húmico, ácido fúlvico, lignina, piruvato de sódio e ácido ascórbico). Os microcosmos foram estudados em um sistema com reatores com camisa de resfriamento, os quais receberam quantidade conhecida de  $H_2O_2$  ( $7,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), tendo a temperatura e pH controlados durante todo o experimento. Um microcosmo controle foi montado contendo apenas água e  $H_2O_2$ . Em intervalos de tempos calculados de acordo com o comportamento cinético do decréscimo da concentração de  $H_2O_2$  realizou-se a quantificação deste empregando o método fotométrico com sulfato de *N,N*-dietil-*p*-feniletilenodiamina. Parâmetros como Carbono Orgânico Total e ferro (II) foram quantificados empregando Analisador de Carbono Orgânico Total e o método da ortofenantrolina, respectivamente, no início e no final dos experimentos. A caracterização das amostras foi realizada empregando as técnicas de Espectroscopia de Fluorescência Molecular e UV-Vis. Foram aplicados modelos matemáticos para determinação da ordem de reação e suas respectivas meias-vidas para a cinética de consumo de  $H_2O_2$ . A lignina e o ácido fúlvico foram os compostos que melhor se adequaram como compostos de matéria orgânica recalcitrante, pois nos estudos cinéticos, os resultados para as meias-vidas de  $H_2O_2$  tiveram seus valores próximos ao dos obtidos para os experimentos controle (75,3 e 69,2 horas), indicando que o  $H_2O_2$  não atuou na oxidação destes compostos. Para o experimento empregando piruvato de sódio, as meias-vidas do  $H_2O_2$  nos microcosmos que tiveram adição deste modelo de matéria orgânica, foram distintos do obtido para o experimento controle, tendo uma redução de 75,8; 86,7; 93,9 e 96,5%, respectivamente, para as concentrações de 0,5; 1,0; 3,0 e 5,0  $\text{mg L}^{-1}$  de piruvato de sódio. Este resultado confirma que o  $H_2O_2$  atuou na oxidação da matéria orgânica lábil. No experimento empregando ácido ascórbico foi observado a autoprodução de  $H_2O_2$  e, neste contexto, o mesmo não foi considerado como modelo de labilidade ou recalcitrância. Aplicando-se as cinéticas de consumo de  $H_2O_2$  em amostras de águas naturais foi possível determinar a presença de matéria orgânica lábil tanto no período de chuva quanto de estiagem, o que pode ser justificado, pois o período de estiagem foi menor que 30 dias, sendo esperada a presença de matéria orgânica lábil. Por fim, foi possível aplicando a função logarítmica obter uma curva analítica que possibilita um método para quantificação de matéria orgânica lábil. Conclui-se que a cinética de consumo de  $H_2O_2$  empregando piruvato de sódio como padrão pode ser empregada para determinar matéria orgânica lábil e o ácido húmico e a lignina para indicar a presença de matéria orgânica recalcitrante, sendo possível sua quantificação pela diferença entre a concentração de carbono orgânico total e de matéria orgânica lábil, em amostras ambientais.

**Palavras-chave:** matéria orgânica, lábil, recalcitrante, peróxido de hidrogênio.

## Abstract

The development of a method which allows to differentiate the labile fraction of recalcitrant organic matter is critical for the interpretation of environmental processes in aquatic environments. The purpose of this study was to evaluate the use of kinetics of consumption of  $\text{H}_2\text{O}_2$  in the presence of models compounds of organic matter in order to propose a lability indicator of organic matter for natural water. For this, experiments were conducted in microcosms with water and different concentrations of compounds models of organic matter (humic acid, fulvic acid, lignin, sodium pyruvate and ascorbic acid). The microcosms were studied in a system with reactors with cooling jacket, which received known amount of  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $7.1 \text{ mmol L}^{-1}$ ) and the temperature and pH controlled throughout the experiment. A microcosm control was assembled containing only water and  $\text{H}_2\text{O}_2$ . At intervals of time calculated in accordance with the kinetics of the decrease of concentration of  $\text{H}_2\text{O}_2$  quantification was performed using the photometric method of the sulphate of N,N -diethyl-p- phenylethylenediamine. Parameters such as total organic carbon and iron (II) were quantitated using Total Organic Carbon Analyzer and method of orthophenanthroline, respectively, at the beginning and end of the experiments. The characterization of the samples was carried out using the techniques of Molecular Spectroscopy Fluorescence and UV -Vis. Mathematical models were applied to determine the reaction order and their respective half-lives for the kinetics of consumption of  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Lignin and fulvic acid were the best compounds that are suited as compounds of recalcitrant organic matter , as in kinetic studies, the results for the half-lives of  $\text{H}_2\text{O}_2$  had their values close to those obtained for the control experiments (75.3 and 69.2 hours ), indicating that  $\text{H}_2\text{O}_2$  oxidation did not act on these compounds. For the experiment using sodium pyruvate , the  $\text{H}_2\text{O}_2$  half-lives in the microcosm that had addition of this organic matter model were different from that obtained for the control experiment , with a reduction of 75.8; 86.7; 93.9 and 96.5%, respectively, at the concentrations of 0.5 ; 1.0; 3.0 and 5.0  $\text{mg L}^{-1}$  sodium pyruvate . This result confirms that the  $\text{H}_2\text{O}_2$  served in the oxidation of labile organic matter. In the experiment, using ascorbic acid was observed to self-production of  $\text{H}_2\text{O}_2$  and in this context, it was not considered as recalcitrant or lability model. Applying the kinetics of consumption of  $\text{H}_2\text{O}_2$  in natural water samples it was possible to determine the presence of labile organic matter both in the rainy season as drought, which may be justified because the drought time was less than 30 days, expected the presence of labile organic matter. Finally, it was possible by applying the logarithmic model to obtain an analytical curve that enables a method for quantification of labile organic matter. It follows that the kinetics of consumption of  $\text{H}_2\text{O}_2$  using sodium pyruvate as standard can be used to determine labile organic matter and humic acid to indicate the presence of recalcitrant organic matter, and these could be quantified by the difference between the concentration of total organic carbon and labile organic matter , in environmental samples.

**Keywords:** organic matter, lability, recalcitrant, hydrogen peroxide.

## Lista de Figuras

Figura 1 – Compostos empregados como modelos de matéria orgânica: a) Piruvato de sódio; b) Lignina; c) Ácido ascórbico; d) Ácido fúlvico (modelo proposto por Buffle et al (1977)); e) Ácido húmico (modelo proposto por Schulten e Schnitzer (1992)).....	27
Figura 2 – Experimentos em microcosmos: reatores de vidro encamisados conectados ao banho termostatizado utilizados para os estudos de cinética de consumo de peróxido de hidrogênio.....	28
Figura 3 – a) Curva analítica típica obtida a) na quantificação de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , valores em triplicata; b) na quantificação de Fe (II); c) na quantificação de carbono total; d) na quantificação de carbono inorgânico total; e) na quantificação de Fe total. ....	30
Figura 4 – Variação da concentração de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> em função do tempo, na presença 1,0 mg L <sup>-1</sup> de ácido húmico, em triplicata (condições experimentais: temperatura: 19,0 °C; pH 5,8 - 7,0) .....	31
Figura 5 - Variação da concentração de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> em função do tempo, na presença de diferentes concentrações de lignina (Condições experimentais: temperatura: 19,0 °C; pH 5,8 - 7,4 (Controle); pH 5,8 - 7,8 (0,5 mg L <sup>-1</sup> COT); pH 5,8 - 7,2 (1,0 mg L <sup>-1</sup> COT); pH 5,8 - 7,6 (3,0 mg L <sup>-1</sup> COT) e pH 5,8 - 7,0 (5,0 mg L <sup>-1</sup> COT). ....	33
Figura 6 - Experimentos em microcosmos contendo lignina como modelo de matéria orgânica: variação da concentração de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> no tempo nas linearizações das leis de velocidade de reação para o microcosmo: a) Controle, b) 0,5 mg L <sup>-1</sup> , c) 1,0 mg L <sup>-1</sup> , d) 3,0 mg L <sup>-1</sup> e e) 5,0 mg L <sup>-1</sup> de COT em lignina.....	34
Figura 7 - Espectros de varredura UV-Vis das amostras no início e no final do experimentos em microcosmos contendo lignina nas concentrações 0,0; 0,5; 1,0; 3,0 e 5,0 mg L <sup>-1</sup> de COT.....	36
Figura 8 - Espectros de Fluorescência molecular obtidos de amostras dos microcosmos contendo 0,5 mg L <sup>-1</sup> , 3,0 mg L <sup>-1</sup> , 5,0 mg L <sup>-1</sup> COT de lignina no início e ao final do experimento. ....	36
Figura 9 - Variação da concentração de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> em função do tempo, na presença de diferentes concentrações de ácido fúlvico (Condições experimentais: temperatura: 19,0 °C; pH 6,21 -6,26 (Controle); pH 6,0 - 5,8 (0,5 mg L <sup>-1</sup> ); pH 5,9 - 5,7 (1,0 mg L <sup>-1</sup> ); pH 5,8 - 5,5 (3,0 mg L <sup>-1</sup> ) e pH 5,6 - 5,6 (5,0 mg L <sup>-1</sup> ). ....	37
Figura 10 - Experimentos em microcosmos contendo ácido fúlvico como modelo de matéria orgânica: variação da concentração de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> no tempo nas linearizações das leis de velocidade de reação para o microcosmo: a) Controle, b) 0,5 mg L <sup>-1</sup> , c) 1,0 mg L <sup>-1</sup> , d) 3,0 mg L <sup>-1</sup> e e) 5,0 mg L <sup>-1</sup> de COT em ácido fúlvico. ....	38
Figura 11 - Espectros de varredura UV-Vis das amostras dos microcosmos contendo ácido fúlvico no início e no final do experimento: 0,5 mg L <sup>-1</sup> ; 1,0 mg L <sup>-1</sup> ; 3,0 mg L <sup>-1</sup> e 5,0 mg L <sup>-1</sup> de COT.....	40
Figura 12 - Variação da concentração de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> em função do tempo, para a concentração inicial de 7,1 μmol L <sup>-1</sup> , na presença de diferentes concentrações de piruvato de sódio (Condições experimentais: temperatura: 19,0 °C; pH 6,6 - 6,2 (Controle); pH 6,8 - 7,0 (0,5 mg L <sup>-1</sup> ); pH 6,7 - 7,0 (1,0 mg L <sup>-1</sup> ); pH 6,7 - 7,1 (3,0 mg L <sup>-1</sup> ) e pH 6,8 - 7,0 (5,0 mg L <sup>-1</sup> )). ....	41



Figura 13 - Aplicação das equações de ordem de reação: ordem zero, ordem 1 e ordem 2 para os microcosmos contendo diferentes concentrações de piruvato de sódio: a) Controle; b) 0,5 mg L<sup>-1</sup>; c) 1,0 mg L<sup>-1</sup>; d) 3,0 mg L<sup>-1</sup> e e) 5,0 mg L<sup>-1</sup> de COT em piruvato de sódio..... 42

Figura 14 - Variação da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em função do tempo, para a concentração inicial de 7,1 μmol L<sup>-1</sup>, na presença de diferentes concentrações de ácido ascórbico (Condições experimentais: temperatura: 19,0 °C; pH 6,6 - 6,2 (Controle); pH 6,8 - 7,0 (0,5 mg L<sup>-1</sup>); pH 6,7 - 7,0 (1,0 mg L<sup>-1</sup>); pH 6,7 - 7,1 (3,0 mg L<sup>-1</sup>) e pH 6,8 - 7,0 (5,0 mg L<sup>-1</sup>)). ..... 44

Figura 15 - Aplicação das equações de ordem de reação: ordem zero, ordem 1 e ordem 2 para os microcosmos contendo diferentes concentrações de ácido ascórbico: a) Controle; b) 0,5 mg L<sup>-1</sup>; c) 1,0 mg L<sup>-1</sup>; d) 3,0 mg L<sup>-1</sup> e e) 5,0 mg L<sup>-1</sup> de COT em ácido ascórbico..... 45

Figura 16 - Variação da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no tempo, para experimentos em microcosmos variando a concentração inicial ácido ascórbico e sem adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. (Condições experimentais: temperatura: 19,0 °C; pH 6,1 - 6,3 (Controle); pH 6,9 - 6,3 (0,5 mg L<sup>-1</sup>); pH 5,5 - 6,3 (1,0 mg L<sup>-1</sup>); pH 5,7 - 6,3 (3,0 mg L<sup>-1</sup>) e pH 5,1 - 6,3 (5,0 mg L<sup>-1</sup>)). ..... 47

Figura 17 - Variação da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em função do tempo, para experimentos em microcosmos realizado com amostras de água do rio Preto, sem e com adição de ácido fúlvico e de piruvato de sódio como modelos de MO. (Condições experimentais: temperatura: 19,0 °C; pH 6,8 - 6,7 (Controle); pH 7,7- 7,3 (água rio Preto); pH 7,6 - 7,4 (água rio Preto + 0,5 mg L<sup>-1</sup> piruvato); pH 7,6 - 7,2 (água rio Preto + 5,0 mg L<sup>-1</sup> piruvato); pH 7,6 - 7,4 (água rio Preto + 0,5 mg L<sup>-1</sup> ác. fúlvico) e pH 7,6 - 7,3 (água rio Preto + 5,0 mg L<sup>-1</sup> ác. fúlvico)) ..... 48

Figura 18 - Aplicação das equações de ordem de reação: ordem zero, ordem 1 e ordem 2 para os microcosmos contendo água do rio Preto e diferentes concentrações de modelos de MO: a) apenas água rio Preto; b) adição de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de COT em piruvato de sódio; c) adição de 5,0 mg L<sup>-1</sup> de COT em piruvato de sódio; d) adição de 0,5 mg L<sup>-1</sup> COT em ácido fúlvico e e) adição de 5,0 mg L<sup>-1</sup> de COT em ácido fúlvico. .... 49

Figura 19 – Variação das meias-vidas do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em função da concentração de MOL: ajuste da equação 7 aos dados experimentais. .... 52

Figura 20 - Variação da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em função do tempo, para experimentos em microcosmos realizado com água superficial do rio Preto, em períodos de menor e maior pluviosidade. (Condições experimentais: período maior pluviosidade: pH 7,0; COT: 3,4 mg L<sup>-1</sup> e período de menor pluviosidade: pH 7,1; COT: 1,1 mg L<sup>-1</sup>). ..... 53

## Lista de Tabelas

Tabela 1 – Valores de $t_{1/2}$ obtidos da cinética de consumo de $H_2O_2$ para amostras do experimento em microcosmos contendo ácido húmico como modelo de matéria orgânica, na presença e ausência de luz. ....	32
Tabela 2 – Valores de $t_{1/2}$ , ordem de reação e $kH_2O_2$ obtidos da cinética de consumo de $H_2O_2$ para amostras do experimento em microcosmos contendo lignina como modelo de matéria orgânica. ....	35
Tabela 3 – Valores de $t_{1/2}$ , ordem de reação e $kH_2O_2$ obtidos da cinética de consumo de $H_2O_2$ para amostras do experimento em microcosmos contendo ácido fúlvico como modelo de matéria orgânica. ....	39
Tabela 4 – Valores de $t_{1/2}$ , ordem de reação e $kH_2O_2$ obtidos da cinética de consumo de $H_2O_2$ para amostras do experimento em microcosmos contendo piruvato de sódio como modelo de matéria orgânica. ....	43
Tabela 5 - Valores de $t_{1/2}$ , ordem de reação e $kH_2O_2$ obtidos da cinética de consumo de $H_2O_2$ para amostras do experimento em microcosmos contendo ácido ascórbico como modelo de matéria orgânica. ....	46
Tabela 6 - Valores de $t_{1/2}$ , ordem de reação e $kH_2O_2$ obtidos da cinética de consumo de $H_2O_2$ para amostras do experimento em microcosmos realizado com amostras de água do rio Preto e adição de ácido fúlvico e piruvato de sódio como modelos de matéria orgânica. ....	50
Tabela 7- Valores de $t_{1/2}$ , concentração de MOL obtidos da cinética de consumo de $H_2O_2$ para amostras do experimento em microcosmos realizado com amostras de água do rio Preto em período chuvoso e de seca. ....	53

## Lista de Abreviaturas

- CID: Carbono inorgânico dissolvido  
CIT: Carbono inorgânico total  
COD: Carbono orgânico dissolvido  
COT: Carbono orgânico total  
CT: Carbono total  
DBO: Demanda bioquímica de oxigênio  
DPD: *N,N*-dietil-*p*-feniletilenodiamina  
DQO: Demanda química de oxigênio  
ERO: Espécies reativas de oxigênio  
IHSS: Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas  
MEE: Matriz excitação-emissão  
MOA: Matéria orgânica aquagênica  
MOD: Matéria orgânica dissolvida  
MODC: Matéria orgânica dissolvida cromófora  
MOL: Matéria orgânica lábil  
MON: Matéria orgânica natural  
MOP: Matéria orgânica pedogênica  
MOR: Matéria orgânica recalcitrante  
*POD: enzima peroxidase*  
SH: Substâncias húmicas  
SHA: Substâncias húmicas aquáticas  
UV-B: Ultravioleta – B  
UV-Vis: Ultravioleta-Visível

## Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 MATÉRIA ORGÂNICA.....	16
2.2 PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NO AMBIENTE E COMPOSTOS MODELOS DE MATÉRIA ORGÂNICA.....	18
3 OBJETIVO.....	23
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4 PARTE EXPERIMENTAL.....	24
4.1 SOLUÇÕES EMPREGADAS.....	24
4.1.1 Solução Estoque de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 500,0 mg L <sup>-1</sup> .....	24
4.1.2 Solução de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25,0 mg L <sup>-1</sup> .....	24
4.1.3 Solução Tampão de KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,2 mol L <sup>-1</sup> (pH 6,0).....	24
4.1.4 Solução do Sulfato de N,N-dietil-p-feniletildenodiamina (DPD).....	24
4.1.5 Solução de Ácido Sulfúrico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) 0,05 mol L <sup>-1</sup> .....	24
4.1.6 Solução de Enzima Peroxidase.....	24
4.1.7 Soluções padrão dos compostos modelo de MO.....	25
4.2 QUANTIFICAÇÃO DE H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	25
4.3 QUANTIFICAÇÃO DE FERRO (II) E FERRO TOTAL.....	25
4.4 QUANTIFICAÇÃO DE CARBONO ORGÂNICO TOTAL (COT).....	25
4.5 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR.....	26
4.6 ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis.....	26
4.7 EXPERIMENTOS EM MICROCOSMOS PARA O ESTUDO DE LABILIDADE E RECALCITRÂNCIA DA MATÉRIA ORGÂNICA.....	26
4.8 CÁLCULO PARA DETERMINAÇÃO DA ORDEM DA REAÇÃO.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1 QUANTIFICAÇÃO DE H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , FERRO (II), FERRO TOTAL E CARBONO ORGÂNICO TOTAL.....	30
5.2 AVALIAÇÃO DO EMPREGO DA CINÉTICA DE CONSUMO DE H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> NA PRESENÇA DE COMPOSTOS MODELO DE MATÉRIA ORGÂNICA.....	31
5.2.1 Lignina: modelo de matéria orgânica recalcitrante.....	32
5.2.2 Ácido Fúlvico: modelo de matéria orgânica recalcitrante.....	36

5.2.3 Avaliação do emprego da cinética de consumo de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> na presença de piruvato de sódio.....	40
5.2.4 Avaliação do emprego da cinética de consumo de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> na presença ácido ascórbico.....	43
5.3 CINÉTICA DE CONSUMO DE H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> EM AMOSTRAS DE ÁGUA NATURAL E EMPREGO DOS COMPOSTOS MODELOS DE MATÉRIA ORGÂNICA .....	47
5.4 CONCLUSÃO .....	54
Referências Bibliográficas.....	56

## 1 INTRODUÇÃO

Nos estudos ambientais a compreensão do ciclo da matéria orgânica natural (MON) no ambiente aquático é de grande importância. A MON é um componente amplamente distribuído nos diversos compartimentos ambientais, apresentando características bastante diversificadas e exercendo importante influência nos diversos processos deste ambiente. Já é bem conhecido que ela atua em reações de complexação, seja de espécies inorgânicas ou orgânicas, nos ciclos redox, na ciclagem de carbono, nas reações fotoquímicas e microbiológicas (LEENHEER; CROUÉ, 2003; MELO et al., 2012; SCHEFFER; SODRÉ; GRASSI, 2007).

