**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**ISOLAMENTO, PURIFICAÇÃO E ESTUDOS DE
COMPLEXAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS**

**GILBERTO ABATE
Dissertação de Mestrado**

Orientador: Prof. Dr. JORGE CÉSAR MASINI

**SÃO PAULO
1998**

"Isolamento, Purificação e Estudos de Complexação de Substâncias Húmicas".

GILBERTO ABATE

Dissertação de Mestrado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências - Área: Química Analítica.

Aprovado por:

Prof. Dr. JORGE CÉSAR MASINI
IQ - USP
(Orientador e Presidente)

Prof. Dr. JAIM LICHTIG
IQ - USP

Prof. Dr. MARCIO ANTONIO AUGELLI
IQ – UNESP - Guaratinguetá

SÃO PAULO
14 DE DEZEMBRO DE 1998

Dedico essa dissertação à:

meus pais, pela minha iniciação nos estudos, e percepção da vocação à carreira Científica desde os 8 anos de idade;

minha esposa Bete, pelo amor e constante apoio em minha vida profissional, incentivo ao início desse trabalho e compreensão nos momentos mais difíceis;

Prof. Jorge C. Masini, pela amizade, incentivo e confiança em meu trabalho, e por sua valiosa contribuição Científica, que muito tem me acrescentado.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Jivaldo do Rosário Matos, por me apoiar no início das atividades no Programa de Mestrado;

À Prof^a. Dra. Sílvia H. P. Serrano, pela confiança desde o início do Mestrado demonstrada nas conversas de corredor, e pela boa disposição em aprimorar meus conhecimentos de Química Analítica;

Ao Prof. Dr. Lúcio Angnes, pela importante sugestão com relação aos eletrodos de amálgama, que muito contribuiu para agilizar e melhorar a realização desse trabalho;

Ao Prof. Dr. Jaím Lichtig, por sua conduta e bom humor que gera um constante entusiasmo pela pesquisa;

Aos amigos e Técnicos da Química Analítica, que muito colaboraram no andamento desse trabalho com as mais diversas formas de contribuições;

À Moema e Adriana pela constante disposição e pelo auxílio nas diversas pesquisas Bibliográficas;

Ao CNPq pela concessão da Bolsa de Estudo.

RESUMO

Isolamento, Purificação e Estudos de Complexação de Substâncias Húmicas

No presente trabalho focalizou-se a atenção nas propriedades de substâncias húmicas, em particular a fração de ácido húmico (AH), o qual foi obtido de duas fontes, sendo uma comercial e outra isolada de sedimentos do Rio Tietê, coletados no reservatório de Barra Bonita (SP). O isolamento do AH do sedimento foi realizado segundo o procedimento proposto pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (S.I.S.H.).

Ambas amostras foram caracterizadas em paralelo através de análise elementar, absorção molecular no visível (razão E4/E6) e infravermelho e teores de cinzas.

As propriedades ácido-base das amostras foram estudadas por titulação potenciométrica, adotando-se o modelo de distribuição de sítios discretos, empregando-se funções de Gran modificadas para tratamento dos dados. Foi possível caracterizar seis classes de grupos tituláveis em força iônica 0,1 (NaCl), com pKa entre 3 e 10. Constatou-se maior contribuição de grupos carboxílicos (grupos titulados com pKa < 7) do que fenólicos e amínicos em ambas amostras. Os resultados foram comparados com os métodos clássicos do acetato de cálcio e barita, assim como por titulação condutométrica.

Estudou-se as propriedades de complexação dos AHs com íons Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+} através de titulação potenciométrica com eletrodo íon-seletivo de membrana sólida para o Cu^{2+} e de amálgama para os demais íons. Constatou-se a seguinte ordem de estabilidade para os complexos formados com ambos AHs: $\log K \text{ AH-Cu} > \log K \text{ AH-Pb} > \log K \text{ AH-Cd} \cong \log K \text{ AH-Zn}$. Quanto a capacidade de complexação (C_c), observou-se que $C_c \text{ Pb} > C_c \text{ Cu} > C_c \text{ Cd} \cong C_c \text{ Zn}$.

ABSTRACT

Isolation, Purification and Complexation Studies of Humic Substances

The aim of the present work was to study the humic substances, with emphasis to the humic acid (HA) fraction isolated from sediments of the Tietê River, collected at the Barra Bonita reservoir. The extraction of the humic acid was performed according to the procedure proposed by the International Humic Substances Society (I.H.S.S.). A commercial humic acid from Aldrich was studied in parallel.

Both HA samples were characterized by elemental analysis, molecular absorption in the visible (E4/E6 ratio) and infrared regions, and ash contents.

The acid-base properties of both humic acids were studied by potentiometric titrations, adopting the discrete site distribution model and the modified Gran functions for data fitting. Six classes of titratable groups were characterized in 0,1 mol.L⁻¹ (NaCl) ionic medium, with pK_a values between 3 and 10. The sum of carboxylic groups (titratable groups with pK_a < 7) was greater than the sum of aminic and phenolic groups for both humic acids. These results were compared with those provided by classical methods such as baryta adsorption and calcium acetate, as well as conductometric titration.

The complexing properties were studied with regard to Cu²⁺, Pb²⁺, Cd²⁺ and Zn²⁺, by potentiometric titration with solid membrane copper ion-selective electrode and amalgam electrodes for the other ions. The following stability was observed for both HAs complexes: log KHA-Cu > log KHA-Pb > log KHA-Cd $\cong$ log KHA-Zn. With regard the complexing capacity (C_c), the following order was observed: C_cPb > C_cCu > C_cCd $\cong$ C_cZn.

ÍNDICE

I - TEXTO

página

1 - INTRODUÇÃO.....	01
1.1 - Substâncias Húmicas - origem e aspectos gerais.....	01
1.2 - Interação com íons metálicos.....	03
1.2.1 - Cobre.....	07
1.2.2 - Zinco.....	07
1.2.3 - Chumbo.....	08
1.2.4 - Cádmio.....	09
1.3 - Formas de extração de substâncias húmicas.....	10
1.4 - Estruturas propostas para as substâncias húmicas.....	11
1.5 - Métodos de caracterização das substâncias húmicas.....	15
1.5.1 - Propriedades ácido-base.....	16
1.5.1.1 - Métodos clássicos.....	16
1.5.1.2 - Titulações potenciométricas.....	17
1.5.1.3 - Titulações condutométricas.....	18
1.5.2 - Métodos espectroscópicos.....	19
1.5.2.1 - Relação E4/E6.....	19
1.5.2.2 - Região do infravermelho (I.V.).....	20
1.5.3 - Capacidade complexante.....	22
1.5.3.1 - Potenciometria.....	22
1.5.3.1.1 - Eletrodo íon-seletivo de membrana sólida (E.I.S.).....	23
1.5.3.1.2 - Eletrodo de gota pendente de amálgama (E.G.P.A.).....	24
1.5.3.2 - Voltametria.....	25
1.5.3.3 - Técnicas não eletroquímicas.....	26
1.6 - Importância ambiental desse estudo.....	27

2 - OBJETIVOS.....	28
3 - MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 - Materiais e equipamentos.....	29
3.2 - Soluções e reagentes.....	30
3.2.1 - Soluções de NaOH.....	31
3.2.2 - Soluções de Ba(OH) ₂	31
3.2.3 - Soluções dos íons metálicos de Cu ²⁺ , Pb ²⁺ , Cd ²⁺ e Zn ²⁺ e NaNO ₃	32
3.3 - Amostras.....	33
3.4 - Vidraria.....	33
3.5 - Obtenção das amostras de ácido húmico (AH).....	34
3.5.1 - Método de extração proposto por Kim e colaboradores.....	34
3.5.2 - Método de extração proposto pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (S.I.S.H.).....	35
3.6 - Metodologias utilizadas.....	37
3.6.1 - Método da barita.....	37
3.6.2 - Método do acetato de cálcio.....	38
3.6.3 - Titulações condutométricas.....	39
3.6.4 - Titulações potenciométricas ácido-base.....	40
3.6.4.1 - Medida da concentração hidrogeniônica.....	40
3.6.4.2 - Titulação das amostras.....	48
3.6.5 - Relação E4/E6.....	50
3.6.6 - Absorção na região do infravermelho.....	51
3.6.7 - Estudos de complexação.....	51
3.6.7.1 - Preparo e acondicionamento dos amálgamas de Pb, Cd e Zn.....	52
3.6.7.2 - Titulações de complexação.....	53
3.6.8 - Estudo de adsorção de íons Cu ²⁺ no sedimento de Barra Bonita, utilizando eletrodo íon-seletivo (E.I.S.) e Espectrometria de Absorção Atômica (E.A.A.).....	57

3.6.9 - Determinação do teor de metais nas amostras do sedimento e nos ácidos húmicos por E.A.A.....	60
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
4.1 - Análise do húmus de minhoca e sedimento de Barra Bonita.....	62
4.2 - Ácidos húmicos (AH) extraídos do húmus de minhoca e da Aldrich, conforme 3.5.1.....	62
4.2.1 - Análise elementar e teor de cinzas.....	62
4.2.2 - Determinação da acidez de grupos - COOH e fenólicos, por diferentes métodos.....	63
4.2.2.1 - Titulações condutométricas.....	63
4.2.3 - Concentração dos sítios ionizáveis determinados por titulação potenciométrica.....	66
4.3 - Ácidos húmicos extraídos de Barra Bonita e Aldrich, conforme 3.5.2.....	68
4.3.1 - Análise elementar, teor de cinzas e relação E4/E6.....	68
4.3.2 - Determinação da estequiometria de sítios ionizáveis por titulação potenciométrica ácido-base.....	70
4.3.3 - Espectroscopia na região do infravermelho.....	77
4.3.4 - Estudos de complexação entre AHA e AHB com os íons metálicos Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+}	78
4.3.4.1 - Determinação dos desvios de $\text{E}^{0'}$ e S.....	78
4.3.4.2 - Tentativa de aumentar a faixa linear de resposta dos E.G.P.A.....	80
4.3.4.3 - Resultados obtidos do estudo de complexação.....	81
4.4 - Estudo de adsorção de íons Cu^{2+} no sedimento de Barra Bonita.....	91
5 - CONCLUSÕES.....	97

6 - PROPOSTAS FUTURAS.....	99
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100
8 - CURRICULUM VITAE.....	105

I I - FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de complexação de íons metálicos pela matéria orgânica em um ambiente aquático.....	05
Figura 2 - Modelo de estrutura proposto por Fuchs.....	13
Figura 3 - Modelo de estrutura proposto por Schnitzer.....	13
Figura 4 - Modelo de estrutura proposto por Dragunov.....	13
Figura 5 - Modelo de estrutura proposto por Kleinhempel.....	14
Figura 6 - Estrutura da lignina.....	14
Figura 7 - Determinação do volume de equivalência, utilizando funções de Gran II para obtenção de E^0, $E^{0'}$, jH, jOH e K_w.....	45
Figura 8 - Determinação dos parâmetros E^0 e jH, conforme Tabela 5.....	46
Figura 9 - Determinação dos parâmetros $E^{0'}$ e jOH, conforme Tabela 6.....	47
Figura 10 - Curva de titulação condutométrica para o AH extraído de húmus de minhoca.....	65
Figura 11 - Determinação do ponto de equivalência da titulação condutométrica para a amostra de húmus de minhoca, referente à Figura 10...	65
Figura 12 - Curva de titulação segmentada e linearizada, utilizando funções de Gran modificadas.....	74

Figura 13 - Espectro na região do IV para a amostra AHA.....	77
Figura 14 - Espectro na região do IV para a amostra AHB.....	78
Figura 15 - Curvas de calibração sem a correção proposta (A) e com a correção (B) para o íon Pb^{2+}	81
Figura 16 - Titulação de AHB com íons Cu^{2+}	85
Figura 17 - Gráfico de Scatchard referente à titulação conforme Figura 16.....	85
Figura 18 - Titulação de AHB com íons Pb^{2+}	86
Figura 19 - Gráfico de Scatchard referente à titulação conforme Figura 18.....	86
Figura 20 - Titulação de AHB com íons Cd^{2+}	87
Figura 21 - Gráfico de Scatchard referente à titulação conforme Figura 20.....	87
Figura 22 - Titulação de AHB com íons Zn^{2+}	88
Figura 23 - Gráfico de Scatchard referente à titulação conforme Figura 22.....	88
Figura 24 - Log 1K para amostras AHA e AHB com os 4 íons metálicos estudados	90
Figura 25 - 1C_c para amostras AHA e AHB com os 4 íons metálicos estudados.....	90
Figura 26 - Titulação da amostra A do sedimento de Barra Bonita.....	92
Figura 27 - Gráfico de Scatchard obtido pela titulação da amostra A por E.I.S.....	92
Figura 28 - Gráfico de Scatchard obtido pela titulação da amostra A por E.A.A.....	93