A MON presente em lagos, rios, solos e sedimentos é resultado de vários estágios de degradação química e microbiológica de resíduos vegetais e animais (OLIVEIRA, 2007; ROCHA; ROSA, 2003; ROMÃO, 2003). Mudanças na composição do solo e no ciclo da água, causados por fontes antrópicas ou naturais, podem interferir na quantidade e natureza química da matéria orgânica presente nesses ecossistemas (AZEVEDO; NOZAKI, 2008).

A matéria orgânica em função da origem pode ser denominada de matéria orgânica pedogênica (MOP) ou alóctone, ou seja, aquela oriunda do ambiente terrestre, composta de resíduos de plantas superiores decompostos por micro-organismo, a qual é transportada pelo escoamento superficial, ou ainda, de matéria orgânica aquagênica (MOA), decorrente da decomposição dos plânctons e produtos excretados por bactérias, sendo então denominada de autóctone (FILLELA, 2009; LEENHEER; CROUÉ, 2003; POMPÊO, 1999; ROCHA; ROSA; CARDOSO, 2009; VANLOON; DUFFY, 2005).

A caracterização da matéria orgânica tem sido feita de forma indireta por meio da quantificação da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) ou da demanda química de oxigênio (DQO), ou ainda diretamente por meio da determinação do carbono orgânico total (COT) empregando um Analisador de Carbono Orgânico Total (LEENHEER; CROUÉ, 2003). Esta informação é importante, porém não possibilita a distinção do tipo e composição da matéria orgânica presente no corpo aquático.

A informação mais detalhada que se consegue obter é por meio da extração e caracterização das substâncias húmicas aquáticas (SHA) extraídas de águas naturais. Por meio de diversas técnicas, tais como a espectrofotometria de UV-Vis, Infravermelho com Transformada de Fourier, Ressonância Magnética Nuclear, Fluorescência, dentre outras é possível identificar a presença de grupos químicos específicos presentes na SHA sem fracionamento ou nas diversas frações obtidas deste material. A caracterização possibilita

inferir sobre a capacidade de complexação com poluentes e outras interações no ambiente, bem como sua reatividade. (ROCHA, et al., 2000; RODRÍGUEZ; NÚÑEZ, 2011).

Jardim e colaboradores (2010) realizaram estudos da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em amostras de águas superficiais coletadas nos rios Negro e Branco na Bacia Amazônica, nos períodos de seca e cheia. Neste estudo foi observado que no período de cheia o tempo de meia-vida de consumo de  $H_2O_2$  era menor do que o obtido para o grupo controle (representava a decomposição do  $H_2O_2$ ). Esse comportamento foi atribuído a existência de uma fração da matéria orgânica recém-aportada no corpo aquático, e que deveria ser mais facilmente oxidada, mais lábil. No período de seca a meia-vida do  $H_2O_2$  era maior e próximo ao valor encontrado para o grupo controle, sendo atribuído provavelmente a uma fração recalcitrante. Neste contexto o desenvolvimento de um método analítico capaz de distinguir a denominada fração orgânica lábil da recalcitrante em ambientes aquáticos é de grande relevância.

Mattos et al. (2003) expuseram que o  $H_2O_2$  foto-gerado no ambiente aquático na presença de substâncias húmicas, seria consumido durante a transformação da matéria orgânica. Esse fenômeno ocorreria naturalmente nesse ambiente tendo em vista que a matéria orgânica dissolvida (MOD) presente em rios e oceanos é rica em grupos cromóforos que possuem a habilidade de absorver a energia da radiação solar, gerando espécies oxidantes, como por exemplo, o  $H_2O_2$  (O'SULLIVAN et al., 2005; ZHANG; VECCHIO; BLOUGH, 2012).

Neste contexto, este trabalho propõe estudar o comportamento cinético do  $H_2O_2$  para propor um método que possibilite distinguir a fração de MOL da fração recalcitrante, empregando compostos modelos de matéria orgânica.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 MATÉRIA ORGÂNICA

A MON está presente em diversos compartimentos: solo, água e sedimento e atua de maneira importante nos processos químicos e biológicos destes ambientes (CORY; MCKNIGHT, 2005; SCHEFFER; SODRÉ; GRASSI, 2007; VANLOON; DUFFY, 2005). Ela é composta por uma mistura complexa de moléculas orgânicas e suas características, como a reatividade são dependentes de sua origem e dos processos de degradação sofridos (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 e a outra a síntese realizada pelos micro-organismos na própria coluna d'água (DOLGONOSOV; GUBERNATOROVA, 2010; ROCHA; ROSA; CARDOSO, 2009; WETZEL; HATCHER; BIANCHI, 1995). Desta maneira, pode-se classificar a MON quanto sua origem, como matéria orgânica pedogênica (MOP) ou alóctone, quando se dá no ambiente terrestre, e como matéria orgânica aquagênica (MOA) ou autóctone, aquela oriunda do ambiente aquático (FILELLA, 2009; UYGUNER-DEMIREL; BEKBOLET, 2011; WINTER, et al. 2007).

A MON presente no ambiente aquático consome o oxigênio dissolvido em reações de oxidação (VANLOON; DUFFY, 2005). Nos processos fotoquímicos, a radiação solar principalmente do tipo UV-B, é responsável pela fotodegradação do carbono orgânico dissolvido (COD), que é degradado a compostos orgânicos de menores massas moleculares e aromaticidades que seu material precursor, gerando compostos como acetato, lactato, citrato, piruvato, oxalato, dentre outros (CATALÁN, et al. 2013; MORAN; ZEPP, 1997; PAUL, et al., 2004; XIAO et al., 2013).

O processo de fotodegradação do COD é fundamental ao equilíbrio ecológico no ambiente aquático, pois proporciona maior disponibilidade de energia, ou carbono orgânico como substratos para a biota, como bactérias e algas. Além dos compostos carbonílicos fotoproduzidos são gerados compostos inorgânicos como dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), monóxido de carbono (CO) e outras moléculas de carbono inorgânico dissolvido (CID). Desta forma, a fotodegradação da MON é importante parte da ciclagem do carbono. (LINDELL; GRANÉLI; TRANVIK, 1995; MORAN; ZEPP, 1997; PAUL, et al. 2012; NEBBIOSO; PICCOLO, 2013).

Ainda nos processos fotoquímicos, o material orgânico dissolvido contendo grupos cromóforos que proporcionam a absorção de radiação solar, e quando na presença de



oxigênio, por meio de reações de transferência de elétrons geram espécies reativas de oxigênio (ERO), como radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), e em reações sequenciais podem gerar o radical hidroperoxila ( $HO_2^{\cdot}$ ) e o  $H_2O_2$  (SOUTHWORTH; VOELKER, 2003; WILSON, et al. 2000). Estas ERO atuam nos ciclos biogeoquímicos na oxidação da própria MON e nas reações redox de espécies metálicas, por exemplo na reação de Fenton (WILSON et al. 2000).

A MON aparece como importante componente na especiação e transporte de metais, atuando na complexação destas espécies. Tem sido apontado que a MON de origem alóctone é a principal responsável nesse processo, devido a presença de uma maior porção de anéis aromáticos em sua composição (POMPÊO, 1999; ROSA et al., 2007; ROCHA; ROSA; CARDOSO, 2009; WINTER et al. 2007).

Alguns autores (FILELLA, 2009; UYGUNER-DEMIREL; BEKBOLET, 2011) têm apresentado uma segunda diferenciação da matéria orgânica em duas frações, uma lábil e outra refratária ou recalcitrante em termos microbiológicos. 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. São exemplos destes compostos de baixas massas moleculares os ácidos láctico, acético, pirúvico, oxálico, dentre outros. Define-se como matéria orgânica recalcitrante (MOR) a matéria orgânica resistente a degradação, ou seja, que permanecendo inalterada por longo tempo no ambiente, tende a se depositar em função do processo de degradação fotoquímica, podendo seu tempo de residência no ambiente alcançar vários anos (ABATE, 1998; DOLGONOSOV, GUBERNATOROVA, 2010; FILELLA, 2009; LINDELL; GRANÉLI; TRANVIK, 1995; MILLER et al., 1997; UYGUNER-DEMIREL; BEKBOLET, 2011; XIAO et al., 2013).

Esta diferença de labilidade é decorrente das diversas fontes e dos processos de formação e aporte de compostos orgânicos no ambiente aquático, da ação de organismos, do escoamento superficial dos solos e também de características como estrutura e tamanho molecular. Desta maneira, existem vários compostos orgânicos presentes no ambiente, os quais possuem diversos graus de reatividade frente à capacidade de degradação biológica e oxidação química neste ambiente. Podem-se citar compostos orgânicos de baixas massas moleculares, compostos aromáticos, proteínas, ácidos nucleicos, polissacarídeos, lignina e compostos aromáticos policondensados (DOLGONOSOV, GUBERNATOROVA, 2010)

Estima-se que 20% da MON é constituída por compostos orgânicos de estrutura química definida, como aminoácidos e carboidratos, sendo os 80% restantes representados por compostos de estrutura química indefinida e com caráter refratário, ou seja, apresentam resistência a degradação e maior tempo de residência no ambiente, como é o caso dos ácidos

húmico e fúlvico e da humina. Neste contexto, as substâncias húmicas (SH) são as maiores representantes da MON no planeta e com características refratárias, estando distribuídas nos ambientes aquático e terrestre. (ROCHA; ROSA; CARDOSO, 2009; ROSA et al., 2007;).

No ambiente aquático as Substâncias Húmicas Aquáticas (SHA) são conhecidas pela sua capacidade de complexar outras espécies químicas, interferindo no transporte, labilidade e biodisponibilidade destas espécies (ROSA et al, 2010; TONIETTO, 2006;). Estas substâncias também exibem efeitos de adsorção e solubilização sobre compostos orgânicos antrópicos, como pesticidas e herbicidas, dentre outros.

O papel da MON no ambiente aquático seja na sua interação com a biota ou nas reações químicas é uma grande área de estudo. Para a biota, a MOD influencia o fornecimento de energia, ou carbono orgânico para bactérias e algas, e no ambiente interfere na formação de complexos orgânicos como elementos traços, interferindo na sua disponibilidade, toxicidade, além da absorção de luz (POMPÊO, 1999; VANLOON; DUFFY, 2005).

## 2.2 PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NO AMBIENTE E COMPOSTOS MODELOS DE MATÉRIA ORGÂNICA

É bem conhecido que o oxigênio dissolvido é o composto oxidante mais comumente encontrado nos ambientes aquáticos (STUMM; MORGAN, 1995). No entanto, o  $H_2O_2$  aparece como espécie transiente no ambiente aquático, com elevado poder de oxidação, com potencial padrão de 1,77 V, menor que o do flúor (3,0 V) e do radical hidroxila (2,8 V), sendo que esta última espécie pode ser proveniente da decomposição do  $H_2O_2$  (MATTOS et al, 2003).

Na hidrosfera, o  $H_2O_2$  está presente nos diferentes compartimentos aquáticos exercendo importante papel nos ciclos redox que envolvem  $O_2$  e os sistemas biológicos (PETASNE; ZIKA, 1997). O  $H_2O_2$  destaca-se como espécie transiente neste ambiente, sendo um importante fator nos ciclos redox de metais como Fe, Cu, Mn e também na degradação de compostos orgânicos (GARG; ROSE; WAITE, 2011). Esta característica faz com que o  $H_2O_2$ , bem como outras espécies reativas de oxigênio exerçam importante papel na transformação de MOL e recalcitrante (MILLER; KESTER, 1994; ZEPP; FAUST; HOIGNÉ, 1992;).

No ambiente aquático, na presença de um ambiente rico em oxigênio e com transferência de elétrons é possível à formação de  $H_2O_2$ . Em águas superficiais o  $H_2O_2$  é encontrado na faixa de 10 a 100  $nmol L^{-1}$  e tem tempo de meia-vida variando de algumas até 100 horas. Neste ambiente o  $H_2O_2$  pode ter origem nos eventos de deposição seca e úmida; ser formado pelas algas ou nas reações fotoquímicas envolvendo a matéria orgânica dissolvida

(MOD), sendo estas duas primeiras vias as menos significantes (CLARK; BRUYN; JONES, 2014). O mecanismo para a formação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na deposição atmosférica úmida ocorre por meio da reação entre radicais hidroperoxilas (HO<sub>2</sub><sup>•</sup>) (GUNZ; HOFFMANN, 1990; PEÑA et al., 2001).

O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> também exerce efeitos para os sistemas biológicos presentes no ambiente aquático. Uma das principais observações está associada ao seu caráter oxidante, que quando em excesso causa estresse oxidativo, uma vez que as enzimas peroxidases e catalases não são capazes de promover a eliminação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Estudo realizado por Pestane e Zika (1997) evidenciou o papel da biota como sumidouro do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, com amostras obtidas em mar aberto e zona costeira. As meias-vidas encontradas para o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e amostras coletadas em mar aberto e zona costeira foram de 12 a 120 horas (amostras sem filtração, 1,24 a 2,42 x 10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), sendo que a maior meia-vida foi observada para amostras coletadas que possuíam características oligotróficas (baixas concentrações de nutrientes e algas).

As reações fotoquímicas destacam-se como a via de formação mais significativa desta espécie oxidante. Estudos mostraram que esta produção está diretamente ligada à presença de MOD presente no ambiente aquático, em que a fração denominada matéria orgânica dissolvida cromófora (MODC) é capaz de absorver energia proveniente da radiação solar, produzindo espécies transientes reativas, por meio da transferência de energia (Reações 1 e 2) (CLARK; BRUYN; JONES, 2014; COOPER et al., 1988; GAO; ZEPP, 1998; GRASSI, 1994; MATTOS et al., 2003; RUSAK, et al., 2011; SCULLY, et al., 1996).

A absorção de radiação ultravioleta pela MODC forma o íon superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) e seu ácido conjugado hidroperoxila (HO<sub>2</sub><sup>•</sup>). O HO<sub>2</sub><sup>•</sup> pode sofrer reação de desproporcionamento (Reação 6) formando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Reações 3 a 5) (PETASNE; ZIKA, 1997; O'SULLIVAN, et al., 2005; SCULLY, et al., 1996; RUSAK, et al., 2011). Dentre estas espécies reativas está o radical hidroxila (•OH) e o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que por sua vez podem exercer importantes papéis no destino de compostos orgânicos e nas reações redox neste ambiente, incluindo a transformação de MOL em MOR (GAO; ZEPP, 1998; ZEPP; FAUST; HOIGNÉ, 1992).



A decomposição da matéria orgânica pode ser mediada também pelo radical hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ) formado na reação de foto-Fenton, na presença do par redox Fe (II)/Fe (III), em águas de caráter ácido. Nestas a presença de MODC promove a formação fotoquímica do  $\text{H}_2\text{O}_2$ , e também participa na redução dos complexos MOD-Fe(III) para MOD-Fe(II) (Reações 6 e 7) (SOUTHWORTH; VOELKER, 2003; WHITE; VAUGHAN; ZEPP, 2003). Ao lado da reação de foto-Fenton outra via de formação de  $\cdot\text{OH}$  no ambiente aquático é a fotólise do material orgânico cromóforo (MODC) (Reação 8) (WHITE; VAUGHAN; ZEPP, 2003).



Desta forma, pode-se resumir que o  $\text{H}_2\text{O}_2$ , bem como  $\cdot\text{OH}$  são espécies importantes no controle e destino dos compostos orgânicos presentes na coluna d'água. A perda do material orgânico cromóforo que é oxidado por estas espécies está diretamente relacionada com a diminuição dos coeficientes de absorção e de fluorescência de águas naturais (GAO; ZEPP, 1998). Estudo realizado por O'Sullivan e seus colaboradores (2005) permitiu observar uma relação linear entre a produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e a diminuição da absorbância pela MOD presente em água doce, o mesmo não foi relatado para águas marinhas, pois supõe-se que o ocorrido refere-se às baixas concentrações de carbono de origem alóctone.

Estudos demonstraram que a incidência da radiação solar sobre a MOD promove a degradação de moléculas de média massa molecular a pequenos foto-produtos. A mineralização fotoquímica direta da MOD forma compostos inorgânicos, como monóxido de carbono ou carbono inorgânico dissolvido (CID). Ou ainda, moléculas orgânicas de menor massa molecular em relação à MOD da qual foram originadas, e alguns exemplos destas moléculas são: o formaldeído, o ácido acético, o acetaldeído, a acetona, o ácido cítrico, entre outros, e estas parecem ser mais disponíveis, e portanto mais reativas para serem assimiladas pela atividade dos micro-organismos, como as bactérias presentes no ambiente aquático (LINDELL; GRANÉLI; TRANVIK, 1995; MILLER et al., 1997; MORAN; ZEPP, 1997).

Estudos iniciais realizados por Jardim et al. (2010) e Bisinoti (2005) apontaram a hipótese de que a transformação da denominada MOL em uma fração mais recalcitrante pode ser mediada via processo fotoquímico no ambiente aquático. Neste processo o  $\text{H}_2\text{O}_2$  fotogerado no ambiente aquático tem o poder de oxidar a MOL tornando-a recalcitrante.

A cinética de consumo de  $H_2O_2$  parece ser uma interessante alternativa para inferir a sobre a presença de MOL, que durante o período de cheias (incorporação de matéria orgânica nova e pouco degradada) no Rio Negro (Amazônia) foi observada uma meia-vida de poucas horas quando comparado às amostras coletadas no período de seca (JARDIM et al., 2010). A continuidade deste estudo aplicando-o em outras regiões, e com a utilização de compostos modelos parece ser um indicativo da possibilidade de se realizar uma padronização, cujo resultado seja um método que permita a diferenciação das frações lábil e recalcitrante da matéria orgânica. Como demonstrado, a matéria orgânica pode atuar tanto no consumo de espécies reativas, como o  $\cdot OH$ , como na formação do mesmo (WHITE, VAUGHAN; ZEPP, 2003).

Vários compostos que podem ser empregados para representar a matéria orgânica no ambiente, a destacar os padrões de ácidos húmicos e fúlvicos (CALZA; VIONE; MINERO, 2014; CLARK; BRUYN; JONES, 2014; SOUTHWORTH; VOELKER, 2003; VERMILYEA; VOELKER, 2009). Existem amostras já comercializadas pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS), dentre elas o padrão de ácido fúlvico II, que é proveniente do rio Suwannee, um corpo aquático situado na Georgia (EUA). O COD presente nas águas do rio Suwannee tem uma concentração em torno de  $50 \text{ mg L}^{-1}$ , sendo majoritariamente representado pelas substâncias húmicas. Neste local os ácidos fúlvicos são encontrados em maiores proporções que os ácidos húmicos e têm origem pedogênica, ou seja, proveniente da degradação de plantas terrestres (MALCOLM; MCKNIGHT; AVERETT, 1995). Também está disponível o ácido húmico comercial.

As quinonas e ácidos fúlvico e húmico que têm sido empregados como modelos de MODC para estudo da foto-produção de  $H_2O_2$  (CLARK; BRUYN; JONES, 2014). Alguns ácidos orgânicos (ácido benzoico, ftálico, fenilacético, 4- fenilbutanóico, dentre outros) também foram utilizados em estudos de compostos modelos de MON para avaliar sua influência estrutural frente à adsorção de corantes (LIANG; BUTLER, 2010).

A lignina álcali é um dos principais componentes presentes nas plantas e está associada a funções estruturais. É uma macromolécula formada por porções de álcoois cumarílico, coniferílico e sinapílico e representa grande parte dos resíduos que formam a biomassa vegetal presente no ambiente terrestre (KLOTZBÜCHER, 2011; KÖGEL-KNABNER, 2002; THEVENOT; DIGNAC; RUMPEL, 2010;). Devido à presença de muitos grupos aromáticos é considerada um composto recalcitrante com longo tempo de residência nos solos (BAHRI et. al., 2008; DOLGONOSOV; GUBERNATOROVA, 2010;

KLOTZBÜCHER, 2011; KÖGEL-KNABNER, 2002). Por meio do escoamento superficial a MO pode ser aportada nos corpos aquáticos (GANDOIS et. al., 2014). E por conta de sua difícil degradação este composto foi considerado um biomarcador do aporte de matéria orgânica de origem terrestre, uma vez que foi demonstrada a ação das enzimas oxidases na degradação da lignina (GLEIXNER et al., 2001).

Alguns compostos orgânicos, de baixa massa molecular e presentes em águas superficiais como ácido pirúvico, tem sido detectados em águas superficiais (CATALÁN, et al. 2013; MORAN; ZEPP, 1997; PAUL, et al. 2004; XIAO et al. 2013). Este composto é conhecido por sua ação antioxidante (RODRÍGUEZ et al., 2011). Foi descrito que este composto decompõe o  $H_2O_2$  produzindo água,  $CO_2$  e acetato, em condições biológicas (VARMA; DEVAMANO HARAN; MORRIS, 1990).

### 3 OBJETIVO

Este trabalho teve como objetivo principal estudar alguns compostos orgânicos como modelos de matéria orgânica lábil ou recalcitrante visando propor sua utilização na cinética de consumo de  $H_2O_2$  como um indicador da labilidade e/ou recalcitrância da matéria orgânica natural presente em um corpo aquático. Para isto, será avaliada o emprego da cinética de consumo de  $H_2O_2$  como indicador de labilidade de matéria orgânica, estudar os compostos: lignina, ácido fúlvico, ácido húmico, ácido ascórbico e piruvato de sódio como modelos de matéria orgânica lábil e recalcitrante. Avaliar a cinética de consumo de  $H_2O_2$  em amostras de águas naturais e propor um método para diferenciação de matéria orgânica lábil e recalcitrante.

## 4 PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1 SOLUÇÕES EMPREGADAS

#### 4.1.1 Solução Estoque de $H_2O_2$ 500 $mg L^{-1}$

Em um balão volumétrico de 1,0 L adicionou-se um pouco de água deionizada seguido da adição de 1,2 mL de  $H_2O_2$  30% (v/v) (Vetec) e, completou-se o volume com água deionizada. A solução de  $H_2O_2$  foi padronizada empregando permanganato de potássio (método I-117.2) (MORITA; ASSUMPÇÃO, 2001). Solução estável por aproximadamente 3 meses.

#### 4.1.2 Solução de $H_2O_2$ 25 $mg L^{-1}$

Retirou-se uma alíquota de 25,0 mL da solução estoque de  $H_2O_2$  500,0  $mg L^{-1}$ , transferindo para um balão volumétrico de 500,0 mL e, completando o volume com água deionizada.

#### 4.1.3 Solução Tampão de $KH_2PO_4/K_2HPO_4$ 0,2 $mol L^{-1}$ (pH 6,0)

Pesou-se 13,7465 g de  $KH_2PO_4$  (Sigma-Aldrich) e 17,7755 g de  $K_2HPO_4$  (Sigma-Aldrich), que foram transferidos para um balão volumétrico de 1,0 L completando-o com água deionizada, e sendo posteriormente aferido o valor do pH. No caso de ajuste do mesmo, foi necessário submeter à solução a agitação constante por meio de um agitador magnético, adicionando gota a gota uma solução de KOH 5,0  $mol L^{-1}$  ou de HCl 1:1 (v/v).

#### 4.1.4 Solução do Sulfato de *N,N*-dietil-*p*-feniletlenodiamina (DPD)

Foi preparado pela dissolução de 0,1031 g de sulfato de *N,N*-dietil-*p*-feniletlenodiamina (DPD) (Sigma-Aldrich), em 10,0 mL de uma solução de  $H_2SO_4$  0,05  $mol L^{-1}$ .

#### 4.1.5 Solução de Ácido Sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) 0,05 $mol L^{-1}$

Adicionou-se um pouco de água deionizada em um béquer de 100,0 mL, em seguida adicionou-se 1,3 mL de ácido sulfúrico concentrado. Este volume foi transferido para um balão volumétrico de 500,0 mL, completando-se com água deionizada.

#### 4.1.6 Solução de Enzima Peroxidase

Preparou-se pela dissolução de 0,0032 g da enzima peroxidase (Sigma-Aldrich), contendo 250-300 unidades  $mg^{-1}$  de sólido, em 10,0 mL de água deionizada.



#### 4.1.7 Soluções padrão dos compostos modelo de MO

Os compostos escolhidos para modelo de matéria orgânica foram: lignina (Sigma-Aldrich) e piruvato de sódio (Sigma-Aldrich), ácido ascórbico (Sigma-Aldrich), ácido húmico (Sigma-Aldrich) e padrão II ácido fúlvico (*IHSS*). A dissolução de cada reagente foi feita em água deionizada. A partir de uma solução estoque foram preparadas soluções nas concentrações 0,5; 1,0; 3,0 e 5,0 mg L<sup>-1</sup> e conferida a concentração em função do Carbono Orgânico Total (COT).

#### 4.2 QUANTIFICAÇÃO DE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Para a quantificação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi empregado o método proposto por Bader e seus colaboradores (1988), utilizando o sulfato de *N,N*-dietil-*p*-feniletilediamina (DPD). Segundo a Reação 3, o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxida a enzima peroxidase (POD), que em seguida proporciona a oxidação da DPD em DPD<sup>•+</sup>. Este cátion radical possui coloração estável e com absorvância máxima no comprimento de onda de 551 nm. Para isto adicionou-se a 20,0 mL da amostra sob agitação, 3,0 mL da solução tampão de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2 mol L<sup>-1</sup> em pH 6, seguida da adição de 50,0 µL da solução de DPD e 50,0 µL da solução da POD. Após 10 segundos, a solução foi transferida para uma cubeta com caminho óptico de 10 cm, e realizou-se a leitura da absorvância em espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu, modelo 1600), em 551 nm.

#### 4.3 QUANTIFICAÇÃO DE FERRO (II) E FERRO TOTAL

Para quantificação de Fe(II) foi empregado o método espectrofotométrico da fenantrolina (método 3500 Fe - B) descrito segundo Clesceri et al. (2005), em que a orto-fenantrolina complexa-se aos íons Fe(II) formando um complexo colorido. Para a quantificação de Fe total empregou-se espectrofotômetro de absorção atômica com atomização por forno de grafite com corretor Zeeman (Varian, modelo AA280Z), as condições experimentais foram adaptadas das sugeridas pelo fabricante. O volume de amostra injetado foi de 6 µL e o modificador químico empregado foi uma solução contendo 1500,0 mg L<sup>-1</sup> de Pd e 1000,0 mg L<sup>-1</sup> de Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (WELZ et al. 1988; USEPA, 1994) e emprego de amostra certificada de água (SRM 1640a - Trace Elements in Natural Water, NIST).

#### 4.4 QUANTIFICAÇÃO DE CARBONO ORGÂNICO TOTAL (COT)

A quantificação de carbono orgânico total nas amostras de água no início e fim dos experimentos cinéticos foi feita empregando um Analisador de Carbono Orgânico Total (Shimadzu, TOC-VCSN).

#### 4.5 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR

Na fluorescência molecular foi obtido o espectro no modo emissão das amostras coletas no início e ao final dos experimentos da cinética de consumo de  $H_2O_2$ , utilizando o Espectrofluorímetro (Varian, modelo Cary Eclipse). No modo emissão foi feita a varredura de 350 a 650 nm com um comprimento de onda de excitação fixo em 332 nm (adaptado de PEURAVUORI et al., 2002). O espectro foi obtido com abertura de fenda de 10 nm.

#### 4.6 ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis

Espectros de varredura UV-Vis foram feitos utilizando um espectrofotômetro UV-Vis (2600, Shimadzu). Foram feitas varreduras em um intervalo de 200 a 700 nm nas alíquotas coletadas no início e ao final dos experimentos em microcosmo para cada composto modelo de matéria orgânica empregado neste estudo.

#### 4.7 EXPERIMENTOS EM MICROCOSMOS PARA O ESTUDO DE LABILIDADE E RECALCITRÂNCIA DA MATÉRIA ORGÂNICA

Para o estudo da labilidade e da recalcitrância utilizaram-se os seguintes compostos como modelos de matéria orgânica: ácido húmico, lignina, ácido fúlvico, piruvato de sódio e ácido ascórbico (Figura 1). Destaca-se que em todo o texto as concentrações dos compostos modelos de matéria orgânica foram expressas em função do carbono orgânico total (COT). Para o estudo cinético foram montados experimentos em microcosmos com cada composto citado. Foi realizado também um experimento com amostras de água superficial coletadas no rio Preto, localizado na Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande, no estado de São Paulo (S20°48'40,94"W49°21'13,62") (filtradas em membrana 0,45  $\mu$ m), em que foram adicionados os compostos modelos: ácido fúlvico e piruvato de sódio para avaliação da aplicação do emprego da cinética de consumo de  $H_2O_2$ . Outro experimento em microcosmos foi realizado com amostras de água superficial do rio Preto coletadas em um período de seca (pluviosidade acumulada mensal: 0 mm) e período chuvoso (pluviosidade acumulada no mês: 89 e 285,2 mm).

Para montagem dos microcosmos foram empregados reatores encamisados confeccionados em vidro borossilicato de volume de 1,6 L interligados e conectados a um banho termostaticado para a manutenção da temperatura em 19°C. Todos os reatores foram mantidos sob agitação durante o experimento, bem como mantidos sob iluminação artificial do laboratório (Figura 2). Cada microcosmo recebeu adição de 1,5 L de solução nas diferentes concentrações dos diversos compostos empregados. Um reator recebeu apenas água destilada

e foi considerado como controle para cada experimento. Em seguida, todos os reatores receberam a adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  perfazendo a concentração final de  $7,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Para avaliação do efeito da luz, foi conduzido um experimento em que os reatores ficaram expostos a luz artificial do laboratório e na ausência da incidência de luz (cobertos com papel alumínio). Ainda para determinação do erro experimental foi realizado um experimento em triplicata, utilizando ácido húmico, como modelo de matéria orgânica.

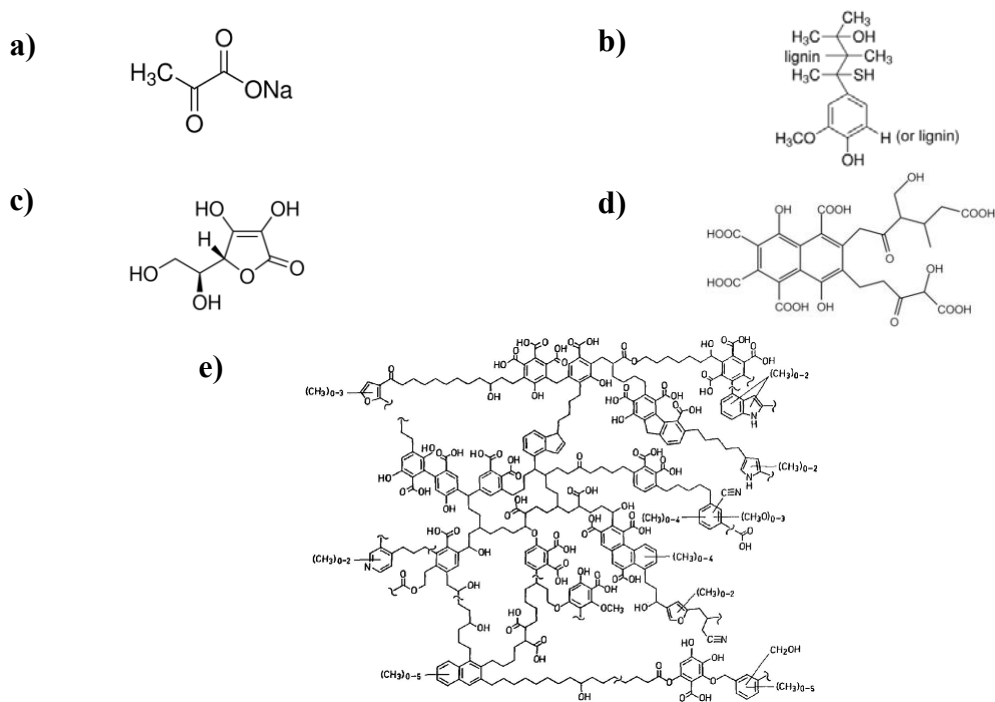


Figura 1 – Compostos empregados como modelos de matéria orgânica: a) Piruvato de sódio; b) Lignina; c) Ácido ascórbico; d) Ácido fúlvico (modelo proposto por Buffle et al (1977)); e) Ácido húmico (modelo proposto por Schulten e Schnitzer (1992)).



Figura 2 – Experimentos em microcosmos: reatores de vidro encamisados conectados ao banho termostatizado utilizados para os estudos de cinética de consumo de peróxido de hidrogênio.

Nos estudos em microcosmos o valor do pH foi monitorado, e em intervalos de tempo que foram definidos em função da cinética de consumo de  $H_2O_2$ , alíquotas foram retiradas seguidas de sua quantificação, segundo o item 4.2.

#### 4.8 CÁLCULO PARA DETERMINAÇÃO DA ORDEM DA REAÇÃO

As determinações das ordens e meias-vidas das reações puderam ser realizadas por meio de tratamentos matemáticos dos dados obtidos experimentalmente.

Para isto foram utilizados os resultados obtidos na quantificação do  $H_2O_2$  por meio das equações 1, 2, 3, representativas das respectivas ordens: zero, 1 e 2 (LEVINE, 2008), a fim de verificar qual modelo cinético forneceria a melhor correlação estatística para os dados do consumo de  $H_2O_2$  ( $R^2$ ). Para o modelo que melhor se ajustou obtiveram-se os valores das constantes de velocidade de consumo do  $H_2O_2$  ( $k_{H_2O_2}$ ), pelo coeficiente angular da reta.

De acordo com modelo definido determinou-se a meia-vida ( $t_{1/2}$ ) com a equação (4, 5 e 6) respectiva à ordem de reação definida.

$$[H_2O_2] = (-k_{H_2O_2} \times t) + [H_2O_2]_0 \quad (1)$$

$$[H_2O_2] = [H_2O_2]_0 \times \exp^{(-k_{H_2O_2}) \times t} \quad (2)$$

$$[H_2O_2] = \frac{[H_2O_2]_0}{(1 + (k_{H_2O_2} \times t \times [H_2O_2]_0))} \quad (3)$$

$$t_{1/2} = \frac{[H_2O_2]_0}{(2 \times k_{H_2O_2})} \quad (4)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k_{H_2O_2}} \quad (5)$$

$$t_{1/2} = \frac{1}{[H_2O_2]_0 \times k_{H_2O_2}} \quad (6)$$

Em que:  $[H_2O_2]$ : concentração de  $H_2O_2$ ;

$t$ : tempo;

$[H_2O_2]_0$ : concentração inicial de  $H_2O_2$ ;

$k_{H_2O_2}$ : constante de velocidade.