III- TABELAS

Tabela 1 - Abundância e capacidade de complexação das principais frações de um sedimento	04
Tabela 2 - Composição elementar das substâncias húmicas.....	15
Tabela 3 - Absorções mais importantes na região do I.V.....	21
Tabela 4 - Titulação de calibração para determinação de E^0 , $E^{0'}$, jH , jOH e K_w	44
Tabela 5 - Modelo de listagem emitida para determinação de E^0 e jH	46
Tabela 6 - Modelo de listagem emitida para determinação de $E^{0'}$ e jOH	47
Tabela 7 - Parâmetros operacionais, utilizados na determinação de metais no sedimento de Barra Bonita e nas amostras de AH, por E.A.A.....	61
Tabela 8 - Resultados dos teores de umidade, MOT e cinzas.....	62
Tabela 9 - Análise elementar e % de cinzas do AH de húmus de minhoca e Aldrich.....	63
Tabela 10 - Dados obtidos na titulação condutométrica da amostra de AH extraído de húmus de minhoca.....	64
Tabela 11 - Concentração de cada grupo de sítios ionizáveis (AH _n), em mmol.g ⁻¹ e valores de pKa.....	67
Tabela 12 - Resultados comparativos entre os métodos clássico, potenciométrico e condutométrico, para os AH Aldrich e húmus de minhoca....	67
Tabela 13 - Análise elementar, teor de cinzas e relação E4/E6.....	69
Tabela 14 - Modelo de listagem de conversão dos potenciais em p ^o H.....	71
Tabela 15 - Segmentação e linearização dos dados conforme Tabela 14, para obtenção das concentrações e pKa de cada grupo de sítios ionizáveis.....	72
Tabela 16 - Ácido húmico Aldrich.....	75
Tabela 17 - Ácido húmico extraído do sedimento de Barra Bonita.....	75
Tabela 18 - Somatória de grupos carboxílicos e fenólicos para ambas amostras, conforme Tabelas 16 e 17.....	75

Tabela 19 - Valores de E^0 , S, limites de detecção e de determinação obtidos para o estudo com íons Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+}	79
Tabela 20 - Valores obtidos de uma titulação de suspensão de AHB com íons Cu^{2+} , utilizando o programa Origin 3.5.....	83
Tabela 21 - jK e jC_c para as classes de sítios complexantes $j = 1$ e $j = 2$ para a amostra AHA.....	84
Tabela 22 - jK e jC_c para as classes de sítios complexantes $j = 1$ e $j = 2$ para a amostra AHB.....	84
Tabela 23 - Resultados do estudo de adsorção de íons Cu^{2+} para o sedimento de Barra Bonita por E.I.S.....	91
Tabela 24 - Resultados do estudo de adsorção de íons Cu^{2+} para o sedimento de Barra Bonita por E.A.A.....	93
Tabela 25 - Teores de íons metálicos e carbono do sedimento de Barra Bonita e nas amostras de ácido húmico.....	95

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Substâncias Húmicas - origem e aspectos gerais

Substâncias húmicas são os principais componentes provenientes da decomposição da matéria orgânica natural, cuja investigação iniciou-se há mais de 200 anos, sendo normalmente conhecida como húmus, equivalente à solo em Latim.

Um ponto relevante que levou ao início dos estudos sobre essas substâncias, foi a alta correlação entre a fertilidade do solo e a produtividade na agricultura, com a presença das mesmas. Esta alta correlação deve-se à fatores como: (1) - auxiliam na germinação de sementes devido a sua coloração escura, o que proporciona uma grande retenção de calor; (2) - aumentam a capacidade do solo em resistir a erosão, devido a alta retenção de água; (3) - servem como fonte de energia aos microrganismos do solo; (4) - proporcionam boa capacidade tamponante; (5) - combinam-se com argilas minerais, permitindo troca de gases, aumentando a permeabilidade do solo; (6) - adsorvem pesticidas; (7) - possuem habilidade para formar complexos estáveis com íons metálicos, devido ao alto teor de grupos funcionais, contendo oxigênio na forma de carboxilas, carbonilas, hidroxilas fenólicas, grupos quinônicos e, ainda, nitrogênio como grupamentos amínicos [1-3]. Esta última característica, talvez seja a mais importante no tocante ao estudo das substâncias húmicas, devido ao controle do transporte e biodisponibilidade de diversos íons metálicos em solos, águas e sedimentos.

A matéria orgânica natural (MON) pode ser dividida em duas partes: substâncias não húmicas e húmicas. As substâncias não húmicas, são aquelas que apresentam características físicas e químicas bem definidas, como por exemplo: carboidratos, proteínas, peptídeos, aminoácidos, ceras e ácidos orgânicos de baixa massa molar. Estes compostos apresentam curto tempo de vida no solo, devido a degradação por microrganismos.

Em contrapartida, as substâncias húmicas não apresentam características físicas e químicas bem definidas, pois sua origem é da degradação química e biológica de resíduos de plantas e animais e ainda, produto da atividade metabólica de microrganismos.

Diversos trabalhos tem sido propostos no sentido de elucidar a origem de tais substâncias, porém não parece possível identificar sua procedência e sim sugerir algumas possibilidades. Alguns dos estudos que podem ser citados são: (1) - a origem de tecidos lignificados de resíduos de plantas e a celulose ou açúcares simples como suas fontes [1]; (2) - Maillard [4] propôs que as substâncias húmicas eram produtos sintetizados de compostos produzidos durante a decomposição de restos de plantas, sendo que a existência do húmus na natureza era proveniente de reações puramente químicas, nas quais os microrganismos não possuíam um papel direto, exceto na geração de carboidratos e aminoácidos de proteínas; (3) - Steelink [5], cita que algumas possíveis fontes podem ser: a - lignina atuando como polifenóis para interagir com aminoácidos; b - polifenóis e aminoácidos ambos provenientes das folhas e do solo reagindo entre si; c - celulose, amido e açúcares utilizados por microrganismos; (4) - o conceito proposto por Trusov e revisto por Kononova [6], consiste da seguinte seqüência no processo de humificação: a - decomposição hidrolítica de restos de plantas com síntese de substâncias simples de natureza aromática, b - oxidação destas, por enzimas de microrganismos, formando hidroxiquinonas, c - condensação das quinonas em produtos de coloração escura (substâncias húmicas).

Alguns pesquisadores citam a lignina como precursor de ácidos húmicos, como Fuchs [7,8], Hobson e Page [9], e Waksman e colaboradores [10]. Alguns dos argumentos nos quais se baseia a teoria da lignina são: (1) - ácidos húmicos possuem propriedades similares a ligninas modificadas, como a presença de anéis aromáticos e grupos funcionais como hidroxilas fenólicas; (2) - o tratamento alcalino de ligninas geram substâncias de propriedades como cor e solubilidade similares aos ácidos húmicos; (3) - as ligninas são resistentes à microrganismos; (4) - compostos de ligninas e proteínas preparados em laboratório, possuem propriedades características de solos e ácidos húmicos de turfas.

Por outro lado, Wilson [11] cita que é pequena a possibilidade das substâncias húmicas derivarem diretamente da lignina, apesar desta, possuir uma importante contribuição em matéria orgânica proveniente de turfa.

Uma definição operacional normalmente encontrada na literatura [1,2] divide as frações húmicas em três partes: (1) - ácido húmico (AH), o qual é solúvel em álcali diluído e precipitado, após acidificação do extrato alcalino; (2) - ácido fúlvico (AF), que permanece em solução, após acidificação do extrato alcalino; (3) - humina, fração não extraída por ácidos ou álcalis diluídos.

1.2 - Interação com íons metálicos

A capacidade de interação com íons metálicos, talvez seja, a propriedade mais importante em relação as substâncias húmicas em solos, águas ou sedimentos, o que proporciona um campo muito atrativo para a pesquisa.

Durante muitos anos, apenas a concentração total de íons metálicos nos diferentes compartimentos ambientais era investigada. Atualmente, tem crescido muito o interesse em determinar as concentrações desses íons que possuem maior relevância ambiental em sua forma livre, como aquo-complexos. Íons como Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} e Hg^{2+} são de grande importância, devido as trocas iônicas que podem ocorrer entre estes e Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ e H^+ [12]. Deve-se salientar a importância de tais íons metálicos, devido a sua toxicidade (Pb^{2+} , Cd^{2+} , e Hg^{2+}) e/ou necessidade (Cu^{2+} e Zn^{2+}) em determinadas concentrações ao ser humano, animais e plantas.

Os íons ficam relativamente não disponíveis para as plantas, pois a maior parte destes, está agregada ao material argiloso, colóides de substâncias húmicas ou como precipitados [1].

No tocante a relação entre a formação de complexos e nutrição das plantas, os íons metálicos podem ser divididos em três grupos: [1]

⇒ aqueles essenciais às plantas, porém não se encontram na forma complexada, como Na^+ e K^+ , ou outros que se encontram fracamente complexados como Ca^{2+} e Mg^{2+} ;

⇒ íons essenciais às plantas até determinadas concentrações, que formam complexos com ligantes orgânicos. Pode-se citar aqueles da primeira série de transição como: Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} e Co^{2+} , bem como Mo^{n+} da segunda série de transição;

⇒ finalmente, íons sem função conhecida para as plantas, mas que são acumulativos no meio ambiente. Pode-se citar neste grupo, íons provenientes de Cd, Pb, Hg, Au, U, e V. O estudo de complexos, entre matéria orgânica e íons metálicos em solos, sedimentos e águas naturais, tem recebido maior atenção devido a introdução de espécies tóxicas no meio ambiente, tais como: Pb^{2+} , Cd^{2+} e Hg^{2+} , principalmente devido à ação do homem.

Em relação aos sedimentos de rios e lagos, pode-se dizer que sua capacidade de complexação e adsorção está intimamente ligada à presença de hidróxidos de ferro amorfo e matéria orgânica natural [13]. Apesar desses compostos, junto com outras frações, representarem apenas de 1,5 a 15% do total do sedimento, são capazes de recobrir a superfície de “suportes” inorgânicos como: CaCO_3 e argilas, possuindo uma grande área superficial. Ver Tabela 1.

Tabela 1 - Abundância e capacidade de complexação e/ou adsorção das principais frações de um sedimento [13].

Fração	C_c/C_a de cada fração isolada (mmol.g^{-1})	Abundância no sedimento (mg.g^{-1})	C_c/C_a de cada fração no sedimento ($\mu\text{mol.g}^{-1}$)
Fe(OH)_3 amorfo	6	2,2-30,8	3-42
óxido de ferro crist.	0,1	10-40	1-4
óxido de manganês	2,5	0,1-2	0,25-5
MON (extraível)	1,0	0,4-15	1,4-15
MON (não extraível)	0,1	2-60	0,2-6
TOTAL		15-150	6-72

MON = matéria orgânica natural; C_c = capacidade de complexação; C_a = capacidade de adsorção.

Os sedimentos, podem ser considerados como agentes carregadores ou como possível fonte de contaminantes em sistemas aquáticos, possuindo efeitos biológicos de materiais descartados de fontes agrícolas [12]. Íons metálicos, não fixos ao sedimento, podem ser reciclados por via biológica ou por agentes químicos, ambos presentes na água ou no próprio sedimento.

Deve-se ter em mente que nos rios, lagos ou reservatórios de água, temos três fases que podem propiciar a interação com os íons metálicos: a matéria orgânica dissolvida (MOD), a matéria orgânica em suspensão (MOS) e a matéria orgânica do fundo (MOF). A MOS e MOF, normalmente se encontram associadas ao material inorgânico em suspensão, ou compactado no fundo. Em qualquer que seja a fase, o tipo de reação é semelhante, pois os sítios de complexação são similares. A Figura 1 ilustra a complexação de íons metálicos, mostrando as 3 fases. A ordem de afinidade dos grupos funcionais por íons metálicos é a seguinte: [14].

Figura 1 - Diagrama de complexação de íons metálicos pela matéria orgânica em um ambiente aquático [14].

Devido à complexidade estrutural das substâncias húmicas, os estudos sobre suas interações com íons metálicos são de difícil interpretação. Três aspectos devem ser considerados: o tipo de medida para as constantes de ligação, a força dessas constantes, e a natureza dos sítios envolvidos na complexação.

A constante de estabilidade deriva da seguinte reação:

M = íon metálico;

A = ligante;

a e b = coeficientes estequiométricos da reação.

A constante de formação K é determinada pela seguinte relação:

$$K = [MaAb] / [M]^a \cdot [A]^b \quad (2)$$

Essa constante de estabilidade ou de formação, é investigada através da determinação das concentrações do íon metálico livre, do ligante e do íon complexado pelo ligante. Em geral, essa constante é chamada de constante de estabilidade condicional, pois seu valor é condicionado aos valores de pH, força iônica e a mistura dos ligantes húmicos. Os estudos pertinentes à complexação, contribuem muito para o entendimento do papel da matéria orgânica em muitos sistemas naturais [14].

Por exemplo, em águas de coloração mais escura, onde as substâncias húmicas estão presentes entre 10 e 30 mg.L⁻¹, pode haver de 10 a 30 mmol.L⁻¹ de íons metálicos ligados à sítios complexantes, considerando íons como Fe³⁺ e Cu²⁺. Tais sítios, são uma função da quantidade e da natureza das substâncias húmicas presentes na água. Dessa forma, a natureza dos sítios é uma importante questão em química ambiental, não só em águas como nos demais ambientes [14].

É importante conhecer algumas características dos metais abordados no presente trabalho, além do escopo analítico, ou seja, do estudo efetuado no sentido de determinar as constantes de estabilidade condicionais e a capacidade

de complexação entre as classes de sítios disponíveis e os íons metálicos. Seguem algumas informações sobre esses metais.

1.2.1 - Cobre [12]

Trata-se de um metal largamente distribuído no meio ambiente, sendo facilmente complexado, e participando em muitos processos metabólicos nos organismos vivos, envolvendo em alguns casos o potencial redox de Cu(II)/Cu(I) . O mecanismo de formação de complexos é essencial, abrangendo proteínas e enzimas. Deficiências genéticas ou adquiridas ao longo da vida com relação a esse mecanismo, podem causar falta ou excesso de íons cobre, o que pode ocasionar efeitos tóxicos.

É encontrado no meio ambiente, devido a sua presença em minérios, tais como: Cu_2S , CuS , CuO , etc., além de descartes industriais, ou de sua utilização como algicida e fungicida, o que acaba ocasionando a poluição do meio ambiente. O Cu^{2+} é um dos íons de metais pesados essenciais às plantas, animais e seres humanos, sendo recomendado um consumo diário de 2,0-3,0 mg na alimentação de adultos. Solos para a agricultura, contendo 100 mg.kg^{-1} ou um limite de 2-3 kg de Cu^{2+} por hectare, por ano, são considerados adequados. Em águas naturais não contaminadas, possui concentração média de $3 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ [15].

Os complexos formados entre Cu^{2+} com humatos e fulvatos, possuem constantes de estabilidade condicionais, usualmente entre 10^8 e 10^{10} , porém são praticamente destruídos em pH menor que 4 ou por prolongada exposição à radiação UV [15].

1.2.2 - Zinco [12]

Assim como o Cu, o Zn possui um importante papel como elemento essencial aos sistemas vivos, desde as bactérias até os seres humanos,

possuindo importância na interação com traços de outros elementos essenciais e não essenciais.

Possui baixa toxicidade, no entanto, descartes industriais podem ser prejudiciais, nem tanto pelo Zn, mas pelas quantidades de Cd e Pb que o acompanham. Alguns riscos para organismos aquáticos e para cavalos, tem sido observados, devido a exposição destes ao Zn.

O Zn está presente, em quase todos os minerais da crosta terrestre, apresentando concentração média de 70 mg.kg^{-1} . Os principais minérios para sua extração são: Sphalerita e Wurtzita (ZnS).

Em solos não contaminados, possui concentração entre 10 e 300 mg.kg^{-1} ; não sendo aconselhável o descarte de lodos, contendo mais que 3000 mg.kg^{-1} de íons Zn^{2+} como material seco, visando não exceder tal faixa. O fornecimento de Zn^{2+} para plantas, depende principalmente da origem geológica do solo e do pH, pois a disponibilidade do Zn^{2+} aumenta com a diminuição do pH. Em águas potáveis, o teor de Zn^{2+} está em níveis abaixo de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$, podendo ter concentrações entre $2\text{-}5 \text{ mg.L}^{-1}$, em locais que utilizam encanamento galvanizado.

O log da constante de estabilidade condicional para complexos entre Zn^{2+} e ácidos fúlvicos, situa-se em torno de 2,2 (pH = 3,5) e 3,6 (pH = 5,0) [1], valor inferior à íons metálicos como Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , com o mesmo tipo de ligante.

1.2.3 - Chumbo

Ocorre em solos e na crosta terrestre, sendo estimado em torno de $4,8.10^{15}$ e $3,8.10^{20} \text{ g}$, respectivamente. É encontrado em rochas, solos, água e na atmosfera. Assim como o Hg, o Pb, é conhecido como um elemento não essencial [15]. Animais e humanos expostos à ambientes contaminados com Pb, apresentam seus tecidos e fluidos com teores acima do normal. Felizmente, nos últimos anos tem-se diminuído a contaminação industrial e automotiva no meio ambiente, pois o Pb é acumulativo nos organismos biológicos [12], tendo efeitos mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos, nos animais e nos seres humanos.

Os níveis de Pb em águas naturais são controlados por: [15]

- ⇒ formação de complexos inorgânicos e orgânicos;
- ⇒ dissolução e precipitação de complexos orgânicos e inorgânicos;
- ⇒ adsorção em colóides argilosos, colóides orgânicos e particulados;
- ⇒ liberação de íons Pb^{2+} por decomposição de biomassa orgânica;
- ⇒ coprecipitação de Pb^{2+} com outras fases minerais inorgânicas.

No caso dos solos, a química do Pb, é largamente controlada por alguns fatores como: adsorção em fases minerais, formação de complexos orgânicos estáveis e quelatos orgânicos insolúveis, e precipitação de Pb^{2+} com minerais comuns no solo [15].

Em sedimentos anaeróbios, a maior parte do Pb, está presente como PbS. Complexos de Pb^{2+} com cisteína são também importantes. No próprio meio do sedimento, o Pb^{2+} pode sofrer metilação, passando à derivados de alquil-Pb. Esse efeito não tem sido observado em condições naturais, ocorrendo a biometilação, devido às contaminações pelo homem [15].

Os ácidos húmicos e fúlvicos, apresentam-se como importantes compostos orgânicos nos efeitos de complexação de Pb^{2+} no meio ambiente, especialmente em águas intersticiais, existentes em solos [15].

Em relação aos valores do log da constante de estabilidade condicional, pode-se mencionar 2,7 (pH = 3,5), 4,0 (pH = 5,0) [1]; 5,2, 5,4 e 5,6 (pH = 6,0) [16]; nos três casos, com ácidos fúlvicos e valores entre 6-10 para ácido húmico [17].

1.2.4 - Cádmio

Assim como o Pb, o Cd também não é um elemento essencial aos animais, plantas e seres humanos. Altas doses desse metal, podem ter sérios efeitos tóxicos. Sua produção é dependente do Zn, pois normalmente são encontrados juntos. É um metal acumulativo, principalmente nos rins, possuindo meia vida biológica de mais de 10 anos, sendo altamente prejudicial aos seres vivos [12].

Possui forte afinidade por enxofre na forma reduzida, como S^{2-} e cisteína, e está presente em baixas concentrações em ambientes anaeróbios, devido a redução de SO_4^{2-} à S^{2-} , bem como a presença de CO_3^{2-} . Sua solubilização, ocorre principalmente, devido à formação de complexos com Cl^- e ligantes orgânicos [15].

Assim como o Cu^{2+} , o Pb^{2+} , e o Zn^{2+} , o Cd^{2+} , também pode se apresentar complexado por ácidos húmicos e fúlvicos, possuindo valores de log da constante de estabilidade condicional da ordem de 5-7,5 - ácido húmico [17], e 3,7-4,1 - ácido fúlvico [18].

1.3 - Formas de extração de substâncias húmicas

Devido as baixas concentrações de ácidos húmicos e fúlvicos nos materiais de origem, torna-se difícil estudar estes compostos diretamente na matriz, seja esta, água, solo ou sedimento. Neste sentido, muitos pesquisadores isolam a matéria húmica, o que torna necessária a existência de métodos de extração, os quais devem ser utilizados de forma a causar o mínimo possível de modificações estruturais.

A primeira tentativa relatada, visando a extração de substâncias húmicas, foi efetuada por Achard [19], em 1786, o qual efetuou a extração em turfa com álcali e obteve um precipitado amorfo, após a acidificação. Achard verificou que nas camadas inferiores da turfa, conseguia-se uma extração mais eficiente do que em camadas superiores, ou seja, camadas de decomposição menos acentuadas.

Uma forma freqüentemente utilizada para fracionar as substâncias húmicas, consiste em: (1) - trata-se o solo com extrator alcalino, obtendo-se a humina como fase insolúvel; (2) - acidifica-se a fase solúvel, obtendo-se o ácido húmico como precipitado; (3) - trata-se a solução obtida com álcool 75%, o que ocasiona a precipitação dos carboidratos, permanecendo o ácido fúlvico na fração solúvel [20,21].

Alguns requisitos são necessários para que uma extração seja adequada, podendo-se citar: (1) - o material extraído, não deve apresentar modificações

estruturais; (2) - o extrato deve ser livre de contaminantes inorgânicos como argilas e cátions polivalentes; (3) - todo o material orgânico deve ser extraído; (4) - o método deve ser aplicado universalmente.

Diversos métodos são propostos na literatura, como forma de extração para substâncias húmicas, sendo que os mais utilizados são os extratores alcalinos, como soluções de hidróxido de sódio e carbonato de sódio. Podem ser utilizados ainda, extratores como pirofosfato de sódio, fluoreto de sódio, agentes quelantes orgânicos como acetilacetona, cupferron e 8-hidroxiquinoleína e ácido fórmico, entre outros [1].

Alguns pontos são considerados desfavoráveis na extração alcalina, como por exemplo: (1) - o pH elevado pode causar dissolução da sílica oriunda da matéria mineral, ocasionando a contaminação da fração húmica; (2) - dissolve componentes provenientes de tecidos orgânicos recentes, os quais ficam incorporados à matéria orgânica, durante o processo de extração; (3) - modificações químicas, como a condensação entre aminoácidos e os grupos carbonila, provenientes de aldeídos aromáticos ou quinonas [1]. Já no caso dos demais extratores, deve-se salientar que a eficiência de extração é muito baixa, o que os torna pouco utilizados.

Um dos métodos mais utilizados é proposto pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (S.I.S.H.) [22], o qual consiste de um tratamento inicial com HCl, seguido de extração com solução de NaOH, KOH/KCl, e diálise através de membrana de corte de massa molar 1000 Daltons, até remoção dos sais que acompanham a fração húmica. Outra forma de extração alcalina que pode ser utilizada, é proposta por Kim e colaboradores [23], que é mais simplificada e rápida do que o método da S.I.S.H..

1.4 - Estruturas propostas para as substâncias húmicas

Um grande número de estudos são apresentados na literatura em relação à elucidação estrutural das frações húmicas, sendo que cada uma destas, deve ser

compreendida como uma série de moléculas de diferentes tamanhos, tendo os ácidos húmicos e as huminas, maior massa molar que os ácidos fúlvicos. Estes últimos, são mais ricos em oxigênio e possuem menor conteúdo de carbono em sua estrutura, apresentando mais grupos funcionais de natureza ácida, particularmente, grupos COOH. Outro ponto relevante, é que grande parte do oxigênio que constitui a estrutura dos ácidos húmicos, parece ocorrer como componente estrutural de núcleos como éteres ou ligações de ésteres, ao passo que, para os ácidos fúlvicos, além de grupos funcionais como COOH, ocorrem também como OH e C=O.