$t_{1/2}$ : meia-vida do  $H_2O_2$

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 QUANTIFICAÇÃO DE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, FERRO (II), FERRO TOTAL E CARBONO ORGÂNICO TOTAL

Na Figura 3 (a) está apresentada uma curva analítica típica obtida para a quantificação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, com as seguintes concentrações padrões de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: 0,0; 1,5; 2,9; 4,4; 5,9; 7,4 e 8,8  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , avaliadas empregando o método descrito no item 4.3. O limite de detecção estabelecido para este método foi de 0,17  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

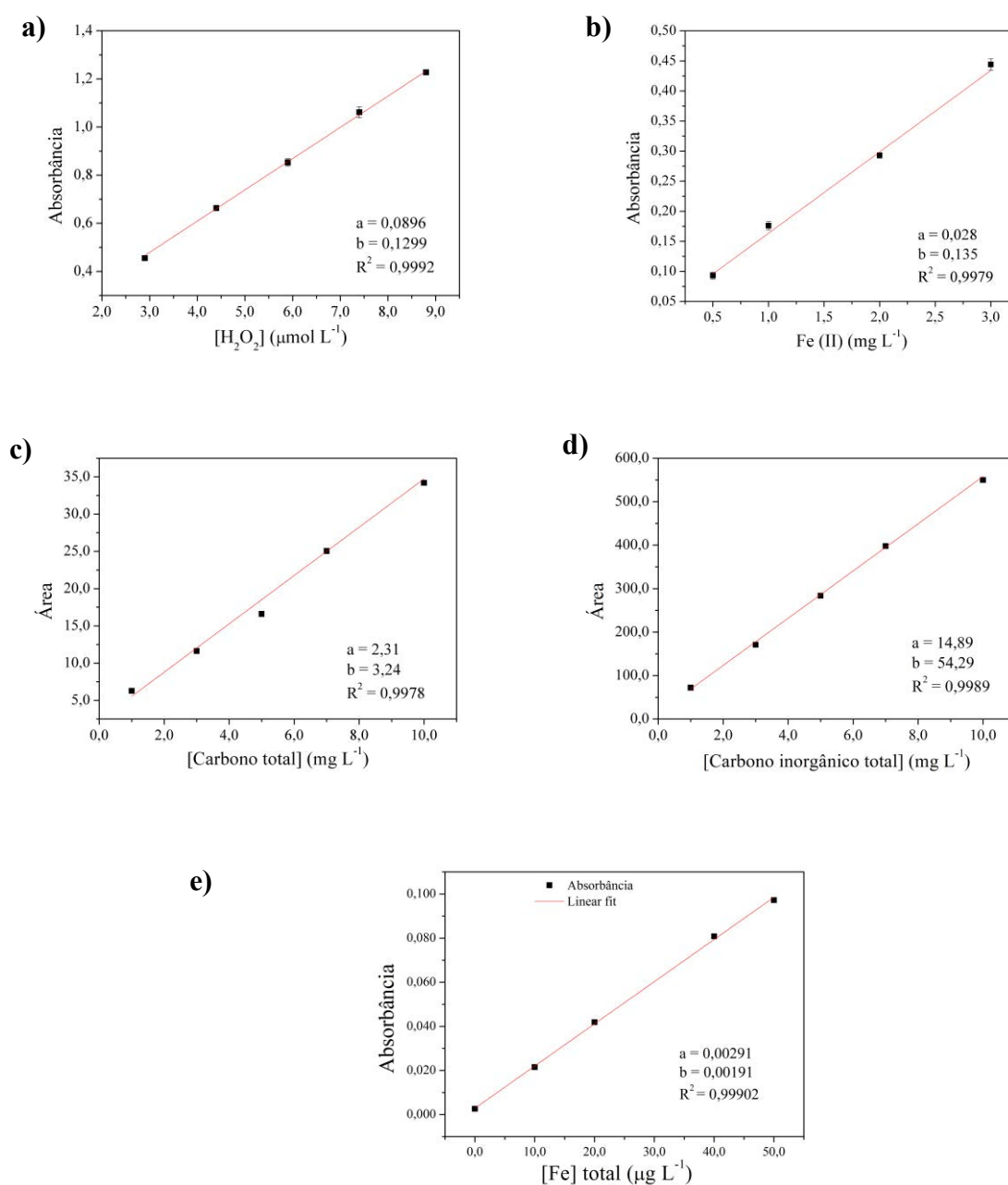


Figura 3 – a) Curva analítica típica obtida a) na quantificação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, valores em triplicata; b) na quantificação de Fe (II); c) na quantificação de carbono total; d) na quantificação de carbono inorgânico total; e) na quantificação de Fe total.

Na Figura 3 (b) é apresentada uma curva analítica típica obtida para a quantificação de Fe (II). O limite de detecção calculado foi de  $0,03 \text{ mg L}^{-1}$ . Na Figura 3 (c e d) estão ilustradas as curvas analíticas obtidas na quantificação de carbono total (CT) e carbono inorgânico total (CIT). O Carbono Orgânico Total (COT) é calculado a partir da diferença entre os resultados de CT e CIT em  $\text{mg L}^{-1}$ . A Figura 3 (c) representa uma curva analítica típica obtida para a quantificação de Fe total.

## 5.2 AVALIAÇÃO DO EMPREGO DA CINÉTICA DE CONSUMO DE $\text{H}_2\text{O}_2$ NA PRESENÇA DE COMPOSTOS MODELO DE MATÉRIA ORGÂNICA

Na Figura 4 está mostrado o consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em função do tempo, em triplicata, para experimento em microcosmos empregando  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido húmico como modelo de matéria orgânica. O erro associado ao experimento foi de 5,8%.

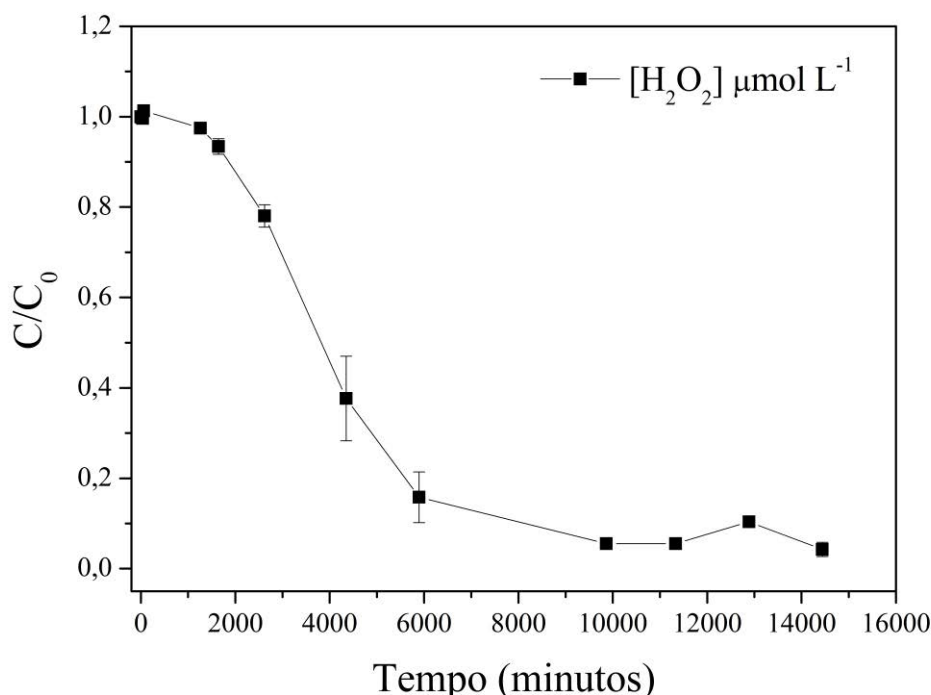


Figura 4 – Variação da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em função do tempo, na presença  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido húmico, em triplicata (condições experimentais: temperatura:  $19,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ; pH 5,8 - 7,0)

Na Tabela 1 está mostrado o  $t_{1/2}$  ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) obtido para os experimentos conduzidos em microcosmo para avaliar o efeito da ausência e presença de luz artificial do laboratório. Aplicou-se o teste *t Student* (dados pareados) nos  $t_{1/2}$  ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) calculados, sendo o valor de  $t$

calculado de 0,25 (para 4 graus de liberdade). Este valor foi inferior ao valor  $t$  tabelado (2,78), podendo concluir que não há diferença em se conduzir os experimentos na presença ou ausência de luz. Desta forma, os experimentos seguintes empregando os outros compostos modelos foram realizados apenas na presença de luz artificial do laboratório.

Tabela 1 – Valores de  $t_{1/2}$  obtidos da cinética de consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para amostras do experimento em microcosmos contendo ácido húmico como modelo de matéria orgânica, na presença e ausência de luz artificial do laboratório.

Concentração de COT nos microcosmos contendo ácido húmico ( $\text{mg L}^{-1}$ )	$t_{1/2}(\text{H}_2\text{O}_2)$ (horas)	
	Presença de luz	Ausência de luz
Controle	53,9	48,7
1,0	47,5	48,7
3,0	54,0	44,0
5,0	43,7	53,0

### 5.2.1 Lignina: modelo de matéria orgânica recalcitrante

O consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  no decorrer do tempo na presença de diferentes concentrações de lignina está ilustrado na Figura 5, sendo possível observar que o perfil de consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi semelhante tanto para o microcosmo controle quanto para os microcosmos contendo lignina. Este comportamento indica que o  $\text{H}_2\text{O}_2$  adicionado nos microcosmos não foi oxidante o suficiente para decompor grupamentos presentes na lignina, indicando que a mesma possui uma estrutura bastante recalcitrante.

Durante o experimento a temperatura foi mantida em  $19,0\text{ }^\circ\text{C}$  e o valor de pH oscilou em função da própria solubilização da lignina em meio aquoso nas diferentes concentrações trabalhadas, bem como sobre a influência do  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Como já mencionado as concentrações de matéria orgânica na lignina foram aferidas por meio de análises de COT no início dos experimentos.

Para todos os experimentos controle (água destilada + adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) realizados neste estudo, e para aqueles contendo compostos modelos de MOR o consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi praticamente inexistente até aproximadamente 1400 minutos (quase 24 horas) da cinética de consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Comportamento semelhante foi observado por Ortiz e colaboradores (2000) em trabalho com amostras de água de chuva fortificadas com  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Os autores observaram que a concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  permaneceu estável por 30 horas para  $\text{pH} < 3$  (com adição de  $\text{HNO}_3$ ).



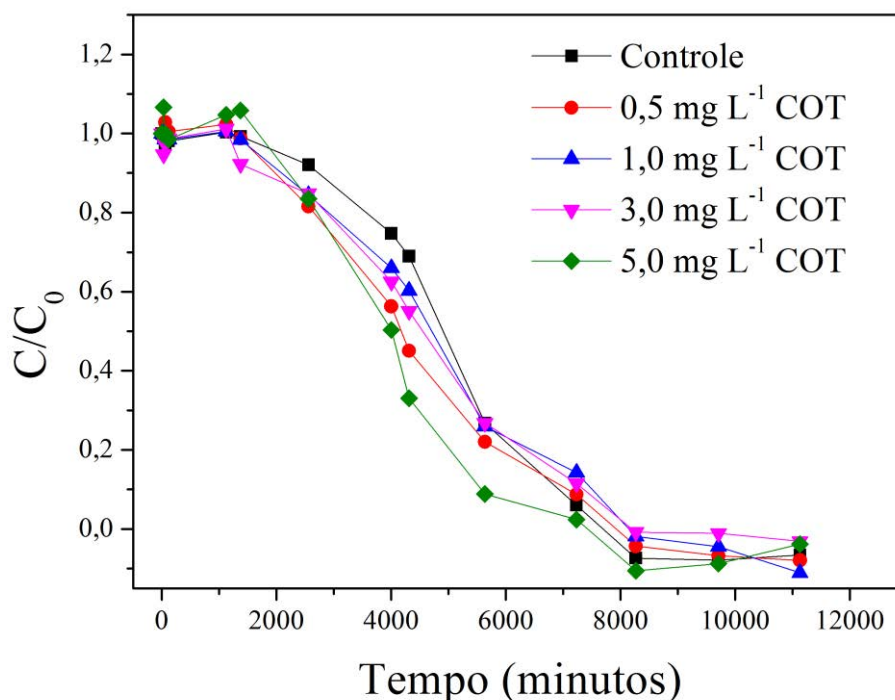


Figura 5 - Variação da concentração de  $H_2O_2$  em função do tempo, na presença de diferentes concentrações de lignina (Condições experimentais: temperatura:  $19,0\text{ }^\circ\text{C}$ ; pH 5,8 - 7,4 (Controle); pH 5,8 - 7,8 ( $0,5\text{ mg L}^{-1}$  COT); pH 5,8 - 7,2 ( $1,0\text{ mg L}^{-1}$  COT); pH 5,8 - 7,6 ( $3,0\text{ mg L}^{-1}$  COT) e pH 5,8 - 7,0 ( $5,0\text{ mg L}^{-1}$  COT).

Pestane e Zika (1997) estudaram a influência da atividade biológica no consumo do  $H_2O_2$  em amostras de água coletadas em mar aberto e na zona costeira. Os resultados evidenciaram que nas amostras de água filtradas, ou seja, onde houve a remoção de material particulado (minerais, resíduos orgânicos e biota) o consumo de  $H_2O_2$  é muito mais lento, tendendo a ter sua concentração inicial estável até aproximadamente 30 horas, e seguido de um aumento na taxa de consumo. A cinética de consumo foi ordem zero, o que corrobora com os resultados observados nesse trabalho.

Aplicando as equações citadas no item 4.8, determinaram-se as ordens de reação do consumo do  $H_2O_2$  e  $k_{H_2O_2}$  de cada experimento. Tanto o microcosmo controle, quanto os que continham diferentes concentrações de lignina, o melhor coeficiente de regressão linear ( $R^2$ ) foi observado para os tratamentos matemáticos de ordem zero (Figura 6).

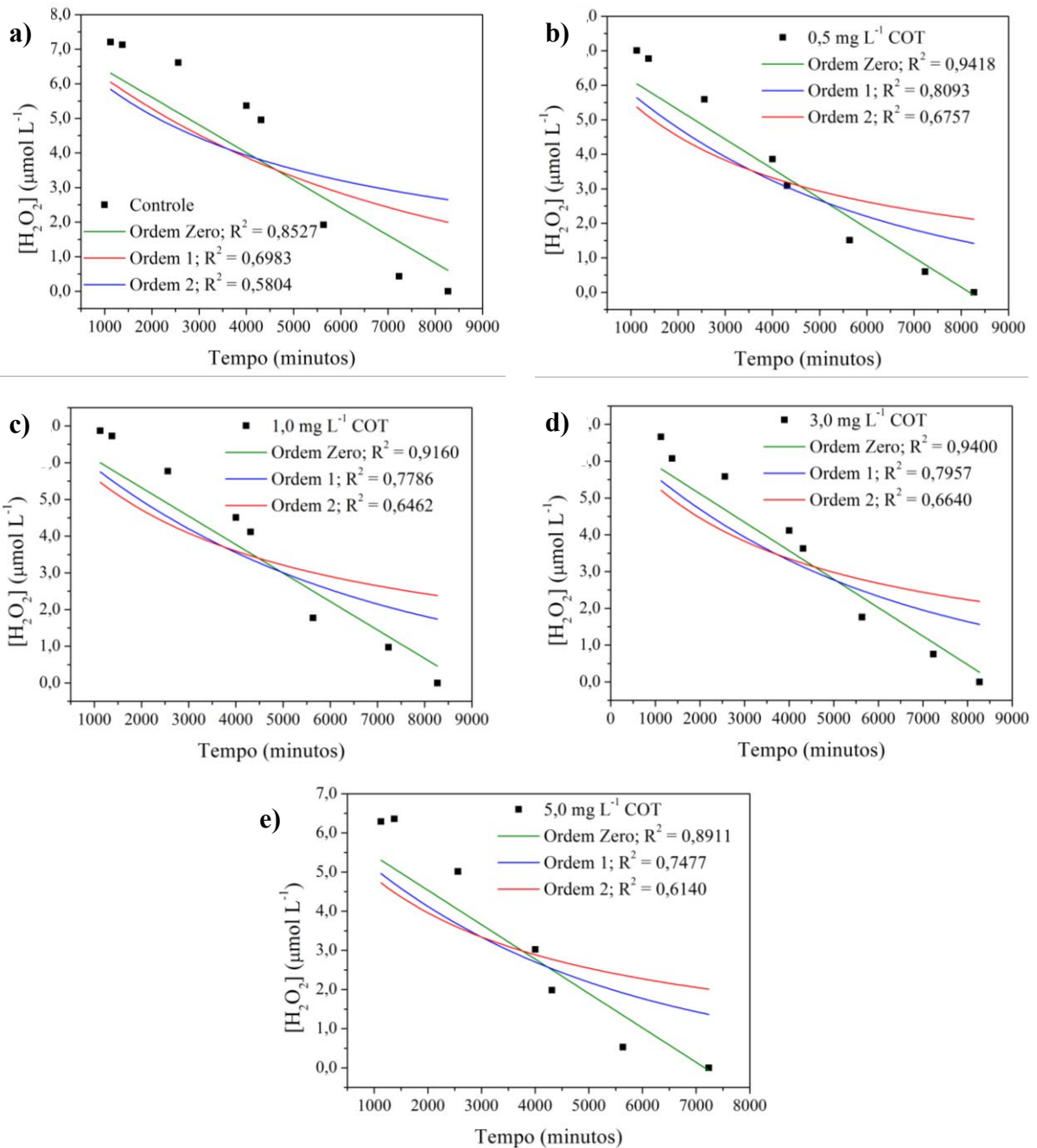


Figura 6 - Experimentos em microcosmos contendo lignina como modelo de matéria orgânica: variação da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  no tempo nas linearizações das leis de velocidade de reação para o microcosmo: a) Controle, b)  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ , c)  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ , d)  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$  e e)  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$  de COT em lignina.

Na Tabela 2 são apresentados os valores das  $k_{\text{H}_2\text{O}_2}$  de velocidade da reação de decomposição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  nos microcosmos contendo lignina, as quais variaram de  $7,75$  a  $8,79 \times 10^{-4} \mu\text{mol min}^{-1}$ , enquanto para o microcosmo controle o valor foi de  $7,98 \times 10^{-4} \mu\text{mol min}^{-1}$ . Considerando que as constantes de velocidade são semelhantes isto indica que o  $\text{H}_2\text{O}_2$  não atuou na degradação da lignina. A partir da determinação de  $k_{\text{H}_2\text{O}_2}$  foram calculadas as  $t_{1/2}$

(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) empregando a equação 4. Ainda na Tabela 2, pode-se verificar que os  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) obtidos para os experimentos em microcosmos empregando a lignina como modelo de matéria orgânica foi semelhante ao microcosmo controle (sem lignina). Isto reforça que os elevados  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) estão associados à própria decomposição do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Uma variação de aproximadamente 20,7% foi observada para o microcosmo contendo a maior concentração de lignina, 5,0 mg L<sup>-1</sup>, quando comparado ao grupo controle. Isto sugere que o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tenha oxidado alguns grupamentos presentes na estrutura de lignina.

Tabela 2 – Valores de  $t_{1/2}$ , ordem de reação e  $k_{H_2O_2}$  obtidos da cinética de consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para amostras do experimento em microcosmos contendo lignina como modelo de matéria orgânica.

Concentração de COT nos microcosmos contendo lignina (mg L <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) (horas)	Ordem de reação	$k_{H_2O_2}$ (μmol min <sup>-1</sup> )
Controle	75,3	Ordem Zero	7,98 x 10 <sup>-4</sup>
0,5	68,1	Ordem Zero	8,58 x 10 <sup>-4</sup>
1,0	73,9	Ordem Zero	7,75 x 10 <sup>-4</sup>
3,0	71,7	Ordem Zero	7,74 x 10 <sup>-4</sup>
5,0	59,7	Ordem Zero	8,79 x 10 <sup>-4</sup>

\*erro associado aos  $t_{1/2}$  (triplicata) 14%.