Algumas estruturas possíveis, publicadas na literatura, para as substâncias húmicas, são mostradas entre as Figuras 2 e 5, bem como a Figura 6, mostrando a estrutura da lignina, que é uma possível fonte de substâncias húmicas. A Figura 2, mostra a estrutura proposta por Fuchs [7], de caráter policíclico, que é baseada em produtos originários de carvão. Schnitzer [24,25], propôs um modelo de ácido fúlvico, mostrado na Figura 3, formado por um agregado de ácidos carboxílicos fenólicos, os quais podem estar ligados por pontes de hidrogênio ou por cadeias alifáticas. Esta estrutura esclarece um grande número das propriedades complexantes dos ácidos fúlvicos, porém não leva em conta a existência de grupos funcionais contendo nitrogênio [13]. Outros autores, entre eles, Dragunov [26], propõem modelos baseados em anéis benzênicos ligados por pontes, onde pode-se observar, conforme Figura 4, a existência de anéis aromáticos do tipo di e trihidroxibenzeno, contendo grupos quinônicos, nitrogênio na forma cíclica e em cadeias periféricas, e ainda resíduos de peptídeos. A estrutura proposta por Kleinhempel [27], é mais complexa do que as demais e inclui a existência de pontes e cadeias alifáticas, grande aromaticidade, grupos contendo nitrogênio, um grande número de sítios complexantes e a possibilidade de agregação inter ou intra-molecular, tendo natureza altamente polieletrólítica [27]. Este modelo é mostrado na Figura 5.

Figura 2 - Modelo de estrutura proposto por Fuchs [7]

Figura 3 - Modelo de estrutura proposto por Schnitzer [24,25]

Figura 4 - Modelo de estrutura proposto por Dragunov [26]

Figura 5 - Modelo de estrutura proposto por Kleinhempel [27]

Figura 6 - Estrutura da lignina [28]

1.5 - Métodos de caracterização das substâncias húmicas

A caracterização dos diversos grupos funcionais que compõem as substâncias húmicas, tem sido objeto de estudo de inúmeros pesquisadores, principalmente em função de algumas características como complexação de metais pesados, adsorção de pesticidas e outros poluentes tóxicos. Pode-se citar como principais grupos funcionais: COOH, OH fenólica, OH enólica, quinona, hidroxiquinona, lactona, éter e OH alcoólica.

A composição elementar aproximada das substâncias húmicas, difere um pouco entre os ácidos húmicos e fúlvicos, conforme Tabela 2, sendo que a humina possui composição similar aos ácidos húmicos [1].

Tabela 2 - Composição elementar das substâncias húmicas (% em base seca e livre de cinzas) [1].

Elemento	Ácido fúlvico	Ácido húmico
C	40-50	50-60
O	44-50	30-35
H	4-6	4-6
N	1-3	2-6
S	0-2	0-2

A maior parte dos métodos voltados para análises de grupos funcionais, baseiam-se em suas propriedades ácido-base, normalmente direcionados para trocas iônicas e determinação dos valores de pKa, sendo que os ácidos policarboxílicos exibem uma série de constantes de ionização.

1.5.1 - Propriedades ácido-base

1.5.1.1 - Métodos clássicos

Diversos métodos clássicos, são propostos na tentativa de elucidar as contribuições dos diferentes grupos funcionais, entre os quais, pode-se citar os métodos do acetato de cálcio e adsorção de barita, propostos por Schnitzer [29], para determinação de acidez relativa à grupos carboxílicos e acidez total (carboxílicos e fenólicos), respectivamente. Basicamente, as reações que ocorrem são as seguintes:

A equação 3, mostra a formação de um precipitado denominado “humato” de cálcio, onde o teor de grupos carboxílicos é estimado em função da formação de ácido acético, decorrente da substituição dos íons H^+ dos grupos $COOH$ pelos íons Ca^{2+} . O ácido formado é titulado com solução de $NaOH$, permitindo determinar a concentração de grupos carboxílicos. O método da adsorção de barita, é baseado na formação do “humato” de bário, conforme equação 4, determinando-se o excesso de OH^- , através de titulação com solução de HCl , estimando-se dessa forma, a contribuição de acidez de grupos OH fenólicos, além dos carboxílicos. Outros métodos clássicos são amplamente divulgados na literatura [1], visando a determinação de grupos OCH_3 , quinônicos, carbonílicos, amino, OH alcoólico, entre outros.

1.5.1.2 - Titulações potenciométricas

Alguns dos métodos amplamente utilizados para estudo da estequiometria de grupos tituláveis em substâncias húmicas, ou seja, as contribuições de grupamentos carboxílicos, fenólicos e amínicos, é a técnica por titulação potenciométrica, com solução de NaOH em força iônica constante.

Esse método constitui-se em uma excelente técnica, para determinar as propriedades ácido-base de ácidos húmicos e fúlvicos, requerendo recursos instrumentais de baixo custo, tendo o inconveniente de ser um pouco trabalhoso. Duas formas são propostas para titulações potenciométricas ácido-base: (1) - a forma descontínua, onde colocam-se volumes iguais da amostra em diversos frascos de material impermeável à gases em atmosfera inerte de N₂; adiciona-se pequenos incrementos de solução de NaOH, e mantém-se sob agitação por um determinado tempo, medindo-se o pH em seguida; (2) - titulação convencional, também em atmosfera inerte, aguardando-se a estabilização do valor de pH, sendo que alguns estudos na literatura [1], mostram que em reações ácido-base o tempo de equilíbrio é alcançado rapidamente, permitindo assim a utilização de adição sequencial do agente titulante. As curvas de titulação das substâncias húmicas são de difícil interpretação, devido aos diferentes valores de pKa da mistura de espécies ácidas, e as características polieletrólíticas, o que causa a dependência dos valores de pKa, com o pH da solução, que ocorre devido ao grande número de cargas elétricas sobre a macromolécula, cuja densidade de carga é dependente do pH [30]. Diversos trabalhos são abordados na literatura, com o intuito de investigar o comportamento das substâncias húmicas durante as titulações [30-40], adotando-se diferentes modelos para descrever as propriedades ácido-base.

Neste sentido, alguns autores [30-33], adotam o modelo de distribuição de sítios discretos, em que os dados das titulações são tratados como se a substância húmica se comportasse de maneira similar a uma mistura de ácidos fracos monopróticos. Adotando-se este modelo, cinco a seis classes de grupos tituláveis, tem sido caracterizadas em diferentes amostras de substâncias húmicas. Outros autores, assumem o modelo baseado na distribuição contínua das constantes de dissociação. Dzombak e colaboradores [34], e Fish e colaboradores [35], revisaram e compararam modelos de distribuição contínua e discreta para interpretar as interações de prótons e íons metálicos com ácidos húmicos, concluindo que não existe clara superioridade de um modelo sobre outro. Modelos baseados na influência de interações eletrostáticas, decorrentes do campo elétrico formado sobre as macromoléculas com o aumento do pH durante a titulação são amplamente empregados [36-38]. Neste caso, a determinação da carga sobre a macromolécula, bem como aproximações quanto a forma geométrica e dimensões da mesma, são necessárias para ajuste dos dados experimentais. Outros estudos, tem proposto a combinação dos modelos eletrostático com distribuição contínua de pKa [39], ou combinação de modelo eletrostático com heterogeneidade química (sítios discretos) [38]. Um modelo bastante rigoroso do ponto de vista físico-químico, que considera a heterogeneidade química e a substância húmica em uma fase separada em solução, foi proposto por Ephraim [40] e colaboradores, tendo recebido grande aceitação entre os pesquisadores da área.

1.5.1.3 - Titulações condutométricas

Outro método proposto para determinação da contribuição total de acidez nas substâncias húmicas, é por titulação condutométrica, podendo-se utilizar soluções titulantes como KOH, NaOH, LiOH, Ca(OH)_2 e Ba(OH)_2 [41,42]. As duas últimas soluções, apresentam curvas cujos pontos de equivalência são mais bem definidos, devido as interações mais fortes dos íons divalentes com os sítios ionizáveis da substância húmica. Quando uma suspensão de matéria húmica,

recebe a adição de uma base forte, a alta mobilidade iônica dos prótons H^+ , é repostada por um íon alcalino ou alcalino terroso de menor mobilidade, ocorrendo um decréscimo no valor da condutividade. Quando os íons H^+ são estequiometricamente titulados, o valor da condutividade começa a aumentar, devido a presença dos íons OH^- e seu respectivo cátion [1], obtendo-se uma mudança bastante acentuada na inclinação da curva, possibilitando a determinação do volume de equivalência.

1.5.2 - Métodos espectroscópicos

A utilização de métodos espectroscópicos, tem crescido muito em função do grande número de informações que podem ser obtidas, principalmente em relação a elucidação estrutural das substâncias húmicas. Estudos nas regiões do UV (200 a 400 nm) e visível (400 a 800 nm), não geram muitas informações, ao contrário da região do infravermelho, que mostra diversas bandas de absorção, devido a grande complexidade estrutural das substâncias húmicas. Outros métodos de estudos disponíveis são: ressonância magnética nuclear de ^{13}C , [22,43,44], que permite distinguir os grupos carboxílicos, bem como fenólicos e enólicos; e métodos envolvendo pirólise, que promove a degradação térmica da amostra e posterior avaliação da mistura gasosa resultante num sistema de cromatografia gasosa, seguido por espectrômetro de massas [45,46].

1.5.2.1 - Relação E4/E6

A relação E4/E6, refere-se ao quociente das absorvâncias em 465 e 665 nm. Como a massa molar das substâncias húmicas normalmente é desconhecida, não é possível determinar o coeficiente de absortividade molar, assim, fixa-se uma concentração de matéria húmica, entre 0,2 e 0,4 g.L⁻¹, em solução de NaHCO₃ 0,05 mol.L⁻¹; determina-se as absorvâncias nos dois comprimentos de onda, e efetua-se a relação entre ambas [1,3,43,44,47]. A relação E4/E6, é uma forma de

caracterizar a substância húmica, sendo que quanto menor o valor obtido, maior a massa molar da substância, servindo assim como um índice de humificação, ou seja, quando o valor obtido é inferior a 5,0, a substância deve possuir um alto grau de condensação de aromáticos, sendo considerada como ácido húmico, e superior a 5,0, ácido fúlvico. Outro ponto relevante, é que quanto menor essa relação, maior o tempo de residência do material [1].

1.5.2.2 - Região do infravermelho (I.V.)

Nessa região, diversos grupos funcionais absorvem energia, o que leva a uma certa dificuldade na interpretação dos espectros. A espectroscopia no I.V. é importante devido algumas razões como: (1) - proporciona o conhecimento da natureza, reatividade e arranjo estrutural de grupos funcionais oxigenados; (2) - a ocorrência de proteínas e carboidratos; (3) - pode indicar a presença ou ausência de impurezas inorgânicas, como íons metálicos ou argilas em frações isoladas de substâncias húmicas; (4) - a técnica pode ser usada, inclusive para fins quantitativos [1]. O procedimento mais utilizado para determinar a absorção, é prensar em torno de 10 mg da substância seca em estufa a vácuo por volta de 70°C, com KBr sólido devidamente seco, pois a umidade causa um grande alargamento da banda em torno de 3400 cm^{-1} , devido à vibração de estiramento da ligação OH da água. A Tabela 3, mostra as absorções características mais importantes na região do I.V. [3,43].

Tabela 3 - Absorções mais importantes na região do I.V.

n° de onda (cm⁻¹)	Tipo de absorção provável
~ 3400	ν (O-H) e contribuição da H ₂ O
~2920	ν assimétrico de C-H de -CH ₂ -
~2850	ν simétrico de C-H de -CH ₂ -
~1720	ν C=O de -COOH, e C=O cetônico
~1630	ν de C=C do anel aromático
~1425	dobramento de -CH de -CH ₂ e CH ₃
~1240	ν de -C-O e dobr. de OH de COOH

ν = vibração de estiramento.

Os ácidos húmicos e fúlvicos, mostram espectros bastante similares, tendo como diferença mais significativa a maior intensidade da banda em 1720 cm⁻¹, para os ácidos fúlvicos, referente ao estiramento da ligação C=O de grupamentos carboxílicos ou cetônicos [1]. Um procedimento de grande utilidade em estudos de absorção, é realizar metilação [1,48] ou acetilação [1] da matéria húmica, o que proporciona o aumento ou diminuição de algumas bandas, gerando diferenciações úteis em relação ao material na sua forma original. Este tipo de procedimento, consiste ainda em estimar a contribuição de grupos COOH, através de uma posterior saponificação dos ésteres de metila ou etila formados. Outro ponto interessante, é a interação da matéria húmica com cátions metálicos, que pode modificar algumas bandas de absorção, como por exemplo, a intensificação das bandas em ~ 1600 e ~ 1400 cm⁻¹, com relação às bandas em 1723 e 1254 cm⁻¹ no espectro do ácido húmico na ausência dos metais [3].

1.5.3 - Capacidade complexante

Os métodos que podem ser utilizados em estudos de complexação entre substâncias húmicas e íons metálicos, incluem técnicas baseadas em separação como cromatografia [3,14,49], ultrafiltração [13,14,50] e diálise [13,51]; e de não separação, como potenciometria, que pode utilizar eletrodo íon seletivo de membrana sólida como indicador [18,52-56], ou eletrodo de amálgama [13,16,57,58]; e voltametria [13,17,56].

São necessários métodos para tratamento dos dados obtidos pela utilização das diversas técnicas citadas, a fim de gerar informações como constantes de estabilidade condicionais e capacidades de complexação das substâncias húmicas. Para tal, pode-se citar as formas propostas por Buffle [13,52,59], Zunino e Martin [60], isotermas de multisítios de Langmuir [61] e o método de Scatchard [1,13,35,42,56,62,63]. Essa última forma, é largamente utilizada para amostras ambientais, pela simplicidade de aplicação, uma vez que as constantes de estabilidade e concentrações de íons complexados podem ser estimadas graficamente.

1.5.3.1 - Potenciometria

Dentre as técnicas citadas, boa parte utiliza medida potenciométrica, pois trata-se de um método que possui a vantagem de determinar a atividade dos íons em solução, ao invés da concentração total de íons livres e complexados, bem como estar menos sujeito à problemas de adsorção. Apresenta porém, o inconveniente de ser pouco sensível, quando comparada com outras técnicas eletroquímicas como voltametria de redissolução anódica.

1.5.3.1.1 - Eletrodo íon-seletivo de membrana sólida (E.I.S.)

Os E.I.S., são sensores de detecção eletroquímica, cujo princípio de funcionamento segue a equação de Nernst:

$$E = E^0 + 2,303RT/nF \cdot \log aM^{n+} \quad (7)$$

E = potencial medido;

E^0 = potencial padrão;

R = constante dos gases;

T = temperatura absoluta em Kelvin;

n = número de elétrons envolvidos;

F = constante de Faraday = 96486 Coulombs;

aM^{n+} = atividade do íon metálico M^{n+} .

Sua utilização consiste em duas semi-células, tendo um eletrodo indicador de membrana sólida e um eletrodo de referência, que pode ser Ag/AgCl. Diversos trabalhos são citados na literatura com o intuito de estudar complexação através do uso de E.I.S., sendo que suas aplicações, bem como detalhes de construção, são discutidos nas referências [64,65].

De acordo com a equação de Nernst (7), e a Teoria de Debye-Hückel, o E.I.S. pode ser calibrado em termos de concentração de M^{n+} , devendo-se para isso determinar os valores de E^0 , (que engloba o potencial padrão da célula eletroquímica, o potencial da parte interna da membrana, o potencial do eletrodo de referência, o potencial de junção líquida e o coeficiente de atividade do íon metálico, nas condições de força iônica e temperatura utilizadas) e $S = 2,303RT/nF$ (inclinação da reta, de valor teórico 59,16/n mV a 25°C, onde n é o número de elétrons envolvidos no processo). Para obter tais parâmetros, efetua-se uma titulação de calibração, sob atmosfera inerte de N_2 , onde são mantidos fixos, a força iônica, o pH e a temperatura em 25°C, o que permite manter constante o coeficiente de atividade.

Após a determinação desses dois parâmetros, a titulação da amostra é conduzida em condições idênticas a calibração, permitindo usar os valores obtidos para E^0 e S .

1.5.3.1.2 - Eletrodo de gota pendente de amálgama (E.G.P.A.)

A grande maioria dos trabalhos que utilizam esse tipo de eletrodo como indicador [66-69], são destinados à estudos de complexação entre íons metálicos e ligantes simples, com propriedades físico-químicas como massa molar e estrutura, bem conhecidos. O uso desse tipo de eletrodo no estudo de amostras naturais, tem sido pouco explorado, podendo-se citar o estudo de interação de Pb^{2+} e Zn^{2+} com matéria orgânica natural, efetuado por Bernhard e colaboradores [16,57].

Sua utilização é similar ao E.I.S., tendo como vantagem possuir um custo inferior, especialmente quando se deseja estudar a complexação com diversos metais, pois o Hg forma amálgama com um grande número de metais, permitindo usar o mesmo reservatório, desde que, convenientemente limpo. Apresenta uma estabilização do sinal mais rápida e uma melhor reprodutibilidade em relação aos valores de E^0 e S , talvez devido a renovação da gota de amálgama a cada adição do titulante [16]. Possui sensibilidade similar aos E.I.S., porém Buffle e colaboradores [16,57], descrevem a possibilidade de trabalhar com valores menores de concentração, baseando-se no processo de oxidação do amálgama. Outro ponto importante, é o fato de obter-se amálgamas com diversos metais de relevância ambiental, onde muitas vezes, não se possui E.I.S. adequados. O maior agravante do trabalho com este tipo de técnica, é em relação a oxidação do metal contido no amálgama, em virtude da influência do O_2 .

Sua utilização também é baseada na equação de Nernst, porém existem possibilidades de variação na concentração do metal no amálgama $[M(Hg)]$, devido a influência do O_2 , ou de outros oxidantes como H^+ . Assim temos:

$$E = E^0 + S \cdot \log([M]/[M(Hg)]) \quad (8)$$

$[M]$ = concentração de íon metálico livre; num meio não complexante $[M] = [M]_t$;

$[M]_t$ = concentração total de íon metálico adicionado na cela de titulação.

Mantendo-se $[M(Hg)]$ constante, este termo poderá ser englobado em E^0 , de modo que o E dependerá linearmente do $\log [M]_t$, e através de uma curva de calibração, pode-se determinar E^0 e S .

1.5.3.2 - Voltametria [13]

Técnicas voltamétricas, como voltametria de redissolução anódica, possuem como grande vantagem, elevada sensibilidade, permitindo trabalhar em faixas de concentração da ordem de $10^{-9} \text{ mol.L}^{-1}$, o que favorece sua utilização em amostras ambientais pouco contaminadas, ou em estudos de complexação onde existe o interesse de trabalhar com baixas concentrações de íons e ligantes. Uma limitação em experimentos voltamétricos, é que as medidas de corrente podem ser afetadas por processos de adsorção da matéria húmica sobre a superfície do eletrodo.

O sinal obtido por esse tipo de técnica, ao contrário do sinal potenciométrico, depende não só da atividade dos íons em solução, como também dos complexos formados entre um dado íon metálico M e um ligante L , proveniente da matéria húmica, gerando assim maior dificuldade na interpretação das curvas voltamétricas. Permitem inferir sobre as características de labilidade e inércia dos complexos formados, conforme mostrado abaixo:

$$K = k_a/k_d \quad (11)$$

M = íon metálico;

M^0 = metal reduzido na superfície do eletrodo;

L = ligante;

ML = complexo entre M e L;

k_a e k_d = constantes de velocidade de associação e dissociação respectivamente;

K = constante de estabilidade termodinâmica do complexo.

1.5.3.3 - Técnicas não eletroquímicas

Pode-se citar outras metodologias baseadas em separação como: (1) - cromatografia líquida [3,13,14,49], que é uma poderosa ferramenta na caracterização de substâncias húmicas, possuindo também um importante papel em estudos de complexação, podendo ser dos tipos: adsorção, utilizando resina XAD, troca iônica com resina de base fraca, troca catiônica, gel e papel, tendo esses tipos de cromatografia, diferentes princípios de separação; (2) - técnicas de ultrafiltração [13,14,50], que podem ser do tipo fluxo contínuo e de concentração, através de filtração sob pressão de N_2 , onde o ligante L e o complexo ML ficam retidos em uma membrana de porosidade adequada, obtendo-se o metal livre M como filtrado; (3) - diálise [13,14,51,56], onde invólucros próprios para diálise de corte de massa molar conveniente contendo um dado eletrólito, são mergulhados em recipiente contendo o ligante L, íons metálicos M e o mesmo eletrólito, o que proporciona a migração dos íons M livres para o interior do invólucro, permanecendo L e o complexo ML no recipiente.

Essas três formas de separação, normalmente fazem uso de técnicas como espectrometria de absorção atômica, ou outras que permitam determinar [M] (concentração de íon metálico livre), sendo em seguida determinada [ML] (concentração de íon metálico complexado), propiciando o tratamento dos dados pelos métodos citados, como Scatchard por exemplo.

1.6 - Importância ambiental desse estudo

As características descritas para o ácido húmico (AH), fazem com que este seja um dos componentes responsáveis por processos de transporte, imobilização e biodisponibilidade de metais pesados nos diversos compartimentos ambientais, juntamente com outros grupos de compostos como: argilas, hidróxido de ferro, ácidos fúlvicos, etc.

Estudou-se o AH isolado do sedimento do Rio Tietê na região de Barra Bonita, distante cerca de 270 km da capital de São Paulo, devido o rio nesta região ainda não estar contaminado, sendo possível extrair um AH menos comprometido, o que permite um estudo de complexação mais confiável.

Como os cursos dos Rios Pinheiros e Tietê seguem em direção à região de Barra Bonita, existe a preocupação de que a carga poluente avance nesta direção, tendendo a ficar cada vez mais comprometida, principalmente devido aos descartes de esgotos residenciais e industriais da Grande São Paulo.

Portanto, estudos como este são de enorme importância ambiental, pois permitem estimar a tolerância de um dado ambiente por poluentes; embora deva-se ter em mente que seria necessário combater as diversas fontes de poluição, não só para o Rio Tietê, como para outros rios e compartimentos ambientais. Esse tipo de estudo tem crescido muito nos últimos anos, não só no Brasil como também em outros países, principalmente em função da enorme carga de poluentes lançados indiscriminadamente em rios, solos, lagos e represas.

2 - OBJETIVOS

- ⇒ Estudar metodologias de separação e purificação de AH, de forma a proporcionar o estudo desta fase húmica de solos ou sedimentos, isoladamente de sua matriz de origem;
- ⇒ Aplicar o método em amostra de sedimento do Rio Tietê, coletado na região de Barra Bonita, bem como caracterizar o ácido húmico obtido, em paralelo a uma amostra comercial da marca Aldrich;
- ⇒ Assimilar e desenvolver metodologia para construção de eletrodos potenciométricos de amálgama, seletivos à diferentes íons metálicos;
- ⇒ Utilizar tais eletrodos para efetuar estudos de complexação entre as amostras de ácido húmico com íons Pb^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+} , bem como eletrodo íon-seletivo de membrana sólida para Cu^{2+} , visando obter informações dos valores das constantes de estabilidade médias condicionais e capacidades de complexação.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Materiais e equipamentos

- ⇒ 2 potenciômetros Metrohm 654, com precisão de 0,1mV ou 10^{-3} unidades de pH;
- ⇒ espectrofotômetro Micronal B-382;
- ⇒ espectrômetro IV, com transformada de Fourier Perkin-Elmer 1750;
- ⇒ espectrômetro de absorção atômica Perkin-Elmer 403;
- ⇒ espectrômetro de absorção atômica CG AA 7000 BC;
- ⇒ potenciostato/galvanostato EG & G - Princeton Applied Research - 263-A;
- ⇒ centrífuga Sorvall® - Dupont Instruments - RC5C - rotor GS-3;
- ⇒ banho ultratermostático Ética 521D, com precisão nominal de $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$;
- ⇒ condutivímetro Metrohm Herisau E-382, com precisão variável ao longo das escalas utilizadas, acoplado à célula de platina platinizada;
- ⇒ balança analítica Mettler com precisão de $\pm 0,1\text{mg}$;
- ⇒ microbureta de pistão Gilmont GS 4200 A, de 2,5 mL e precisão de $\pm 0,1\mu\text{L}$;
- ⇒ microbureta de pistão Gilmont GS 1200 A, de 2,0 mL e precisão de $\pm 0,2\mu\text{L}$;
- ⇒ cela de titulação em vidro, capacidade de 50 mL, provida de uma "camisa" externa, para circulação de água, visando manter a temperatura constante;
- ⇒ cela de titulação em vidro Metrohm, capacidade de 100 mL;
- ⇒ eletrodo de gota pendente Metrohm HMDE - 6.0335.000;
- ⇒ eletrodo de vidro combinado - Mettler Toledo HA405-60-88G-S7/120, Ag/AgCl;
- ⇒ eletrodo de vidro combinado - Mettler Toledo 405NS-S7/80, Ag/AgCl;
- ⇒ eletrodo de referência - Mettler Toledo 373-90WTEISE-S7/105, Ag/AgCl; com dupla junção;
- ⇒ eletrodo íon-seletivo para Cu - Orion - 9429;
- ⇒ eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado) - EG & G - PAR;
- ⇒ eletrodo auxiliar de Pt - EG & G - PAR;
- ⇒ ultrassom Thornton - T14;

- ⇒ sistema de filtração Millipore com membrana 0,45 μm ;
- ⇒ filtros Millex® - Millipore JBR610163 - 0,45 μm ;
- ⇒ membranas de diálise Spectra/Por® 7 - corte de massa molar = 1000 D;
- ⇒ equipamentos auxiliares diversos, tais como: mesa agitadora, centrífuga, agitador magnético, bomba de vácuo, estufa, mufla, etc;
- ⇒ micropipetas com ajuste de volume variável, ou fixo;
- ⇒ vidrarias como: balões volumétricos, pipetas, cadinhos, dessecadores, etc;
- ⇒ computador Pentium®. Os programas utilizados para obter os resultados das titulações potenciométricas (ácido-base), foram compilados em Quick Basic 4.5. Para os demais resultados, foi utilizado o programa Microcal Origin 3.54 da Microcal Software Inc. 1991-1994.