Na análise dos espectros de varredura de absorção molecular UV-Vis (Figura 7) e de fluorescência molecular (Figura 8) foi possível observar que não houve mudanças na composição das amostras, quando comparado aos resultados no início e fim do experimento. As concentrações de Fe (II) em todos os experimentos realizados neste trabalho estiveram abaixo do limite de detecção do método empregado (0,02 mg L<sup>-1</sup>). Neste contexto é esperado que a decomposição da matéria orgânica tenha ocorrido sem a influência do par redox Fe (II)/Fe(III) (SOUTHWORTH; VOELKER, 2003; VERMILYEA; VOELKER, 2009; WHITE; VAUGHAN; ZEPP, 2003; ZEPP; FAUST; HOIGNÉ, 1992), mas não se descarta a presença de ferro em concentrações inferiores ao limite de detecção do método. Como consequência da cinética de consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mais lenta, o material pode apresentar maior tempo de residência no ambiente. Portanto, para os objetivos de delineamento de compostos modelo de recalcitrância e labilidade proposto neste trabalho e com os resultados obtidos (Tabela 2) pode-se atribuir à lignina a classificação de composto modelo de MOR.

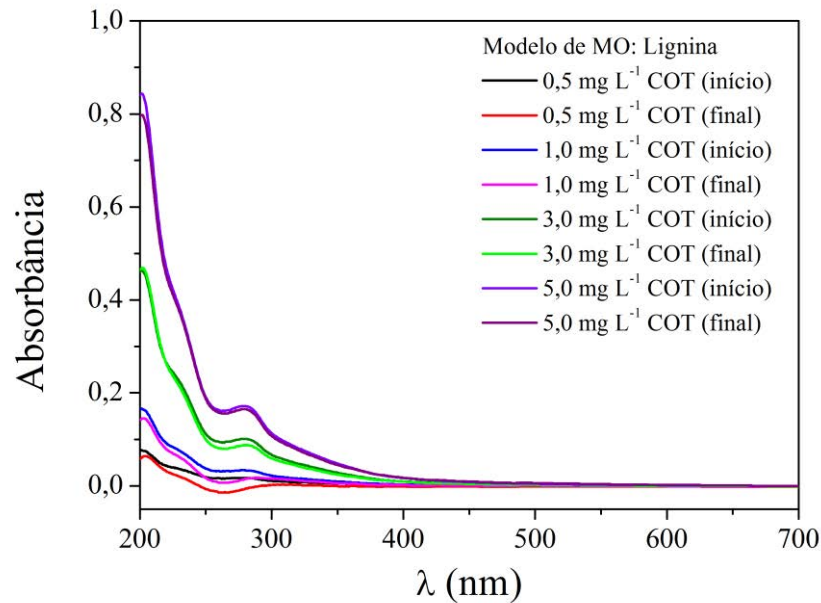


Figura 7 - Espectros de varredura UV-Vis das amostras no início e no final do experimentos em microcosmos contendo lignina nas concentrações 0,0; 0,5; 1,0; 3,0 e 5,0 mg L<sup>-1</sup> de COT.

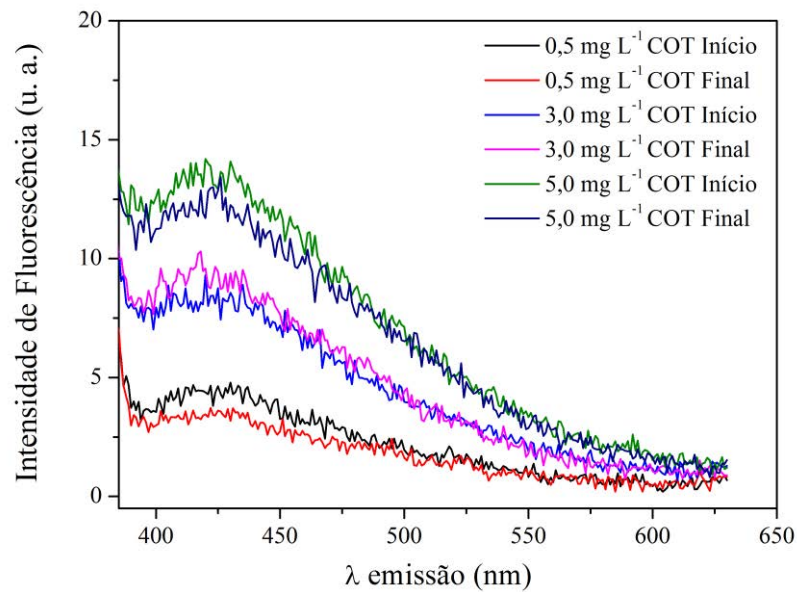


Figura 8 - Espectros de Fluorescência molecular obtidos de amostras dos microcosmos contendo 0,5 mg L<sup>-1</sup>, 3,0 mg L<sup>-1</sup>, 5,0 mg L<sup>-1</sup> COT de lignina no início e ao final do experimento.

### 5.2.2 Ácido Fúlvico: modelo de matéria orgânica recalcitrante

Na Figura 9 é apresentado o perfil de consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em função do tempo, nos experimentos em microcosmos empregando o ácido fúlvico como modelo de matéria orgânica. Para os tratamentos matemáticos foram aplicados as concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a partir do início do consumo, no tempo de 1710 minutos.

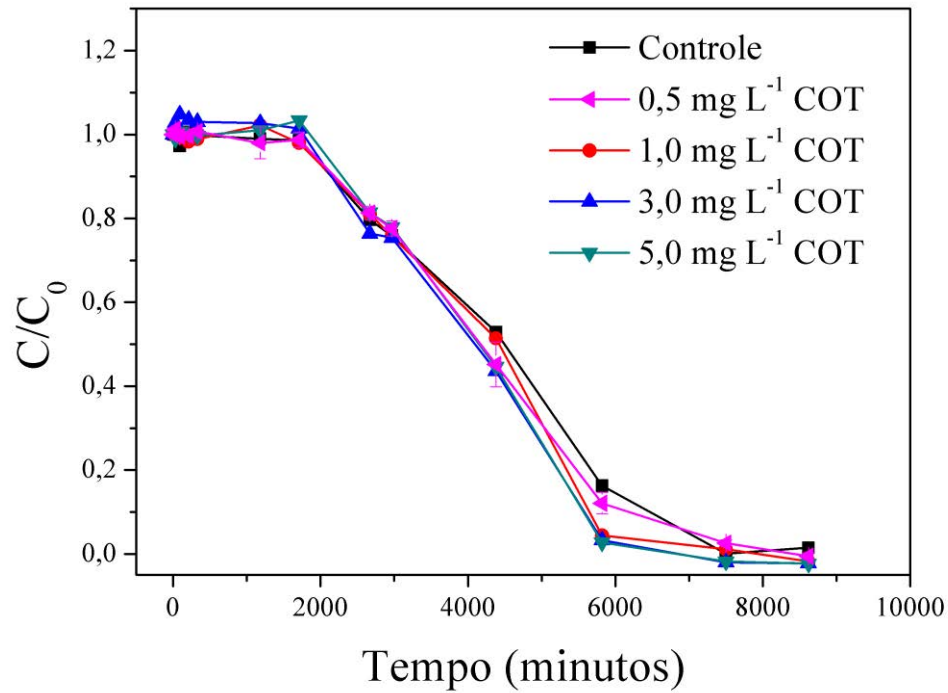


Figura 9 - Variação da concentração de  $H_2O_2$  em função do tempo, na presença de diferentes concentrações de ácido fúlvico (Condições experimentais: temperatura:  $19,0\text{ }^\circ\text{C}$ ; pH 6,21 - 6,26 (Controle); pH 6,0 - 5,8 ( $0,5\text{ mg L}^{-1}$ ); pH 5,9 - 5,7 ( $1,0\text{ mg L}^{-1}$ ); pH 5,8 - 5,5 ( $3,0\text{ mg L}^{-1}$ ) e pH 5,6 - 5,6 ( $5,0\text{ mg L}^{-1}$ )).

A Figura 10 ilustra os tratamentos matemáticos para determinação da ordem de reação do consumo de  $H_2O_2$  nos microcosmos. A ordem zero foi a que melhor se ajustou ao comportamento cinético de degradação do  $H_2O_2$ .

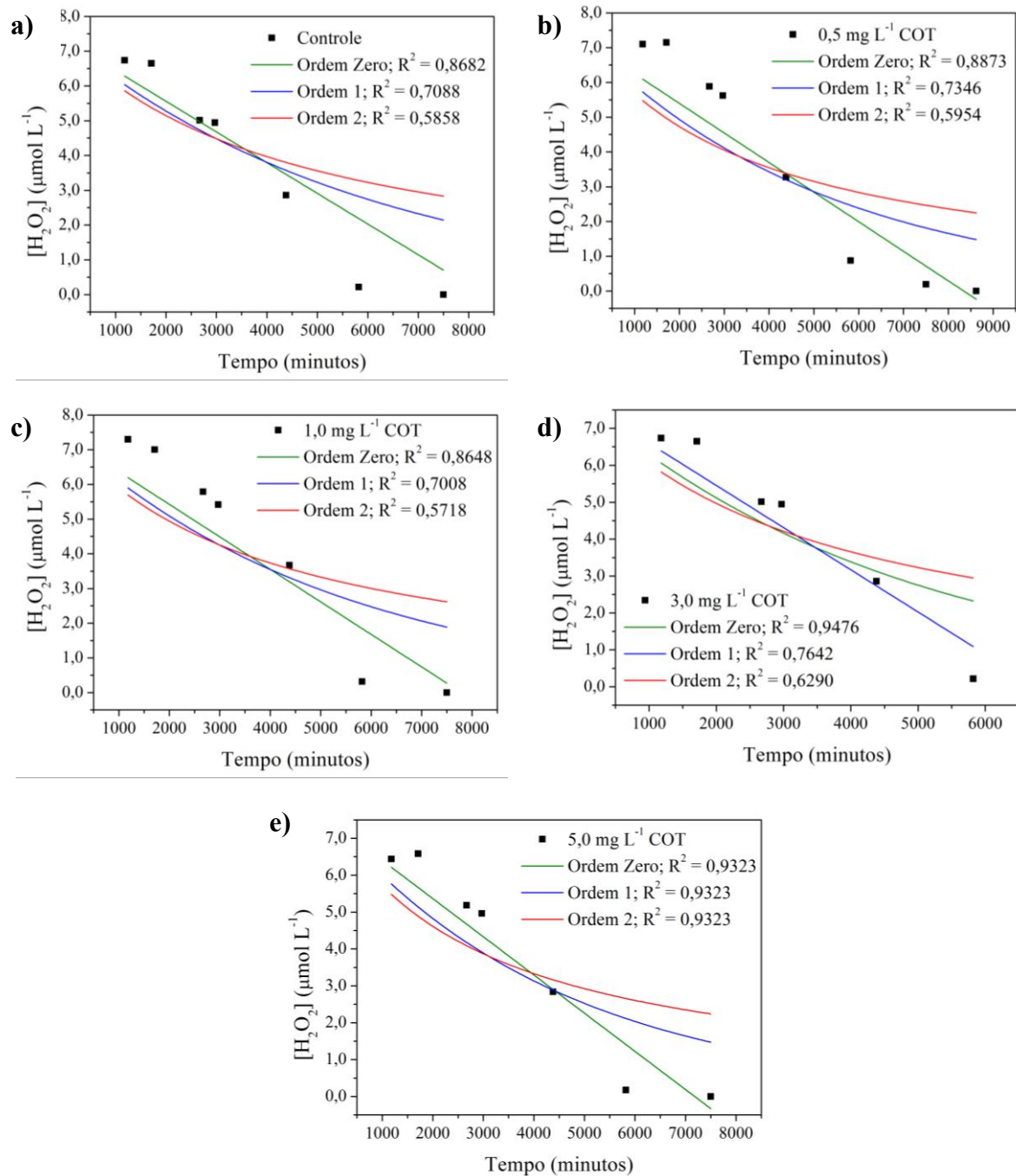


Figura 10 - Experimentos em microcosmos contendo ácido fúlvico como modelo de matéria orgânica: variação da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  no tempo nas linearizações das leis de velocidade de reação para o microcosmo: a) Controle, b)  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ , c)  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ , d)  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$  e e)  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$  de COT em ácido fúlvico.

As  $k_{\text{H}_2\text{O}_2}$  obtidas segundo a equação da ordem de reação, e os seus respectivos  $t_{1/2}$  ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 – Valores de  $t_{1/2}$ , ordem de reação e  $k_{H_2O_2}$  obtidos da cinética de consumo de  $H_2O_2$  para amostras do experimento em microcosmos contendo ácido fúlvico como modelo de matéria orgânica.

Concentração de COT nos microcosmos contendo ácido fúlvico (mg L <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) (horas)	Ordem de reação	$k_{H_2O_2}$ (μmol min <sup>-1</sup> )
Controle	69,2	Ordem Zero	8,8 x 10 <sup>-4</sup>
0,5	69,5	Ordem Zero	8,5 x 10 <sup>-4</sup>
1,0	64,9	Ordem Zero	9,4 x 10 <sup>-4</sup>
3,0	59,2	Ordem Zero	10,9 x 10 <sup>-4</sup>
5,0	59,6	Ordem Zero	10,4 x 10 <sup>-4</sup>

\*erro associado aos  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (triplicata) 14%.

As  $k_{H_2O_2}$  referentes a decomposição do  $H_2O_2$  nos microcosmos que receberam a adição de ácido fúlvico variaram de 8,5 a 10,9 x 10<sup>-4</sup> μmol min<sup>-1</sup>, para o microcosmo controle deste experimento o valor de  $k_{H_2O_2}$  foi de 8,8 x 10<sup>-4</sup> μmol min<sup>-1</sup>. Os  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) foram determinados aplicando a respectiva equação 4, empregando a  $k_{H_2O_2}$  obtida dos tratamentos matemáticos (Figura 10). Na Tabela 3, pode-se observar que os  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) obtidos para os experimentos em microcosmos empregando o ácido fúlvico como modelo de matéria orgânica variaram de 59,2 a 69,5 horas e foram semelhantes ao microcosmo controle (sem ácido fúlvico), 69,2 horas, o mesmo comportamento observado para o experimento empregando lignina como modelo de matéria orgânica. Isto indica que os elevados  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) estão associados à decomposição do  $H_2O_2$ , neste contexto acredita-se que este composto represente um bom modelo de MOR.

A Figura 11 ilustra os espectros de varredura UV-Vis das amostras coletadas no início e ao final da cinética de consumo de  $H_2O_2$ . Estes espectros de varredura indicaram não ter havido modificações na composição das amostras.

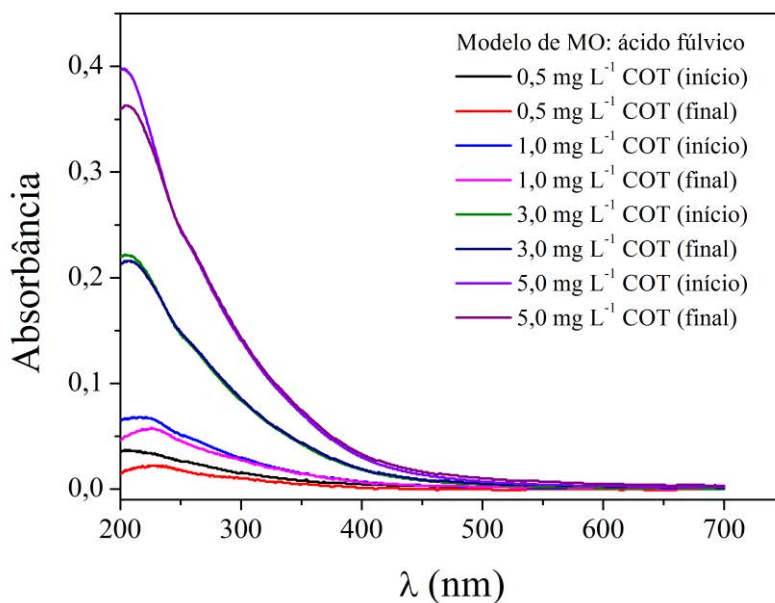


Figura 11 - Espectros de varredura UV-Vis das amostras dos microcosmos contendo ácido fúlvico no início e no final do experimento: 0,5 mg L<sup>-1</sup>; 1,0 mg L<sup>-1</sup>; 3,0 mg L<sup>-1</sup> e 5,0 mg L<sup>-1</sup> de COT.

### 5.2.3 Avaliação do emprego da cinética de consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na presença de piruvato de sódio

Neste experimento de avaliação da cinética de consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi empregada uma variação de 0,5 a 5,0 mg L<sup>-1</sup> de piruvato de sódio. Como pode ser observado a cinética de consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi mais rápida nos microcosmos contendo piruvato do que no grupo controle (sem piruvato de sódio), sugerindo que o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidou o composto empregado como modelo de matéria orgânica (Figura 12).



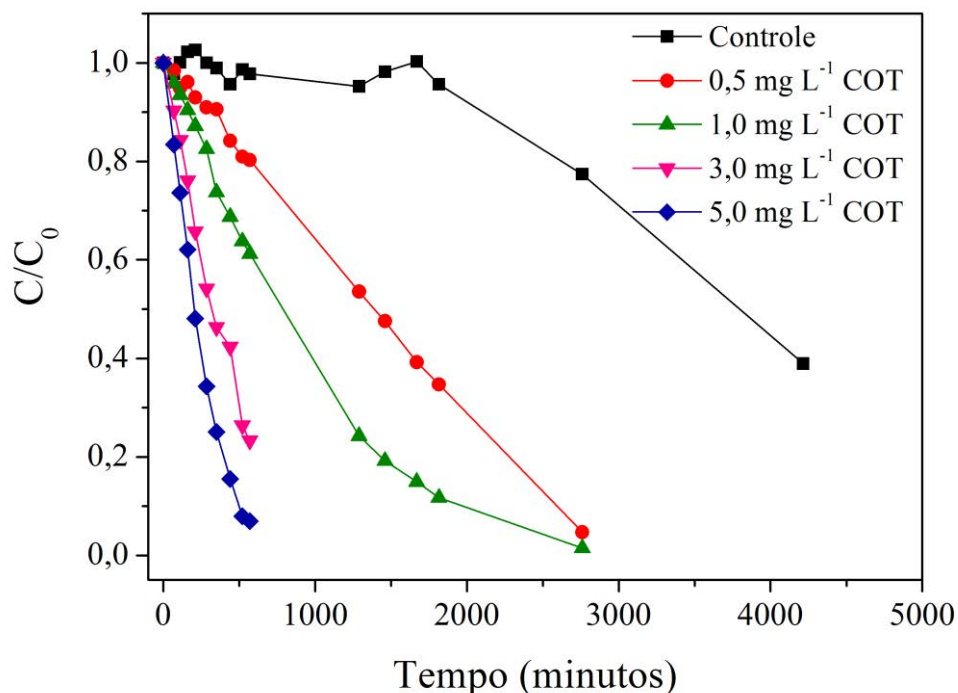


Figura 12 - Variação da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em função do tempo, para a concentração inicial de  $7,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ , na presença de diferentes concentrações de piruvato de sódio (Condições experimentais: temperatura:  $19,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ; pH 6,6 - 6,2 (Controle); pH 6,8 - 7,0 ( $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ); pH 6,7 - 7,0 ( $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ); pH 6,7 - 7,1 ( $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ ) e pH 6,8 - 7,0 ( $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ )).