3.2 - Soluções e reagentes

- ⇒ Todas as soluções e reagentes utilizados no decorrer dos experimentos, foram de grau analítico das marcas Merck, Aldrich, Sigma, J.T. Baker, Carlo Erba, ou de qualidade equivalente, e serão citados durante a descrição das técnicas empregadas. As soluções dos íons metálicos utilizadas para análise por Espectrometria de Absorção Atômica, foram preparadas através de diluições convenientes da solução estoque 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, obtidas de ampolas de qualidade assegurada, bem como as soluções tampão para calibração do potenciômetro, pH = 4,00 e 7,00. Algumas das soluções utilizadas, tiveram um preparo mais complexo, sendo assim descrito o procedimento de preparação das mesmas;
- ⇒ água destilada e desionizada, com condutividade menor que 1 $\mu\text{S.cm}^{-1}$, obtida através do sistema NANOpure II (Sybron Barnstead), sendo fervida quando necessário;
- ⇒ gás N_2 - Air Líquide grau N-50 UP, com pureza > 99,999% e teor de O_2 < 1 ppm;
- ⇒ gás N_2 - R - Air Liquide.

3.2.1 - Soluções de NaOH

Todas as soluções de NaOH para as titulações potenciométricas no estudo da capacidade ácido-base, ou mesmo para acerto de pH durante as titulações de complexação, tiveram uma cuidadosa preparação, visando minimizar a absorção de CO₂.

Inicialmente preparou-se um xarope de NaOH (50% m/V), e após 24 horas, filtrou-se rapidamente em cadinho de vidro sinterizado nº 4, utilizando bomba de vácuo. Tomou-se a precaução de não deixar esgotar o xarope contido dentro do cadinho durante a filtração, evitando assim a entrada de CO₂ dentro do sistema sob vácuo. Após recolher um volume suficiente para o preparo da solução, pipetou-se rapidamente com uma micropipeta o volume necessário para um balão volumétrico, já contendo água desionizada fervida e massa de um sal conveniente, de forma a proporcionar uma solução com a força iônica desejada. Em seguida, essa solução foi transferida para um frasco de polietileno de paredes grossas, dotado de uma conexão para sifonamento, com tubo contendo cal sodada, na entrada de ar, visando a retenção de CO₂.

Com tais cuidados descritos, acredita-se contornar o problema relacionado com a absorção de CO₂, pois o Na₂CO₃ é insolúvel no xarope de NaOH 50%, não sendo assim uma fonte de contaminação da solução titulante.

As soluções de NaOH para uso como titulantes, foram preparadas e padronizadas antes do uso, utilizando biftalato de potássio previamente seco a 110° C durante 2 horas, e fenolftaleína como indicador [70]. Soluções de NaOH destinadas ao controle de pH, tiveram os mesmos cuidados no preparo, porém não foram padronizadas.

3.2.2 - Soluções de Ba(OH)₂

Essas soluções para utilização nos métodos da barita e titulações condutométricas, tiveram um preparo similar àsquelas de NaOH, com o cuidado

adicional, de preparar a solução, dissolvendo-se uma massa apropriada de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ sólido no volume desejado de água desionizada fervida e ainda quente; o frasco era fechado e mantido em repouso durante dois dias [70]. O sobrenadante foi sifonado, diretamente para o frasco de polietileno, sendo este também dotado da conexão contendo cal sodada, conforme descrito em 3.2.1, bem como a forma de padronização.

3.2.3 - Soluções dos íons metálicos de Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+} e NaNO_3

As soluções estoque de Cu^{2+} e Pb^{2+} utilizadas nas titulações de complexação, foram preparadas através da dissolução de massas adequadas de seus respectivos nitratos, em volume conveniente e posterior padronização [70]. Para o preparo das soluções estoque de Cd^{2+} e Zn^{2+} , utilizou-se metais de alta pureza, isentos de óxidos, dissolvendo-se estes em um mínimo volume de HNO_3 1:1, e avolumando-se adequadamente. As soluções titulantes, foram preparadas em concentração $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ a partir de diluição apropriada das soluções estoque. A força iônica foi ajustada em $2 \cdot 10^{-2}$ por adição de NaNO_3 , enquanto o pH foi ajustado para valores próximos a 4, através da adição de HNO_3 , visando minimizar efeitos de hidrólise. As soluções contendo NaNO_3 , foram preparadas por diluição de uma solução estoque $4,0 \text{ mol.L}^{-1}$, previamente purificada por eletrólise, usando poço de Hg como eletrodo de trabalho em $-1,0 \text{ V}$ vs Ag/AgCl durante 6 horas, visando-se minimizar eventuais contaminações com metais pesados. Uma posterior análise por voltametria de redissolução anódica de uma solução $0,02 \text{ mol.L}^{-1}$ do sal purificado, indicou que o maior contaminante era íons Pb^{2+} , em concentração $1,8 \cdot 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$. Usando-se o tempo de deposição de 10 minutos, não observou-se presença de Cu^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+} .

3.3 - Amostras

- ⇒ sal sódico de ácido húmico da marca Aldrich (cat.H1-675-2 lote nº 01816HH);
- ⇒ húmus de minhoca (vermicomposto) da marca West Garden, que é um produto auxiliar no cultivo de plantas; sendo obtido através da adição de uma determinada quantidade de minhocas, à um canteiro contendo uma mistura de esterco de bovinos e uma pequena quantidade de solo, ficando durante aproximadamente um mês nessa condição. O produto resultante é peneirado para remoção e reaproveitamento das minhocas. Possui grande quantidade de matéria orgânica, o que favoreceu a utilização deste composto no presente trabalho. Este tipo de produto é encontrado normalmente em supermercados ou lojas que comercializam plantas;
- ⇒ sedimento do Rio Tietê, do reservatório de Barra Bonita. Esta amostra foi coletada, utilizando uma draga Birge-Ekman, a qual é apropriada para coleta de materiais, como grãos finos, sedimentos leves, lama, etc, sendo recomendada para ambientes com pequena correnteza. Tal draga é construída em aço inox-316, possuindo área de amostragem de 15 x 15 cm. O sedimento é recolhido e hermeticamente fechado dentro da draga, evitando alteração devido a água externa [71]. Esta amostra foi coletada por Bevilacqua [71], para um complexo e detalhado estudo sobre sedimentos de diversas regiões do Rio Tietê, sendo a mesma preparada, homogeneizando-se quantidades iguais de três pontos da região citada, obtendo-se uma massa total por volta de 1,5 kg em base seca.

3.4 - Vidraria

Toda a vidraria utilizada, foi cuidadosamente lavada com água e detergente neutro Extran, sendo em seguida enxaguada e mantida em solução de HNO_3 10% v/v, no mínimo por 12 horas antes da sua utilização, seguido por exaustivas lavagens com água destilada e desionizada antes do uso.

3.5 - Obtenção das amostras de ácido húmico (AH)

Inicialmente teve-se como intenção executar uma comparação entre os métodos clássicos, potenciométrico e condutométrico, visando verificar as concentrações de grupos carboxílicos e fenólicos.

Foram utilizadas duas amostras para tal comparação, sendo uma proveniente da Aldrich, e outra de vermicomposto. Essa última foi escolhida pelo fato de possuir elevada concentração de matéria orgânica, o que permitiria obter uma quantidade de AH elevada, possibilitando executar todos os métodos.

3.5.1 - Método de extração proposto por Kim e colaboradores [23]

Pesou-se cerca de 10 g de sal sódico de AH da Aldrich e 200 g do vermicomposto, em 2 frascos de polietileno de paredes grossas, e adicionou-se 100 mL e 1000 mL de solução extratora de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ em cada um dos frascos, respectivamente, mantendo-se uma corrente de gás N₂-R, durante aproximadamente 10 minutos nos mesmos. Esse procedimento é necessário, pois é demonstrado na literatura [1], que com o aumento do pH, ocorre um consumo apreciável de O₂ pelo material orgânico, o que poderia provocar modificações estruturais no mesmo. Em seguida adicionou-se 0,2 g de NaF sólido por grama de AH estimado nas amostras, com a finalidade de remover silicatos, Fe³⁺ e Al³⁺ [23]. Os frascos foram devidamente fechados e permaneceram sob agitação (200 ciclos.min⁻¹) durante 18 h.

As amostras foram centrifugadas a 2300 rpm e descartou-se a fase sólida. Na fração solúvel, o pH foi reduzido até 1,0, lentamente e sob agitação, utilizando HCl 1:1, seguido por nova centrifugação a 2300 rpm. A fase sólida, contendo AH, foi submetida a diversas centrifugações com água desionizada até eliminação de Cl⁻, testando-se com solução de AgNO₃ 0,1 mol.L⁻¹ acidificada com HNO₃ 1:10.

Após obtenção do AH de ambas amostras, metade foi resuspenso em água desionizada e diluído a 1000 mL, e o restante foi seco lentamente a 50 ± 5°C. Nas

suspensões foram determinadas as concentrações de AH, através de secagem de alíquotas de 5,00 mL a $50 \pm 5^\circ\text{C}$, e na fase sólida foram determinados os teores de cinzas, e efetuada análise elementar. As suspensões foram então submetidas às metodologias já citadas, que serão descritas adiante. As determinações do teor de cinzas, foram efetuadas através da calcinação de massas (em torno de 0,1 g), do AH obtido em cadinho de porcelana a 700°C em forno mufla, tendo-se o cuidado de elevar a temperatura da mufla gradualmente, evitando possíveis perdas de amostra por arraste mecânico.

Essa mesma metodologia de extração, foi aplicada na amostra do sedimento de Barra Bonita, porém o teor de cinzas obtido foi muito elevado, em torno de 20%. Duas tentativas foram efetuadas, no sentido de melhorar a purificação, sendo uma de fazer nova purificação no AH semi-purificado, e outra de tratar esse AH com solução de NaHCO_3 $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$. A nova purificação não trouxe melhoras muito significativas, e a segunda extração com NaHCO_3 , diminuiu consideravelmente o teor de cinzas, porém o rendimento da extração foi muito baixo. Assim, recorreu-se a outras formas de extração, aplicando-se a metodologia proposta pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (S.I.S.H.) [22].

3.5.2 - Método de extração proposto pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (S.I.S.H.) [22]

Este método foi aplicado na íntegra para a o sedimento de Barra Bonita, e parcialmente para a amostra de AH da Aldrich.