Nos dados experimentais do decréscimo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em função do tempo foram aplicadas as equações (1, 2 e 3) citadas no item 4.8 para determinação das ordens de reação de cada microcosmo. Os gráficos mostrados na Figura 13 (a, b, c, d e e) ilustraram a aplicação das ordens de reação e os respectivos coeficiente de regressão ( $R^2$ ). Desta forma, definiram-se as ordens de reação para cada microcosmo em função dos melhores valores de  $R^2$ . E em seguida calcularam-se os respectivos  $t_{1/2}$  ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) para cada experimento utilizando à equação correspondente a ordem de reação definida. Os valores calculados para os  $t_{1/2}$  ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), bem como para os  $k_{(\text{H}_2\text{O}_2)}$  (constante de velocidade) de cada microcosmo são mostrados na Tabela 4.

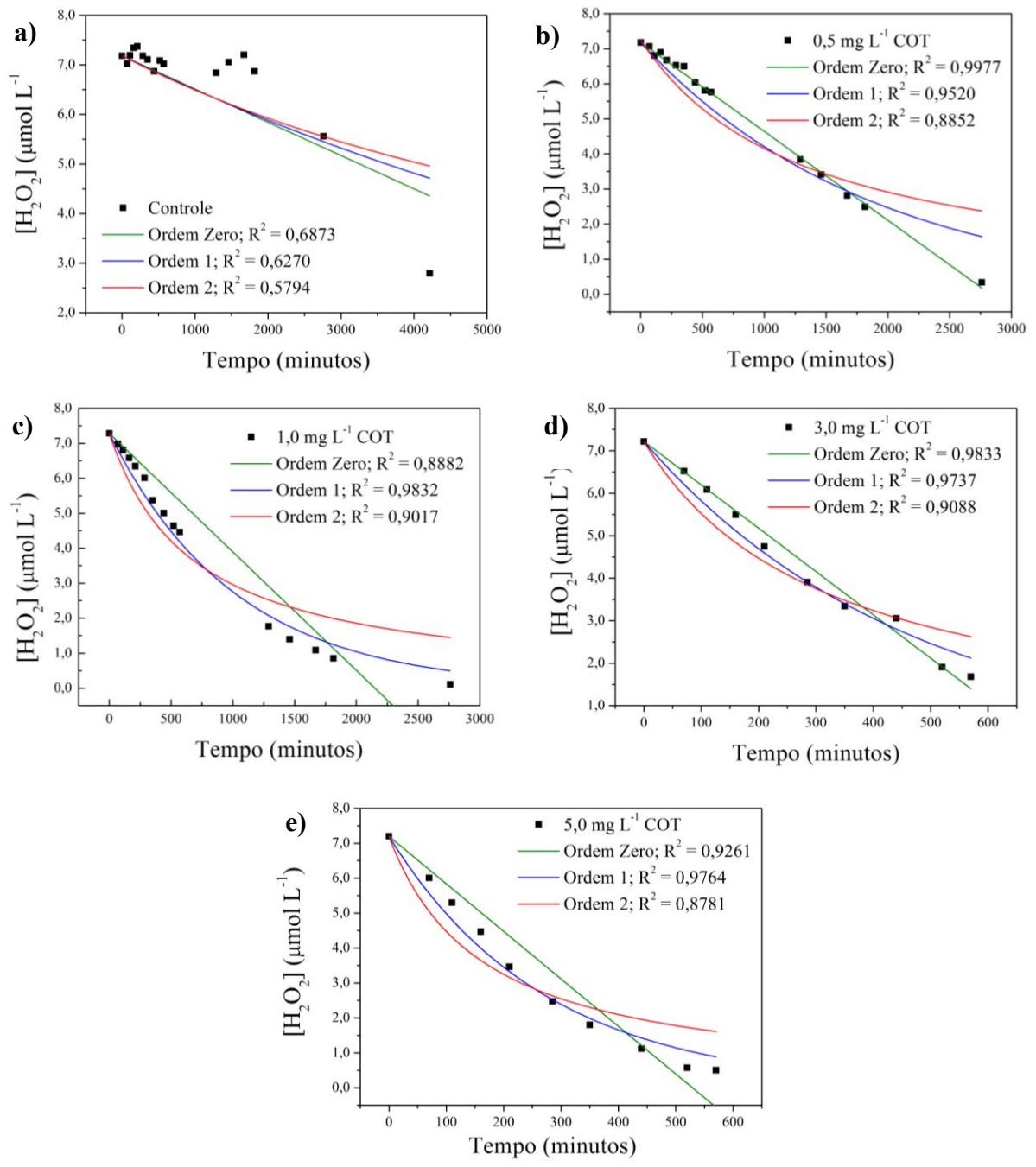


Figura 13 - Aplicação das equações de ordem de reação: ordem zero, ordem 1 e ordem 2 para os microcosmos contendo diferentes concentrações de piruvato de sódio: a) Controle; b) 0,5 mg L<sup>-1</sup>; c) 1,0 mg L<sup>-1</sup>; d) 3,0 mg L<sup>-1</sup> e e) 5,0 mg L<sup>-1</sup> de COT em piruvato de sódio.

Tabela 4 – Valores de  $t_{1/2}$ , ordem de reação e  $k_{H_2O_2}$  obtidos da cinética de consumo de  $H_2O_2$  para amostras do experimento em microcosmos contendo piruvato de sódio como modelo de matéria orgânica.

Concentração de COT nos microcosmos contendo piruvato de sódio (mg L <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) (horas)	Ordem de reação	$k_{H_2O_2}$
Controle	89,2	Ordem Zero	$6,7 \times 10^{-4} \mu\text{mol min}^{-1}$
0,5	21,6	Ordem 1	$5,3 \times 10^{-4} \text{min}^{-1}$
1,0	11,9	Ordem 1	$9,4 \times 10^{-4} \text{min}^{-1}$
3,0	5,4	Ordem 1	$2,2 \times 10^{-3} \text{min}^{-1}$
5,0	3,1	Ordem 1	$3,7 \times 10^{-3} \text{min}^{-1}$

\*erro associado aos  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (triplicata) 14%.

A ordem zero foi a que melhor se adequou a cinética de consumo de  $H_2O_2$  para o microcosmo controle deste experimento, com a  $k_{H_2O_2}$  de  $6,7 \times 10^{-4} \mu\text{mol min}^{-1}$  e  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) de 89,2 horas, mesmo comportamento observado para os demais controles dos outros experimentos.

Os microcosmos que receberam a adição de piruvato de sódio tiveram maiores valores da  $k_{H_2O_2}$  quanto maior a concentração de piruvato de sódio, ou seja, mais rápida foi o consumo de  $H_2O_2$  (Tabela 4). Estes resultados indicaram que o piruvato de sódio foi oxidado pelo  $H_2O_2$ , resultando num consumo mais rápido do mesmo ao longo do tempo. O decréscimo dos  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) quando comparados com o microcosmo controle foi de 75,8; 86,7; 93,9 e 96,5%, respectivamente, para as concentrações de 0,5; 1,0; 3,0 e 5,0 mg L<sup>-1</sup> de piruvato de sódio. Desta forma, pode-se concluir segundo o tratamento cinético que o piruvato de sódio comportou-se como um bom modelo de MOL.

#### 5.2.4 Avaliação do emprego da cinética de consumo de $H_2O_2$ na presença ácido ascórbico

A cinética de consumo de  $H_2O_2$  na presença de ácido ascórbico como modelo de MOL é ilustrada na Figura 14. Neste primeiro experimento, nos microcosmos controle, 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup> de ácido ascórbico foi possível observar um decréscimo da concentração de  $H_2O_2$  a partir do tempo de 1320 minutos, pois até este tempo as concentrações de  $H_2O_2$  mantiveram-se constantes.

Nos experimentos em microcosmos contendo ácido ascórbico nas concentrações de 3,0 e 5,0 mg L<sup>-1</sup> (Figura 14) parece ter havido a supressão do sinal analítico (absorbância) a

partir do tempo inicial (zero) ou um consumo muito rápido da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  adicionada aos microcosmos.

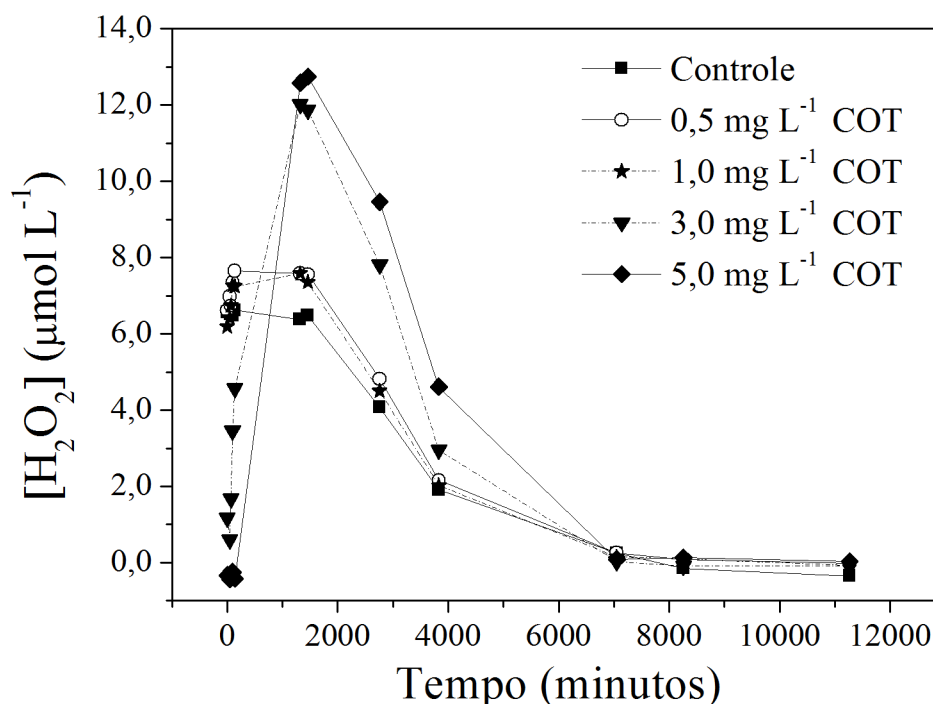


Figura 14 - Variação da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em função do tempo, para a concentração inicial de  $7,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ , na presença de diferentes concentrações de ácido ascórbico (Condições experimentais: temperatura:  $19,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ; pH 6,6 - 6,2 (Controle); pH 6,8 - 7,0 ( $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ); pH 6,7 - 7,0 ( $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ); pH 6,7 - 7,1 ( $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ ) e pH 6,8 - 7,0 ( $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ )).

A formação de espécies reativas de oxigênio, como radicais hidroxilas, bem como  $\text{H}_2\text{O}_2$  pelo ácido ascórbico foi descrita por Li e seus colaboradores (2012). Os autores sugeriram que o ácido ascórbico, em solução aquosa, presente na forma de íon ascorbato ( $\text{AscH}^-$ ) na presença de  $\text{O}_2$  pode formar  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , ou ainda na presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , formaria  $\text{HO}_2^{\cdot-}$ . A espécie  $\text{O}_2^{\cdot-}$  sofre dismutação (ou reação de desproporcionamento) para a formação de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , que é mais estável (Reação 11). Estes resultados corroboraram com os dados obtidos para os microcosmos com ácido ascórbico, tendo em vista que provavelmente o  $\text{H}_2\text{O}_2$  adicionado tenha sido consumido nas reações de produção dos radicais oxidantes, justificando seu rápido consumo, sendo que após um intervalo de tempo de 1320 minutos, o aumento da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (microcosmos  $3,0$  e  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido ascórbico) poderia ser justificado pela sua autoprodução. Desta maneira o tratamento matemático para determinação da ordem de reação e o tempo de meia-vida deste experimento foram calculados a partir do tempo de 1320 minutos.



Para a avaliação do comportamento cinético, a ordem das reações foi determinada a partir do tratamento matemático apresentado no item 4.8, em que se assumiu a ordem de reação para o tratamento com o melhor  $R^2$  (Figura 15).

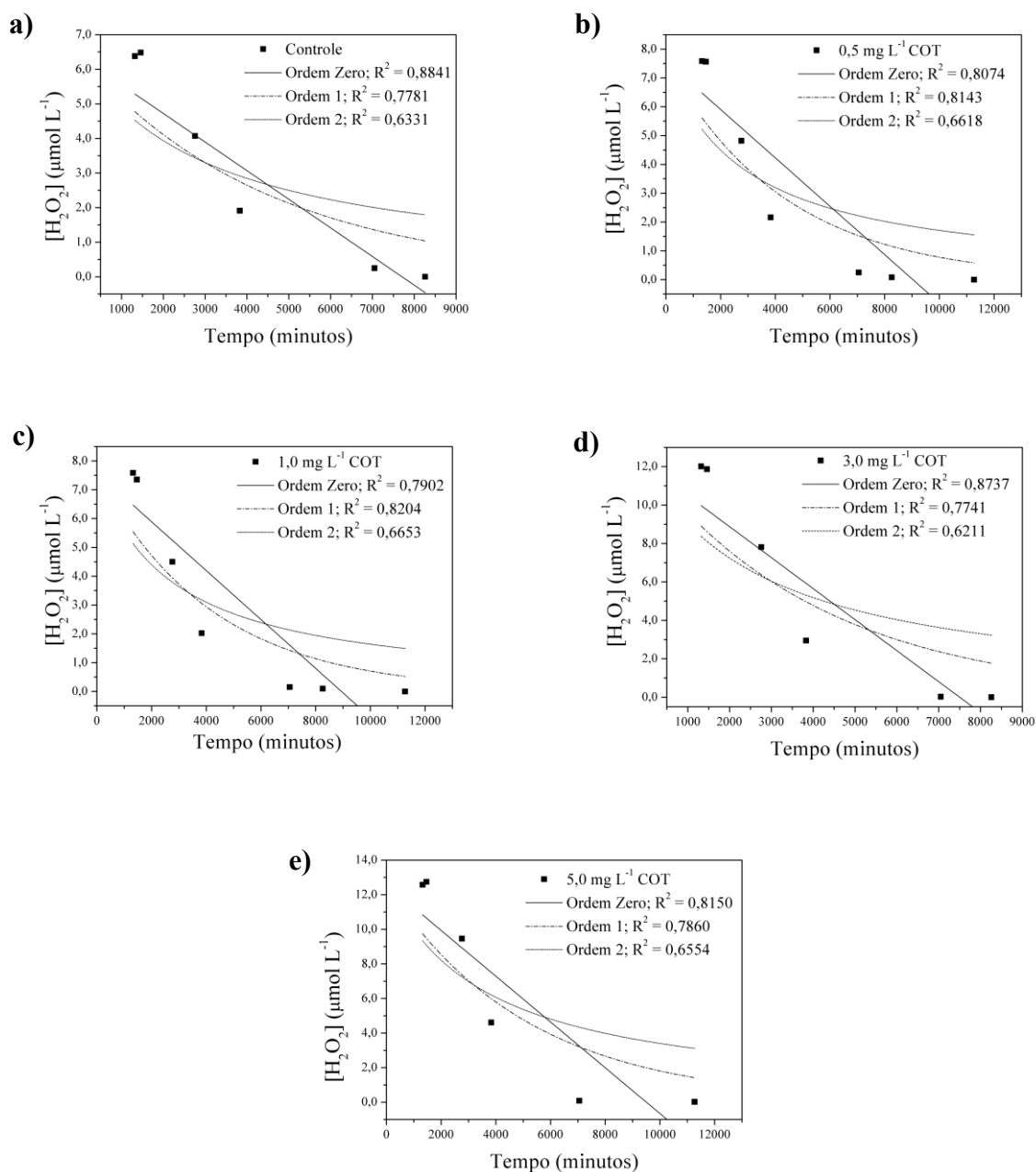


Figura 15 - Aplicação das equações de ordem de reação: ordem zero, ordem 1 e ordem 2 para os microcosmos contendo diferentes concentrações de ácido ascórbico: a) Controle; b) 0,5 mg L<sup>-1</sup>; c) 1,0 mg L<sup>-1</sup>; d) 3,0 mg L<sup>-1</sup> e e) 5,0 mg L<sup>-1</sup> de COT em ácido ascórbico.

Os resultados obtidos para os cálculos de tempo de meia-vida são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 - Valores de  $t_{1/2}$ , ordem de reação e  $k_{H_2O_2}$  obtidos da cinética de consumo de  $H_2O_2$  para amostras do experimento em microcosmos contendo ácido ascórbico como modelo de matéria orgânica.

Concentração de COT nos microcosmos contendo ácido ascórbico (mg L <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) (horas)	Ordem de reação	$k_{H_2O_2}$
Controle	64,2	Ordem zero	$8,3 \times 10^{-4} \mu\text{mol}^{-1} \text{min}^{-1}$
0,5	50,8	Ordem 1	$2,3 \times 10^{-4} \text{min}^{-1}$
1,0	48,7	Ordem 1	$2,4 \times 10^{-4} \text{min}^{-1}$
3,0	62,6	Ordem zero	$1,6 \times 10^{-3} \mu\text{mol}^{-1} \text{min}^{-1}$
5,0	79,4	Ordem zero	$1,3 \times 10^{-3} \mu\text{mol}^{-1} \text{min}^{-1}$

Os resultados apresentados na Tabela 5 permitem inferir que para os microcosmos contendo 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup> de ácido ascórbico as cinéticas foram de ordem 1, com  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) menores que o obtido para o grupo controle. Para os experimentos com adição de 3,0 e 5,0 mg L<sup>-1</sup> de ácido ascórbico, onde foi observada uma produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, os seus respectivos  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 62,6 e 79,4 horas, respectivamente, estão próximos aos observado para o experimento controle. As cinéticas de consumo das duas maiores concentrações e do grupo controle foram determinadas como de ordem zero.

Um experimento adicional foi realizado a fim de verificar se o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> estava sendo formado quando da solubilização do ácido ascórbico em água. Para isto foi montado um microcosmo contendo ácido ascórbico nas mesmas concentrações empregadas anteriormente, sem a adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aos frascos. Os resultados obtidos da cinética de consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> estão mostrados na Figura 16.

Pode-se verificar que a partir do tempo inicial houve um aumento da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> proporcional ao aumento da concentração de ácido ascórbico até o tempo de 1335 minutos (Figura 16). Este resultado confirma a autoprodução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que deve estar associado à dissociação do ácido ascórbico como já mencionado e demonstrados por Li e colaboradores (2012) e que foi observado nesse trabalho (Figura 15).

Foi também verificado se o pH da amostra coletada no microcosmo poderia interferir na quantificação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pelo método enzimático empregado. A oscilação do pH nesse experimento foi de 5,1 - 6,3, que está em conformidade com o requerido na quantificação

empregando o método de quantificação aplicado (BADER; SIURZENEGGER; HOIGNÉ, 1988), e condizente com as concentrações crescentes de ácido ascórbico trabalhadas. Desta maneira, confirmou-se que a autoprodução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  está associada ao ácido ascórbico, visto que a concentração desse no grupo controle manteve-se menor que o limite de detecção do método empregado na quantificação.

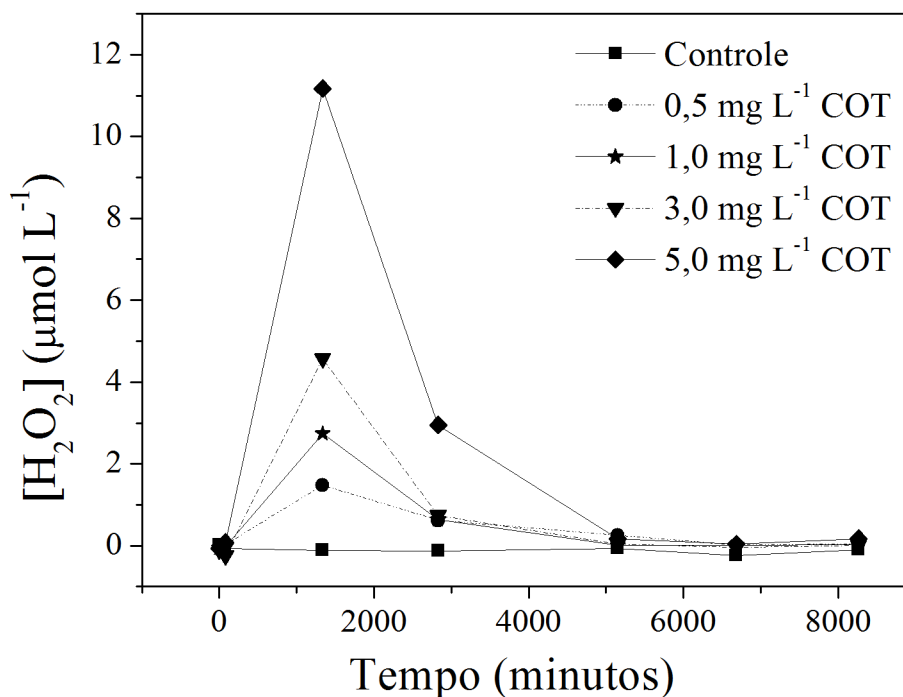


Figura 16 - Variação da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  no tempo, para experimentos em microcosmos variando a concentração inicial ácido ascórbico e sem adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . (Condições experimentais: temperatura: 19,0 °C; pH 6,1 - 6,3 (Controle); pH 6,9 - 6,3 (0,5 mg L<sup>-1</sup>); pH 5,5 - 6,3 (1,0 mg L<sup>-1</sup>); pH 5,7 - 6,3 (3,0 mg L<sup>-1</sup>) e pH 5,1 - 6,3 (5,0 mg L<sup>-1</sup>)).

### 5.3 CINÉTICA DE CONSUMO DE $\text{H}_2\text{O}_2$ EM AMOSTRAS DE ÁGUA NATURAL E EMPREGO DOS COMPOSTOS MODELOS DE MATÉRIA ORGÂNICA

Neste experimento foi utilizada a água do rio Preto para o preparo das soluções dos microcosmos, e considerando os resultados apresentados anteriormente, foram escolhidos como modelos de MO lábil e recalcitrante, o piruvato de sódio e o ácido fúlvico, respectivamente. O perfil cinético de consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  deste experimento está ilustrado na Figura 17.

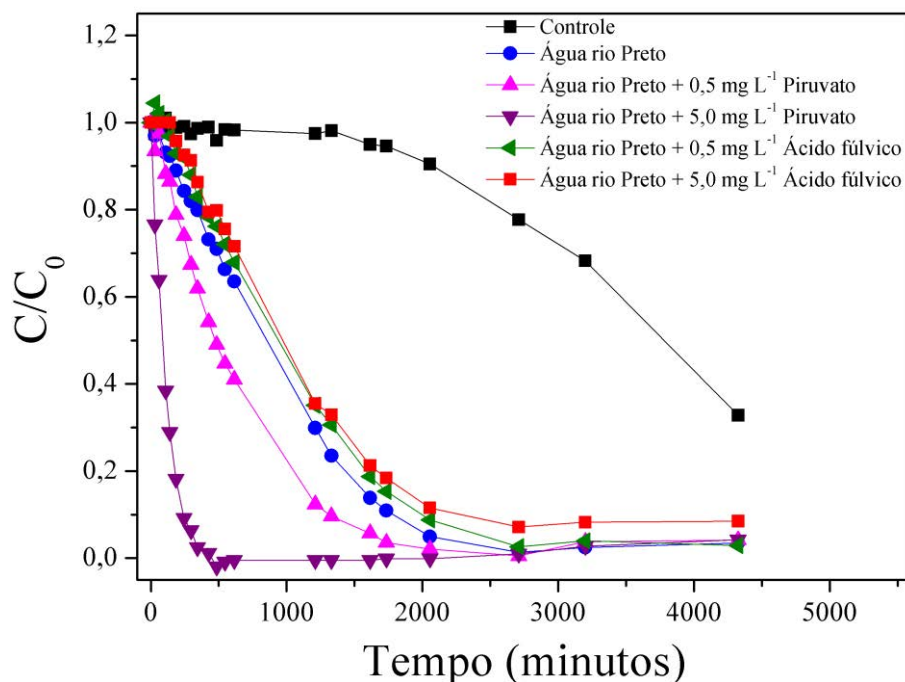


Figura 17 - Variação da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em função do tempo, para experimentos em microcosmos realizado com amostras de água do rio Preto, sem e com adição de ácido fúlvico e de piruvato de sódio como modelos de MO. (Condições experimentais: temperatura: 19,0 °C; pH 6,8 - 6,7 (Controle); pH 7,7- 7,3 (água rio Preto); pH 7,6 - 7,4 (água rio Preto + 0,5 mg L<sup>-1</sup> piruvato); pH 7,6 - 7,2 (água rio Preto + 5,0 mg L<sup>-1</sup> piruvato); pH 7,6 - 7,4 (água rio Preto + 0,5 mg L<sup>-1</sup> ác. fúlvico) e pH 7,6 - 7,3 (água rio Preto + 5,0 mg L<sup>-1</sup> ác. fúlvico))

Neste experimento (Figura 17) pode-se observar que os perfis cinéticos de consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nos microcosmos que receberam adições de ácido fúlvico são semelhantes ao do experimento contendo apenas amostra de água do rio Preto. Para os experimentos que receberam adição de piruvato de sódio ficou evidente que quanto maior a concentração desse mais rápido foi o consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A concentração de Fe total nas amostras de água empregadas nesses experimentos foi menor que 10 µg L<sup>-1</sup>, o que sugere que uma das vias de consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seja oriundo de processos de fotodegradação, no entanto pouca ênfase deve ser dada ao efeito do ferro nesse processo, via reação de Fenton, sendo que outras vias podem ter maior participação (SOUTHWORTH; VOELKER, 2003).

Foram aplicados os tratamentos matemáticos para determinação das ordens de reação (Figura 18) e das constantes  $k_{H_2O_2}$ , a partir das quais foram calculados os respectivos  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) apresentados na Tabela 6.



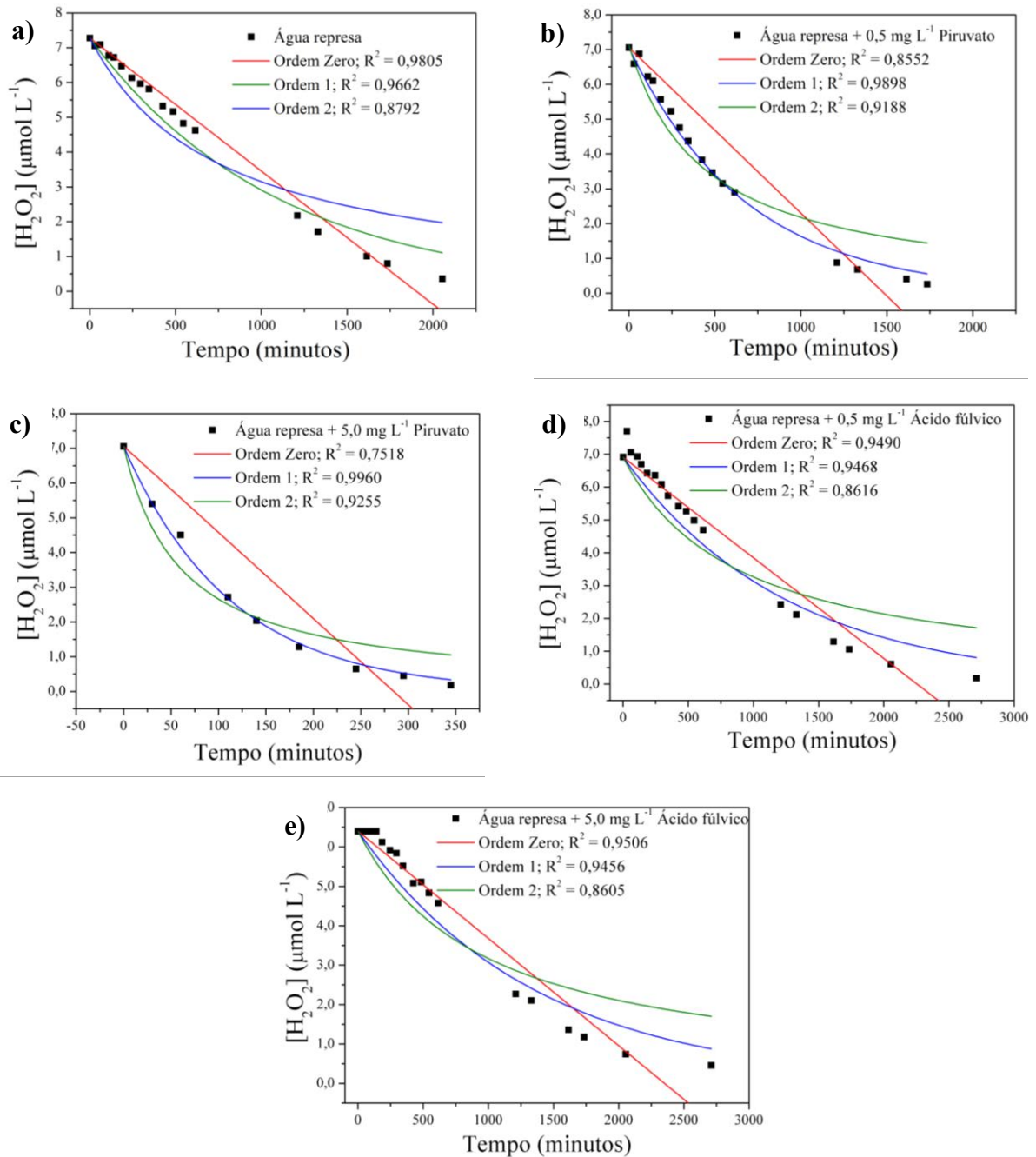


Figura 18 - Aplicação das equações de ordem de reação: ordem zero, ordem 1 e ordem 2 para os microcosmos contendo água do rio Preto e diferentes concentrações de modelos de MO: a) apenas água rio Preto; b) adição de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de COT em piruvato de sódio; c) adição de 5,0 mg L<sup>-1</sup> de COT em piruvato de sódio; d) adição de 0,5 mg L<sup>-1</sup> COT em ácido fúlvico e e) adição de 5,0 mg L<sup>-1</sup> de COT em ácido fúlvico.

Tabela 6 - Valores de  $t_{1/2}$ , ordem de reação e  $k_{H_2O_2}$  obtidos da cinética de consumo de  $H_2O_2$  para amostras do experimento em microcosmos realizado com amostras de água do rio Preto e adição de ácido fúlvico e piruvato de sódio como modelos de matéria orgânica.

Microcosmos	$t_{1/2} (H_2O_2)$ (horas)	Ordem de reação	$k_{H_2O_2}$
Água rio Preto	15,8	Ordem Zero	$3,8 \times 10^{-3} \mu\text{mol}^{-1} \text{min}^{-1}$
Água rio Preto + 0,5 mg L <sup>-1</sup> piruvato	7,9	Ordem 1	$1,5 \times 10^{-3} \text{min}^{-1}$
Água rio Preto + 5,0 mg L <sup>-1</sup> piruvato	1,3	Ordem 1	$8,8 \times 10^{-3} \text{min}^{-1}$
Água rio Preto + 0,5 mg L <sup>-1</sup> ác. fúlvico	18,9	Ordem Zero	$3,1 \times 10^{-3} \mu\text{mol}^{-1} \text{min}^{-1}$
Água rio Preto + 5,0 mg L <sup>-1</sup> ác. fúlvico	19,6	Ordem Zero	$2,7 \times 10^{-3} \mu\text{mol}^{-1} \text{min}^{-1}$

\*erro associado aos  $t_{1/2} (H_2O_2)$  (triplicata) 14%.

Para os microcosmos que receberam a adição de 0,5 e 5,0 mg L<sup>-1</sup> de piruvato de sódio a cinética de consumo de  $H_2O_2$  foi mais rápida em relação a ao consumo observado para o microcosmo contendo apenas amostra de água do rio Preto (Figura 18). Para estes microcosmos, a ordem 1 foi a melhor se ajustou ao comportamento de consumo de  $H_2O_2$ . Os valores das  $k_{H_2O_2}$  foram de 1,5 e  $8,8 \times 10^{-3} \text{min}^{-1}$ , respectivamente, para os microcosmos contendo 0,5 e 5,0 mg L<sup>-1</sup> de COT em piruvato de sódio adicionados a amostras de água do rio Preto. Os  $t_{1/2} (H_2O_2)$  (7,9 e 1,3 horas) foram menores do que o resultado obtido para o microcosmo contendo apenas água do rio Preto, reforçando a hipótese de que o piruvato de sódio é um bom modelo de MOL.

Para os experimentos em que foram adicionados diferentes concentrações de ácido fúlvico, destaca-se que o consumo de  $H_2O_2$  não foi influenciado pela presença do mesmo, visto que os perfis de consumo de  $H_2O_2$  para o microcosmo contendo apenas água do rio Preto em comparação aos microcosmos contendo adição de 0,5 ou 5,0 mg L<sup>-1</sup> de ácido fúlvico foram semelhantes. Nesses as cinéticas de consumo foram definidas como ordem zero. As  $k_{H_2O_2}$  para esses três microcosmos também corroboraram com esta observação (Tabela 6), bem como os  $t_{1/2} (H_2O_2)$  permaneceram constantes independente do aumento da concentração de ácido fúlvico utilizado. Os  $t_{1/2} (H_2O_2)$  obtidos (18,9 e 19,6 horas) foram maiores que aquele para o microcosmo contendo apenas água do rio Preto (15,8 horas) e menores do que do controle contendo apenas  $H_2O_2$ . Vale destacar que o decaimento foi menos intenso, indicando a presença de MOR. A quantificação direta da MOR não foi possível tendo em vista o já apresentado nos itens 5.2.1 e 5.2.2, uma vez que as meia-vidas do  $H_2O_2$  não diferiram com a variação da concentração. Estes resultados sugerem que o rio Preto possui MOR. Vale destacar que o efeito da ação de micro-organismos foi desconsiderado nesse experimento uma

vez que as amostras de água do rio Preto foram submetidas a filtração anterior ao experimento (membrana 0,45 µm), para minimizar o efeito da presença de micro-organismos.

Nesse contexto, visando alcançar o objetivo desse trabalho que é propor um método para a quantificação de MOL, com as meias-vidas obtidas para o experimento contendo piruvato de sódio (item 5.2.3) verificou-se qual o melhor modelo matemático para a curva analítica, nas concentrações 0,5; 1,0; 3,0 e 5,0 mg L<sup>-1</sup> em COT.

Das diversas tentativas a equação logarítmica (Equação 7) foi a que melhor se ajustou aos dados obtidos experimentalmente.

$$y = C + \frac{A}{10^{(x-B)}} \quad (7)$$

Em que:

y: meia-vida H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>;

x: concentração de MOL;

A: constante;

B: constante;

C: constante;

As constantes A e B são parâmetros dependentes entre si e estão relacionadas a inflexão da reta, ou seja, a velocidade da reação de consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A constante C representa o valor do  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) quando não existe mais a influência da concentração de MOL no consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

A Figura 19 ilustra a variação dos  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em função da concentração de COT lábil.

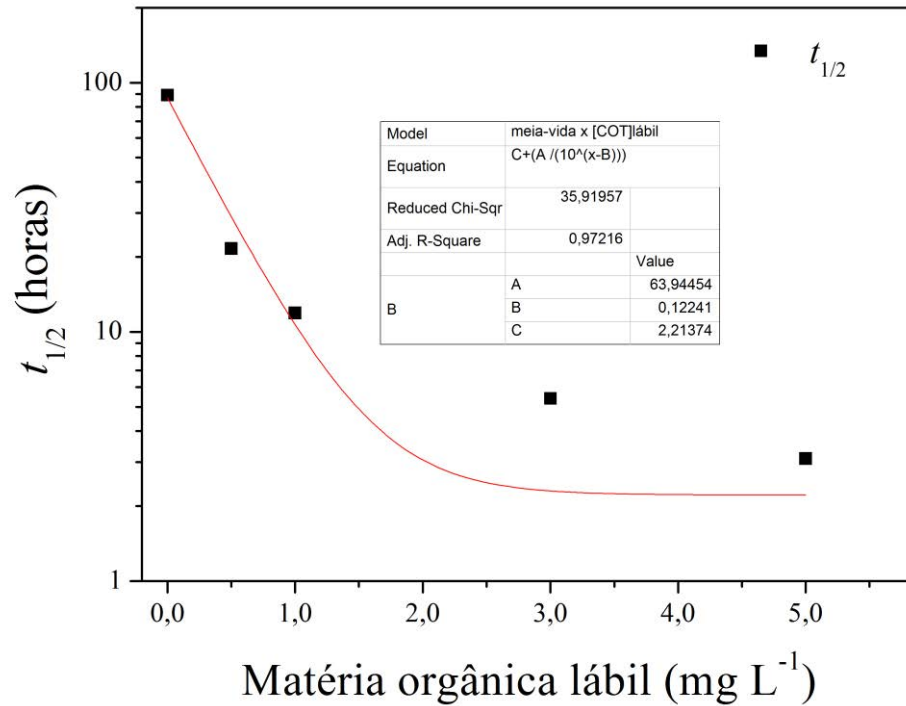


Figura 19 – Variação das meias-vidas do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em função da concentração de MOL: ajuste da equação 7 aos dados experimentais.

Na Figura 19 foi aplicada a escala logarítmica para os  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (eixo y), o que permite enfatizar que os dados experimentais se enquadram no modelo logarítmico. A regressão obtida para o ajuste dos dados aplicando a Equação 7 foi de 97 %. Os valores dos parâmetros A, B e C foram 63,9; 0,1 e 2,2, respectivamente.