Foram pesadas duas porções de 500 g da amostra, (base seca) em frasco de polietileno de paredes grossas, sendo adicionados 5 L de HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em cada porção, e o pH acertado entre 1 e 2 com HCl 1 mol.L^{-1} . Os dois frascos foram fechados e mantidos sob agitação durante 1 hora a $200 \text{ ciclos.min}^{-1}$, permanecendo após esse tempo em repouso durante a noite. O sobrenadante foi descartado por sifonação, o sedimento teve seu pH acertado em 7,0 com NaOH 1 mol.L^{-1} , e adicionou-se 5 L de NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, em cada frasco, passando-se

uma corrente de N_2 durante 15 minutos para proporcionar uma atmosfera inerte. As suspensões foram agitadas durante 4 horas, e mantidas durante a noite em repouso, o sobrenadante foi centrifugado a 6000 rpm e a fase sólida descartada. Em seguida, o pH foi acertado em 1,0 com HCl 6 mol.L⁻¹, e manteve-se as suspensões em repouso durante 15 horas. Descartou-se o líquido, combinou-se as duas frações de AH e dissolveu-se com KOH 0,1 mol.L⁻¹, ajustando-se a força iônica para 0,3 com KCl , mantendo-se sob atmosfera de N_2 . A solução foi novamente centrifugada, e a fase mineral descartada. O pH foi acertado em 1,0 como anteriormente, o AH foi separado por centrifugação, e mantido em HCl 0,1 mol.L⁻¹ e HF 0,3 mol.L⁻¹ durante a noite. A suspensão foi centrifugada e transferida, para diversos invólucros próprios para diálise, de aproximadamente 15 cm de comprimento, com corte de massa molar = 1000 Daltons, convenientemente lacrados e mergulhados em água desionizada. A água desionizada foi mantida sob suave agitação e trocada diversas vezes, até que sua condutividade após 30 minutos, em contato com as membranas cheias com a suspensão de AH, não apresentasse variação significativa no valor ($\pm 1\mu S.cm^{-1}$).

Em paralelo com a purificação do AH do sedimento, tratou-se uma suspensão de AH - Aldrich, porém foi apenas precipitado com HCl 1 mol.L⁻¹ e dialisado, conforme já exposto.

As amostras foram preparadas da mesma forma, como descrito em 3.5.1 e submetidas às mesmas metodologias analíticas.

3.6 - Metodologias utilizadas

3.6.1 - Método da barita

Este método é proposto por Schnitzer [29], para determinação da contribuição de acidez total (carboxílica + fenólica + amínica), e foi aplicado para as amostras de AH da Aldrich e vermicomposto obtidas conforme 3.5.1.

Transferiu-se um volume da suspensão, previamente homogeneizada contendo entre 50 e 100 mg de AH, para um frasco de polietileno; adicionou-se 20,00 mL de solução de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, isenta de BaCO_3 , sob atmosfera de N_2 . Em paralelo preparou-se uma prova em “branco”, contendo apenas 20,00 mL da solução de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, mantendo-se uma corrente de N_2 nos frascos, sendo em seguida fechados, e mantidos 24 horas sob agitação a temperatura ambiente. Filtrou-se a suspensão, utilizando o sistema Millipore com membrana de $0,45 \mu\text{m}$, lavando-se com água desionizada, previamente fervida, a fim de evitar a presença de CO_2 , e titulou-se o filtrado + águas de lavagens, com solução de HCl $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, previamente padronizada [70]. Foram efetuados acompanhamentos minuciosos, levantando-se as curvas de titulação para a prova em branco, e para as amostras. Durante os procedimentos de filtração e titulação, mantinha-se o sistema sob atmosfera de N_2 . Para as adições do titulante, utilizou-se microbureta de pistão Gilmont GS 4200A.

Os resultados da acidez total, foram obtidos em mmol de grupos tituláveis por grama de amostra, através da utilização da 1ª ou 2ª derivadas, pela expressão:

$$\text{acidez total} = (V_b - V_a) \cdot C_H \cdot 10^3/m \quad (12)$$

V_b = volume de solução de HCl (mL) consumido na titulação da prova em “branco”;

V_a = volume de solução de HCl (mL) consumido na titulação da amostra;

C_H = concentração da solução de HCl em mol.L^{-1} ;

m = massa de amostra contida na alíquota em mg.

3.6.2 - Método do acetato de cálcio

Este método também é proposto por Schnitzer [29], e visa a determinação da concentração de grupos carboxílicos, tendo sido aplicado para as amostras de AH da Aldrich e vermicomposto obtidas conforme 3.5.1.

Os experimentos foram efetuados, transferindo-se volumes de amostra previamente homogeneizada, contendo entre 50 e 100 mg de AH para um frasco de polietileno, adicionou-se 10,00 mL de solução de $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 0,5 mol.L⁻¹ e 40 mL de água desionizada isenta de CO₂. Simultaneamente, preparou-se uma prova em “branco”, contendo 10,00 mL da solução de $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ e 40 mL de água desionizada isenta de CO₂. Os frascos foram fechados e mantidos sob agitação durante 24 horas, em temperatura ambiente. Ao término da agitação, filtrou-se a suspensão, utilizando-se o sistema de filtração Millipore com membrana 0,45 µm a vácuo, lavando-se com água desionizada isenta de CO₂, combinou-se o filtrado e as águas de lavagens, e titulou-se com solução de NaOH 0,1 mol.L⁻¹, previamente padronizada conforme 3.2.1. As titulações e os cálculos foram feitos de maneira similar ao método da barita, porém houve uma discordância em relação ao valor do pH citado na literatura = 9,8 [29], sendo encontrado um valor de pH próximo a 8,8, tanto para a prova em branco, quanto para a titulação das amostras pelas 1ª ou 2ª derivadas das curvas. Salienta-se que o pH de uma solução de acetato de cálcio 0,2 mol.L⁻¹, é em torno de 9,0. Os resultados foram obtidos em mmol de grupos COOH por grama de amostra pela equação:

$$\text{COOH} = (V_a - V_b) \cdot C_{\text{OH}} \cdot 10^3/m \quad (13)$$

V_a = volume de solução de NaOH (mL) consumido na titulação da amostra;

V_b = volume de solução de NaOH (mL) consumido na titulação da prova em “branco”;

C_{OH} = concentração da solução de NaOH em mol.L⁻¹;

m = massa de amostra contida na alíquota em mg.

3.6.3 - Titulações condutométricas

Este método, foi aplicado nas amostras obtidas conforme 3.5.1., tendo por finalidade a determinação da concentração total de grupos carboxílicos + fenólicos e amínicos. Van Den Hoop e colaboradores [41] descreveram detalhadamente esta técnica.

Inicialmente, preparou-se e padronizou-se uma solução de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 0,05 mol.L⁻¹, conforme descrito em 3.2.2.

Montou-se um sistema, constituído por uma cela de titulação, provida de uma “camisa” externa para circulação de água mantida a $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, através de um banho termostático. Foram transferidas alíquotas de 20,00 ou 40,00 mL das suspensões, previamente homogeneizadas para a cela, de forma a proporcionar uma concentração de AH em torno de 700 mg.L⁻¹ na cela de titulação, tendo-se o cuidado de secar a célula de condutividade com jato de N_2 antes de inserir a mesma nas suspensões. A microbureta de pistão Gilmont GS 4200A, foi carregada com a solução titulante de $\text{Ba}(\text{OH})_2$, tomando-se as devidas precauções a fim de evitar a absorção de CO_2 . As titulações foram conduzidas em atmosfera inerte de N_2 , sob suave agitação com o auxílio do agitador magnético, sendo tomados em torno de 50 pontos para cada amostra, em pequenos incrementos de volume, e os valores medidos em resistividade em $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$, e posteriormente convertidos para condutividade em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Construiu-se gráficos de condutividade *versus* número de mols de OH^- para determinação da contribuição total de sítios ionizáveis. As Figuras 10 e 11, conforme 4.2.2.1, mostram respectivamente a curva de titulação, e a intersecção das retas para obtenção do número de mols de OH^- titulante, para uma das amostras.

3.6.4 - Titulações potenciométricas ácido-base

Esta técnica é a que fornece maior número de informações em relação às três já descritas, pois consegue-se determinar a contribuição dos diversos grupos de sítios ionizáveis das macromoléculas, e simultaneamente os valores dos respectivos pKa. Foram utilizadas as amostras obtidas conforme 3.5.1 e 3.5.2, sendo que, deste último foi analisada somente a amostra de AH do sedimento de Barra Bonita.

Inicialmente foram preparadas as seguintes soluções: NaOH/NaCl, HCl/NaCl, ambas $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, sendo o NaCl adicionado para ficar em concentração também $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, (visando minimizar a variação da força iônica durante as titulações); NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ e NaCl $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$. As soluções de NaOH/NaCl, foram preparadas e padronizadas conforme 3.2.1.

3.6.4.1 - Medida da concentração hidrogeniônica

As curvas de titulação potenciométrica de substâncias húmicas, não apresentam inflexões bruscas, não permitindo a utilização dos métodos de 1ª ou 2ª derivadas na determinação da concentração de sítios ionizáveis. Em função deste fato, a determinação do volume de equivalência e pKa, destes grupos tituláveis, requer o ajuste numérico, através de regressão linear ou não linear, dos dados experimentais à curvas teóricas que descrevam a variação da concentração (ou atividade) dos íons H^+ ao longo da curva de titulação. Estas curvas teóricas são deduzidas a partir de um rigoroso balanço de carga e massa, para o sistema suposto representar os dados experimentais.

Deste modo, é necessário que a concentração (ou atividade) dos íons H^+ , seja determinada com grande exatidão e precisão ao longo da curva de titulação, o que requer uma cuidadosa calibração do eletrodo de vidro. Neste trabalho experimental, optou-se por calibrar o eletrodo em termos de concentração hidrogeniônica, sendo que para isto é necessário realizar uma titulação de um

ácido padrão com uma base padrão, em condições de força iônica e temperatura semelhantes a da titulação da amostra. Essas medidas foram efetuadas de acordo com a metodologia proposta por Pehrson e colaboradores [72], conforme descrito a seguir.

Montou-se o sistema para efetuar a titulação, consistindo da cela de titulação, circulando água termostatzada a $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, contendo nesta 25,00 mL de NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ + 1,25 mL de HCl/NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, o eletrodo foi introduzido, e manteve-se uma suave corrente de gás N_2 próximo a superfície da solução, de forma a não permitir borbulhamento. Inseriu-se a ponta da microbureta de pistão Gilmont GS 4200A na solução, carregada com NaOH/NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ e vedou-se o sistema de forma a evitar o contato com o ar. Aguardou-se 15 minutos para estabilização térmica e iniciou-se a titulação, usando-se incrementos de volume de 0,1 mL, anotando-se os potenciais para cada volume adicionado. As adições de titulante, foram efetuadas até atingir aproximadamente o dobro do volume de equivalência, ou seja, próximo de 2,5 mL. O volume de equivalência, foi obtido através do método de Gran II [73], conforme mostrado na Figura 7.

A resposta de um eletrodo de vidro ao longo das titulações, é dada pela equação de Nernst:

$$E = E^0 + 2,303RT/nF \cdot \log a\text{H}^+ + E_j \quad (14)$$

Cujas definições, são idênticas a equação 7, sendo $a\text{H}^+$ a atividade dos íons H^+ , e E_j , o potencial de junção líquida, definido como:

$$E_j = j\text{H}[\text{H}^+] + j\text{OH}[\text{OH}^-] \quad (15)$$

$j\text{H}$ e $j\text{OH}$ são constantes características do meio iônico nas regiões ácida e alcalina, respectivamente.

A 25°C pode-se escrever a equação 14 como:

$$E = E^0 + 59,16 \log a H^+ + E_j \quad (16)$$

ou

$$E = E^0 + 59,16 \log \gamma H^+ [H^+] + E_j \quad (17)$$

γ = coeficiente de atividade dos íons H^+ .

Em temperatura e força iônica constantes, γH^+ se mantém constante, de modo que pode ser somado a E^0 .

$$E = E^0 + 59,16 \log \gamma H^+ + 59,16 \log [H^+] + E_j \quad (18)$$

resultando o termo de E^0 :

$$E = E^0 + 59,16 \log [H^+] + E_j \quad (19)$$

Antes do ponto de equivalência, a concentração de H^+ de uma titulação de ácido forte com base forte, pode ser obtida da seguinte forma:

$$[H^+] = (V_e - v) \cdot C_b / (V_0 + v) \quad (20)$$

V_e = volume de equivalência (mL), obtido através do método de Gran [73,74];

v = volume de titulante adicionado (mL);

V_0 = volume inicial contido na cela de titulação (mL);

C_b = concentração da solução de NaOH (mol.L^{-1}).