Desta forma, para o experimento realizado com amostras de água do rio Preto (Figura 17), bem como das amostras coletadas nos meses de maior e menor pluviosidade acumulada (Figura 20), foi determinada a concentração de MOL, tendo como base a Equação 8.

$$y = 2,2 + \frac{63,9}{10^{(x-0,1)}} \quad (8)$$

Em que:

y: meia-vida H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

x: [MOL]

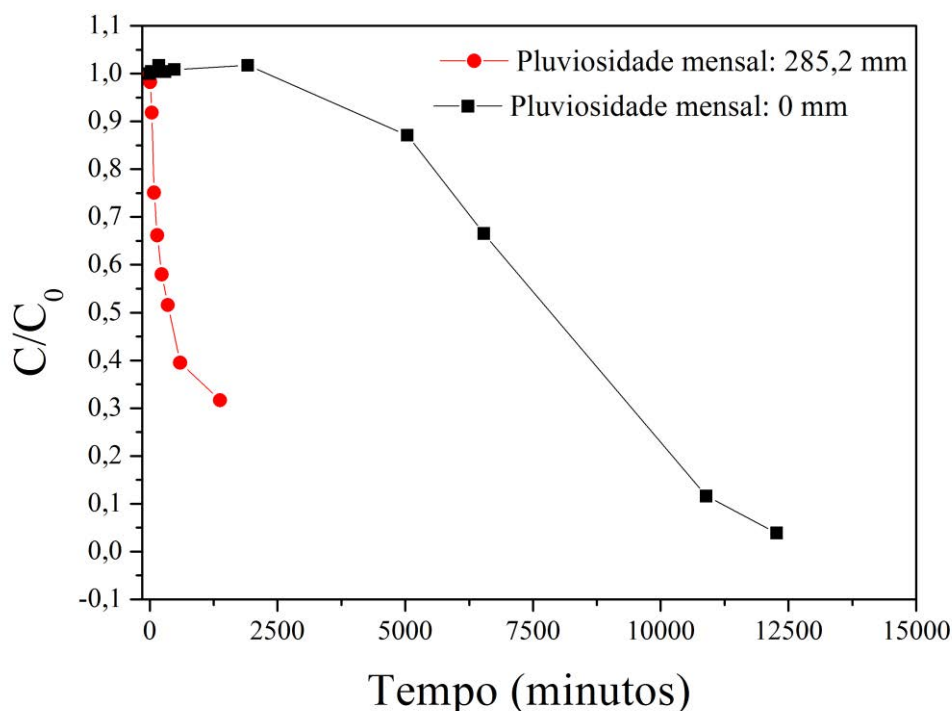


Figura 20 - Variação da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em função do tempo, para experimentos em microcosmos realizado com água superficial do rio Preto, em períodos de menor e maior pluviosidade. (Condições experimentais: período maior pluviosidade: pH 7,0; COT: 3,4 mg L<sup>-1</sup> e período de menor pluviosidade: pH 7,1; COT: 1,1 mg L<sup>-1</sup>).

A concentração de MOL foi determinada empregando a equação 8, sendo y referente aos valores de  $t_{1/2}$  (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), conforme mostrados na Tabela 7.

Tabela 7- Valores de  $t_{1/2}$ , concentração de MOL obtidos da cinética de consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para amostras do experimento em microcosmos realizado com amostras de água do rio Preto em período chuvoso e de seca.

Amostras de água do rio Preto - Pluviosidade acumulada mensal	$t_{1/2}$ (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) (horas)	[MOL] (mg L <sup>-1</sup> )	[COT] (mg L <sup>-1</sup> )
89 mm	15,8	0,7	-
285,2 mm	6,0	1,1	3,4
0 mm	39,0	0,3	1,1

(-) valor não determinado

A concentração de MOL nas amostras do rio Preto coletada no mês com pluviosidade mensal de 285,2 mm foi de 1,1 mg L<sup>-1</sup>, o que corresponde a 32,4% da concentração de COT presente na amostra. Este valor é 3,6 vezes maior que aquele encontrado para o rio Preto no

mês de baixa pluviosidade (0 mm) ( $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  de MOL). Vale destacar que no mês anterior ao período de estiagem ocorreram eventos de chuva, o que justifica a hipótese apresentada neste trabalho de que as concentrações de MOL não diferissem tanto entre os períodos para o referido corpo aquático. A presença de MOL é associada ao processo de escoamento superficial dos solos. Para a amostra coletada no mesmo corpo aquático, no mês com pluviosidade mensal de 89 mm, o valor de MOL foi de  $0,7 \text{ mg L}^{-1}$ . Apesar de não ser possível a quantificação de MOR diretamente, a mesma pode ser inferida por meio da Equação 9. Nesse conteúdo, para o mês de pluviosidade acumulada de 285,2 mm e 0 mm, a concentração de MOR seria de 2,3 e  $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente.

$$\text{MO} = \text{MOL} + \text{MOR} \quad (9)$$

Em que:

MO: representa a quantidade de carbono orgânico total presente na amostra;

Para as amostras de água natural do rio Preto é possível inferir que esta tenha maior presença de MOR, visto que para amostra (pluviosidade 0 mm) a concentração de MOL representa 27,3% da [COT]. Estes resultados corroboram com os dados de caracterização de substância húmicas aquáticas obtidas para o mesmo corpo aquático. No rio Preto é observada a existência de frações húmica e fúlvica, com uma predominância de componentes com maior aromaticidade tendo sido associado as atividades agrícolas da região (MELO et al., 2012; TADINI; MOREIRA; BISINOTI, 2014).

A determinação da concentração de MOL em amostras de água natural proposta nesse trabalho pode ser realizada após a coleta da mesma, seguida de filtração, e estudo da cinética de consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  adicionado para perfazer uma concentração final de  $7,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . A curva analítica deverá ser preparada da mesma maneira com diferentes concentrações de piruvato de sódio. Com relação a MOR é possível inferir sua concentração com base na equação 9.

#### 5.4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que a lignina e o ácido fúlvico mostraram-se adequados para serem utilizados como compostos modelos de MOR, visto que as cinéticas de consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foram semelhantes aquelas obtidas para o grupo controle, indicando que o mesmo não participa da oxidação destes compostos. Infere-se ainda que o piruvato de sódio

mostrou-se adequado para ser empregado como modelo de MOL, sendo que as cinéticas de consumo foram mais rápidas quanto maior a concentração do composto modelo e quando comparadas ao grupo controle. Este resultado confirmou a hipótese de que o  $\text{H}_2\text{O}_2$  é consumido na oxidação do piruvato. No entanto, o ácido ascórbico não se ajustou como um bom modelo para inferir a presença de MOL, pois apresentou problemas de autoprodução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  nos primeiros 1300 minutos do estudo cinético. Quando se aplicou a cinética de consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em amostra de água superficial enriquecida com ácido fúlvico e piruvato de sódio, bem como as amostras obtidas em meses com diferentes pluviosidades foi possível inferir a presença de MOL confirmando a hipótese proposta neste trabalho.

Por fim, foi proposto um método para determinação da concentração de MOL em amostras de águas naturais baseado em uma equação logarítmica, no qual o padrão é o piruvato de sódio; sendo ainda possível inferir a concentração de MOR pela diferença entre a concentração de carbono orgânico total e de MOL, ou ainda inferir sua presença comparando a meia-vida de consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  empregando o ácido fúlvico ou lignina como padrões.

### Referências Bibliográficas

ABATE, Gilberto; *Isolamento, Purificação e Estudo de Complexação de Substâncias Húmicas*. 1998. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Química analítica), Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 1998.

AZEVEDO, J. C. R.; NOZAKI, J; Análise de fluorescência de substâncias húmicas extraídas da água, solo e sedimento da Lagoa dos Patos - MS, *Química Nova*, v. 31, n. 6, p. 1324-1329, 2008.

BADER, H.; SIURZENEGGER, V.; HOIGNÉ, J. Photometric method for the determination of low concentrations of hydrogen peroxide by the peroxidase catalyzed oxidation of N, N-diethyl-1,4-phenylenediamine (DPD). *Water Research*, v. 22, n. 9, p. 1109-1115, 1988.

BAHRI, H. et al. Lignin degradation during a laboratory incubation followed by <sup>13</sup>C isotope analysis. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 40, p. 1916-1922, 2008.

BISINOTI, Márcia Cristina. *Biogeoquímica aquática do mercúrio orgânico na Bacia do Rio Negro, Amazônia*. 2005. 169f. Tese (Doutorado em Ciências na área de Química analítica). Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

CALZA, P.; VIONE, D.; MINERO, C. The role of humic and fulvic acids in the phototransformation of phenolic compounds in seawater. *Science of the Total Environment*, v. 49, p. 411-418, 2014.

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

CLARK, C.; D.; BRUYN, W.; JONES, J.; G. Photoproduction of hydrogen peroxide in aqueous solution from model compounds for chromophoric dissolved organic matter (CDOM). *Marine Pollution Bulletin*, v. 79, p. 54-60, 2014.

COOPER, W. J. et al. Photochemical formation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in natural waters exposed to sunlight. *Environmental Science & Technology*, v. 22, p. 1156-1160, 1988.

CORY, R. M.; MCKNIGHT, D. M. Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology*, v. 39, n. 21, p. 8142-8149, 2005.

DOLGONOSOV, B. M.; GUBERNATOROVA, T. N. Modeling the Biodegradation of Multicomponent Organic Matter in an Aquatic Environment: 1. Methodology. *Water Resources*, v. 37, n. 3, p. 311 – 319, 2010.

FILELLA, M. Freshwaters: which NOM matters? *Environmental Chemistry Letters*, v. 7, p.21-35, 2009.

GANDOIS, L. et al. Origin, composition, and transformation of dissolved organic matter in tropical peatlands. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 137, p. 35-47, 2014.

GAO, H.; ZEPP, R. G. Factors influencing photoreactions of dissolved organic matter in a coastal river of the Southeastern United States. *Environmental Science & Technology*, v. 32, p. 2940-2946, 1998.



GARG, S.; ROSE, A. L.; WAITE, T. D. Photochemical production of superoxide and hydrogen peroxide from natural organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 75 p. 4310-4320, 2011.

GLEIXNER, G. et al. Plant compounds and their turnover and stability as soil organic matter. In: \_\_\_\_\_. Schulze, E.-D. et. al. (Eds.), *Global Biogeochemical Cycles in the Climate System*. Academic Press, p. 201-215, 2001.

GRASSI, Marco Tadeu. *Fotoprodução de peróxido de hidrogênio em águas naturais sob ação da luz solar*. 1994. 105f. Tese (Doutorado). Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

GUNZ; D. W.; HOFFMANN, M. R. Atmospheric chemistry of peroxides: a review. *Atmospheric Environment*, v. 24A, p. 1601-1633, 1990.

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, 267-278, 2010.

KLOTZBÜCHER, T. *Fate of lignin in forest soils*. 2011. 163f. Tese (Doutorado). Institute for Biodiversity and Ecosystem Dynamics (IBED), University of Amsterdam, Amsterdam, 2011.

KÖGEL-KNABNER, I. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 34, n. 2, p. 139-162, 2002.

LEENHEER, J. A.; CROUÉ, J-P. Characterizing dissolved aquatic organic matter. *Environmental Science & Technology*, v. 37, p. 18A-26A, 2003.

LEVINE, I. N. *Physical Chemistry*. 6. ed. New York: McGraw-Hill Science, 2008.

LI, Y. et al. Interactive enhancements of ascorbic acid and iron in hydroxyl radical generation in quinone redox cycling. *Environmental Science & Technology*, v. 46, p. 10302-10309, 2012.

LIANG, X.; BUTLER, E. C. Effects of natural organic matter model compounds on the transformation of carbon tetrachloride by chloride green rust. *Water Research*, v. 44, p. 2125-2132, 2010.

LINDELL, M.; GRANÉLI, W.; TRANVIK, L. J. Enhanced bacterial growth in response to photochemical transformation of dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography*, v. 40, p. 195-199, 1995.

MALCOLM, R.L.; MCKNIGHT, D.M.; AVERETT, R. C. History and description of the Okefenokee Swamp origin of the Suwannee river. In: \_\_\_\_\_. AVERETT, R. C. et al. (Eds) *Humic substances in the Suwannee river, Georgia: Interactions, properties, and proposed structures*. United States Geological Survey Water-Supply Paper 2373, 1995.

MATTOS, I. L. et al. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação. *Química Nova*, v. 26, p. 337- 380, 2003.

MELO, C. A. et al. Solar Radiation Effect on the Complexation Capacity of Aquatic Humic Substances with Metals. *Journal Brazilian Chemistry 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, p.1317-1324, 1997.

MILLER, W. L.; KESTER, D. R. Peroxide variations in the Sargasso Sea. *Marine Chemistry*, v. 48, p. 17-29, 1994.

MORAN, M. A.; ZEPP, R. G. Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography*, v. 42, n. 6, p. 1307-1316, 1997.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M.V. *Manual de soluções, reagentes e solventes: Padronização, preparação e purificação*. São Paulo: Edgar Blücher, 2001.

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

O'SULLIVAN, D. W. et al. Photochemical production of hydrogen peroxide and methylhydroperoxide in coastal waters. *Marine Chemistry*, v. 97, p. 14-33, 2005.

OLIVEIRA, Luciana Camargo de. *Substâncias Húmicas Aquáticas do Rio Negro-AM: Influência da Sazonalidade nas Características Estruturais, Distribuição de Carbono e Capacidade de Complexação por Íons Hg (II) em Função do Tamanho Molecular*. 2007. 98f. Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

ORTIZ, V.; RUBIO, M. A.; LISSI, E. A. Hydrogen peroxide deposition and decomposition in rain and dew waters. *Atmosphere Environment*, v. 34, p. 1139-1146, 2000.

PAUL, A. et al. Photogeneration of singlet oxygen by humic substances: comparison of humic substances of aquatic and terrestrial origin. *Photochemical and Photobiological Sciences*, v. 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.

PEÑA, R. M. et al. Measurements and analysis of hydrogen peroxide rainwater levels in a Northwest region of Spain. *Atmosphere Environment*, v. 35, p. 209-219, 2001.

PETASNE, R. G.; ZIKA, R. G. Hydrogen peroxide lifetimes in south Florida coastal and offshore waters. *Marine Chemistry*, v. 56, p. 215-225, 1997.

POMPÊO M. L. M. (Ed). Aspectos do processo de decomposição ecossistemas aquáticos continentais. In: \_\_\_\_\_. *Perspectivas da Limnologia no Brasil*, São Luís: União, 1999.

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.

ROCHA, J.C.; ROSA, A. H.; *Substâncias Húmicas Aquáticas: interações com espécies metálicas*. São Paulo: UNESP, 2003.

ROCHA, J.C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A. *Introdução a Química Ambiental*. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

RODRÍGUEZ, N.C. et al. Antioxidant activity of fulvic acid: A living matter-derived bioactive compound. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. v. 9, p. 123-127, 2011.

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.

ROSA, A. H. 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.

RUSAK, S. A. et al. Distributions of hydrogen peroxide and superoxide in seawater east of New Zealand. *Marine Chemistry*, v. 127, p. 155-169, 2011.

SCHEFFER, E. W; SODRÉ, F. F; GRASSI, M. T; Fatores que governam a especiação do cobre em ambientes aquáticos urbanos: evidências da contribuição de sulfetos solúveis. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p.332-338, 2007.

SCULLY, N. M. et al. Hydrogen peroxide formation: The interaction of ultraviolet radiation and dissolved organic carbon in lake waters along a 43-75°N gradient. *Limnology and Oceanography*, v. 41, p. 540-548, 1996.

STUMM, W.; MORGAN, J.J. *Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters*. 3. ed. New York: John Wiley, 1995.

SOUTHWORTH, B. A.; VOELKER, B. M. Hydroxyl Radical Production via the Photo-Fenton Reaction in the Presence of Fulvic Acid. *Environmental Science & Technology*, v. 37, p. 1130-1136, 2003.

TADINI, A. M.; MOREIRA, A. B.; BISINOTI, M. C. Fractionation of aquatic humic substances and dynamic of chromium species in an aquatic body influenced by sugarcane cultivation. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 25, n. 1, p. 119-125, 2014.

THEVENOT, M.; DIGNAC, M-F.; RUMPEL, C. Fate of lignins in soils: A review. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 42, p. 1200-1211, 2010.

TONIETTO, Alessandra Emanuele. *Especiação Química de Cobre e Zinco nas Águas do Reservatório do Iraí: efeitos da Matéria Orgânica e Interação com Microalgas*. 2006. 162f. Dissertação (Mestrado em Química). Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, 2006.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Method 200.9: Determination of Trace Elements by Stabilized Temperature Graphite Furnace Atomic Absorption, 1994. Acessado em 27/11/2014. Disponível em: [http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2007\\_07\\_10\\_methods\\_method\\_200\\_9.pdf](http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2007_07_10_methods_method_200_9.pdf)

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, p. 1009-1031, 2011.

VANLOON, G. W.; DUFFY, S. J. Organic matter in water. In: \_\_\_\_\_. *Environmental Chemistry: a global perspective*. 2. ed. Oxford, 2005.

VARMA, S. D.; DEVAMANOCHARAN, P. S.; MORRIS, S. M. Photoinduction of cataracts in rat lens in vitro. Preventive effect of pyruvate. *Experimental Eye Research*, v. 50, p.805-812, 1990.

VERMILYEA; A. W.; VOELKER, B. M. Photo-Fenton reaction at near neutral pH. *Environmental Science & Technology*, v. 43, p. 6927-6933, 2009.

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 & Technology*, v. 41, n. 13, p. 4640-4646, 2007.

WELZ, B.; SCHLEMMER, G.; MUDAKAVI, J.R. Palladium Nitrate - Magnesium nitrate modifier for graphite furnace atomic absorption spectrometry Part 2. Determination of arsenic, cadmium, copper, manganese, lead, antimony, selenium and thallium in water. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 3, p. 695-701, 1988.

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.

WHITE, E. M; VAUGHAN, P. P; ZEPP, R. G. Role of the photo-Fenton reaction in the production of hydroxyl radicals and photobleaching of colored dissolved organic matter in a coastal river of the southeastern United States. *Aquatic Sciences*, v. 65, p. 402-414, 2003.

WILSON, C. L. et al. Hydrogen Peroxide Cycling in Surface Geothermal Waters of Yellowstone National Park. *Environmental Science & 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. *Journal of Environmental Sciences*, v. 25, n. 2, p. 237-245, 2013.

ZHANG, Y.; DEL VECCHIO, R.; BLOUGH, N. V. Investigating the Mechanism of Hydrogen Peroxide Photoproduction by Humic Substances. *Environmental Science & Technology*, v. 46, p. 11836-11843, 2012.

ZEPP, R. G.; FAUST, B. C.; HOIGNÉ, J. Hydroxyl radical formation in aqueous reactions (pH 3-8) of Iron(II) with hydrogen peroxide: the photo-Fenton reaction. *Environmental Science & Technology*, v. 26, p. 313-319, 1992.