Como antes do ponto de equivalência, o termo $j[OH^-]$ é negligível, pode-se escrever a equação 19 como:

$$E = E^0 + 59,16 \log [H^+] + jH [H^+] \quad (21)$$

Rearranjando a equação 21, tem-se:

$$E - 59,16 \log [H^+] = E^{0'} + jH [H^+] \quad (22)$$

Obtém-se então uma equação de reta, onde o gráfico de $E - 59,16 \log [H^+]$ em função de $[H^+]$, apresenta uma região linear, cujo coeficiente angular fornece jH e o coeficiente linear fornece $E^{0'}$.

Desprezando-se a contribuição de $jH [H^+]$ na região alcalina, a equação 19 fica:

$$E = E^{0'} + 59,16 \log [H^+] + jOH [OH^-] \quad (23)$$

$$[H^+] [OH^-] = K_w \quad (24)$$

$$E = E^{0'} + 59,16 \log (K_w / [OH^-]) + jOH [OH^-] \quad (25)$$

como K_w é constante, pode ser somado ao $E^{0'}$, assim tem-se:

$$E^{0''} = E^{0'} + 59,16 \log K_w \quad (26)$$

$$E = E^{0''} - 59,16 \log [OH^-] + jOH [OH^-] \quad (27)$$

Após o ponto de equivalência, a concentração de OH^- de uma titulação de ácido forte com base forte, pode ser obtida da seguinte forma:

$$[OH^-] = (v - V_e) \cdot C_b / (V_0 + v) \quad (28)$$

Rearranjando a equação 27, tem-se:

$$E + 59,16 \log [OH^-] = E^{0''} + jOH [OH^-] \quad (29)$$

Obtém-se novamente uma equação de reta, permitindo assim determinar $E^{0''}$ e jOH , e pode-se calcular o valor de K_w pela equação:

$$\log K_w = (E^{0''} - E^{0'}) / 59,16 \quad (30)$$

Seguem algumas tabelas e gráficos, a fim de proporcionar uma melhor compreensão do procedimento exposto.

Tabela 4 - Titulação de calibração para determinação de E^0 , $E^{0'}$, jH , jOH e K_w .

V NaOH (mL)	E (mV)	V NaOH (mL)	E (mV)
0,0000	277,3	1,3000	-146,3
0,1000	275,3	1,4000	-203,5
0,2000	273,0	1,5000	-219,8
0,3000	270,4	1,6000	-229,5
0,4000	267,6	1,7000	-236,2
0,5000	264,4	1,8000	-241,5
0,6000	260,8	1,9000	-245,7
0,7000	256,9	2,0000	-249,3
0,8000	252,0	2,1000	-252,4
0,9000	246,0	2,2000	-255,1
1,0000	238,1	2,3000	-257,5
1,1000	226,6	2,4000	-259,7
1,2000	205,8	2,5000	-261,7

Os valores acima, são lançados em um programa, que utiliza funções de Gran II para determinar o volume de equivalência V_e . A Figura 7 mostra as duas retas obtidas, sendo uma, referente a região antes do ponto de equivalência, e a outra, posterior ao mesmo. Estas duas retas são definidas respectivamente pelas funções: $F_1 = (V_0 + v) \cdot 10^{E/59,16}$ e $F_2 = (V_0 + v) \cdot 10^{-E/59,16}$. Através da intersecção das retas com o eixo das abcissas, determina-se V_e , ou seja, quando F_1 ou $F_2 = \text{zero}$.

Figura 7 - Determinação do volume de equivalência, utilizando funções de Gran II para obtenção de E^0 , E^0 , jH , jOH e K_w . Condições: 25,00 mL de solução de NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, + 1,25 mL de HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em força iônica 0,1 (NaCl), titulado com solução de NaOH $0,1090 \text{ mol.L}^{-1}$ em força iônica 0,1, $T = 25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$; atmosfera inerte de N_2 ; eletrodo de referência = Ag/AgCl - KCl 3 mol.L^{-1} .

Após obter o volume de equivalência, plota-se $E - 59,16 \cdot \log [H^+]$ em função de $[H^+]$, obtendo-se E^0 como coeficiente linear e jH como coeficiente angular. Essa operação, também é efetuada pelo programa, onde lança-se os valores de V_e , V_o , N (número de pontos) e C_b , e obtém-se uma listagem semelhante a Tabela 5. Neste caso, $V_e = 1,289 \text{ mL}$, $V_o = 26,25 \text{ mL}$, $N = 11$ e $C_b = 0,1090 \text{ mol.L}^{-1}$. Os resultados obtidos foram: $E^0 = 411,93 \text{ mV}$ e $jH = -32,5 \text{ mV.mol}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$. A Figura 8, mostra o gráfico obtido nessa determinação.

Tabela 5 - Modelo de listagem emitida para determinação de E^0 e jH

V (mL)	E (mV)	H (mol.L ⁻¹)	F (mV)
0,1000	275,3	4,9184E-03	411,9
0,2000	273,0	4,4878E-03	411,9
0,3000	270,4	4,0603E-03	411,9
0,4000	267,6	3,6361E-03	411,9
0,5000	264,4	3,2150E-03	411,9
0,6000	260,8	2,7971E-03	411,9
0,7000	256,9	2,3822E-03	412,1
0,8000	252,0	1,9705E-03	412,1
0,9000	246,0	1,5617E-03	412,0
1,0000	238,1	1,1560E-03	411,9

V = volume de NaOH adicionado; E = potencial; H = $[H^+]$; F = valores de $E - 59,16 \cdot \log [H^+]$.

Figura 8 - Determinação dos parâmetros E^0 e jH , conforme Tabela 5.

Em seguida, de modo análogo, determina-se $E^{0'}$ e jOH , plotando-se $E + 59,16 \cdot \log [OH^-]$, em função de $[OH^-]$. Os resultados obtidos foram: $E^{0'} = -402,3$ mV e $jOH = 506,1$ mV.mol⁻¹.L⁻¹.

Tabela 6 - Modelo de listagem emitida para determinação de E^0 e j_{OH}

V (mL)	E (mV)	OH (mol.L ⁻¹)	F (mV)
1,8000	-241,5	1,985704E-03	-401,4
1,9000	-245,7	2,365861E-03	-401,1
2,0000	-249,3	2,743327E-03	-400,9
2,1000	-252,4	3,118130E-03	-400,7
2,2000	-255,1	3,490299E-03	-400,5
2,3000	-257,5	3,859859E-03	-400,3
2,4000	-259,7	4,226841E-03	-400,1
2,5000	-261,7	4,591269E-03	-400,0

V = volume de NaOH adicionado; E = potencial; OH = [OH⁻]; F = valores de $E + 59,16 \cdot \log [OH]$.

Figura 9 - Determinação dos parâmetros E^0 e j_{OH} , conforme Tabela 6.

Após obter os valores de E^0 , E^0 , j_H e j_{OH} , determina-se o valor da constante de ionização da água K_w , nas condições utilizadas, conforme a equação 30: $\log K_w = (E^0 - E^0)/59,16$. O valor obtido para K_w neste caso foi: $1,73 \cdot 10^{-14}$.

3.6.4.2 - Titulação das amostras

Após a obtenção dos parâmetros citados, iniciou-se as titulações das amostras, utilizando-se 25,00 mL das suspensões, com o cuidado de homogeneizá-las antes da retirada da alíquota. Adicionou-se 25,00 mL de solução de NaCl $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$, garantindo-se assim, que a força iônica fosse predominantemente 0,1 e a concentração de AH na cela de titulação, ficasse por volta de 700 mg.L^{-1} . Procedeu-se a titulação, conforme efetuado na calibração, tendo-se o cuidado adicional de efetuar-se incrementos de volumes menores que na calibração, por exemplo 0,01 mL, ou de forma a proporcionar variações de potenciais de até 5 mV entre cada adição, o que gerava curvas de titulação com aproximadamente 100 pontos de volumes e potenciais. Foi adotado como critério para anotar os potenciais, tomar os valores após a variação ser inferior a $0,555 \text{ mV.min}^{-1}$, que é um recurso disponível no potenciômetro utilizado.

Ao término das titulações, lançava-se os valores de volumes adicionados de NaOH/NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, os valores de potenciais lidos e os parâmetros anteriormente determinados na calibração, em um programa para converter os valores de potenciais em p°H , ou seja, no logaritmo negativo da concentração de íons hidrogênio. Usava-se para isso a equação abaixo:

$$E = E^0 + 59,16 \log [\text{H}^+] + j\text{H} [\text{H}^+] + j\text{OH} (\text{Kw}/[\text{H}^+]) \quad (31)$$

Em paralelo, foram efetuadas titulações das suspensões de AH, obtidas conforme 3.5.2, porém em concentrações ao redor de 30 mg.L^{-1} , em força iônica predominantemente 0,02, ajustada com NaNO_3 . A solução titulante de NaOH, foi preparada em concentração $5.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, tendo também sua força iônica ajustada em 0,02 com NaNO_3 , e a calibração do eletrodo foi efetuada nas mesmas condições da titulação das amostras.

Essas titulações em baixa concentração de AH e força iônica, foram efetuadas, pois o estudo de complexação com os metais que será abordado

posteriormente, foi conduzido nessas condições; é demonstrado na literatura [32], que com o decréscimo da concentração de AH, ocorrem certas diferenças na distribuição estequiométrica de grupos de sítios ionizáveis, bem como nos valores de pKa. Oportunamente, serão comparadas as capacidades de complexação de ambas amostras, com os quatro íons metálicos estudados, com a distribuição estequiométrica dos sítios ionizáveis das mesmas.

Após a obtenção dos valores de p^h da titulação da amostra, lança-se estes e os respectivos volumes de titulante em um programa baseado na segmentação e linearização da curva, que utiliza funções de Gran modificadas [74,75], visando a determinação simultânea dos volumes de equivalência e pKa de cada grupo de sítios ionizáveis.

Nos tratamentos de dados das curvas de titulação potenciométricas, adota-se o modelo de sítios discretos, ou seja, as substâncias húmicas são consideradas como uma mistura de ácidos monoproticos fracos [30], e assim a linearização é efetuada através do uso de funções de Gran modificadas, desenvolvidas a partir de um rigoroso balanço de massa e carga. Um detalhamento mais rigoroso da utilização das funções de Gran modificadas, tem sido mostrado na literatura [74-76], sendo apresentadas aqui as equações lineares de uma forma generalizada [31,32].

Para uma titulação potenciométrica de uma mistura de N ácidos fracos Ha_n, com n variando de 1 à N, a partir das equações de balanço de massa e condições de eletroneutralidade, [75] chega-se à seguinte função de Gran modificada:

$$F_{HA_n} = V_{HA_n} \cdot K_{HA_n} - v \cdot K_{HA_n} \quad (32)$$

ou

$$([H^+] - [OH^-]) \cdot (V_0 + v) (K_{HA_n} + [H^+]) / C_b + (v - V_{HA0}) / [H^+] + [V_{HA(n-1)} - V_{HA0}] \cdot K_{HA_n} - \\ - \left\{ \sum_{j=1, n>1}^{n-1} [V_{HAj} - V_{HA(j-1)}] \cdot A_j + \sum_{j=n+1}^N [V_{HAj} - V_{HA(j-1)}] \cdot A_j \right\} \cdot (K_{HA_n} + [H^+])$$

F_{HAN} = função de Gran modificada para um grupo titulável HA_n ;

V_{HA0} e V_{HAN} = volume de base forte para neutralizar o ácido forte adicionado à suspensão de AH, e cada grupo titulável presente na suspensão respectivamente, em mL. Em nosso caso não foi utilizado ácido forte, portanto $V_{HA0} = 0$;

V_0 = volume inicial da titulação em mL;

C_b e v = concentração em mol.L^{-1} e volume em mL de solução de base adicionada;

K_{HAN} = constante de ionização do ácido fraco HA_n .

$$K_{HAN} = [H^+] [A_n^-] / [HA_n] \quad (33)$$

$$A_j = K_{HAj} / (K_{HAj} + [H^+]) \quad (34)$$

Quando $V_{HAN} = v$, $F_{AHn} = 0$, obtém-se como coeficiente linear, o produto $V_{HAN} \cdot K_{HAN}$, e $-K_{HAN}$ como inclinação da reta. No subitem 4.3.2 são mostradas as tabelas e um gráfico obtido para uma titulação de AH do sedimento de Barra Bonita, a fim de uma melhor explanação desse assunto.

3.6.5 - Relação E4/E6

Trata-se de uma medida que fornece uma idéia do grau de alifaticidade ou aromaticidade das substâncias húmicas, bem como o grau de condensação da macromolécula. Uma melhor explanação é dada em 1.5.2.1.

Foram utilizadas as amostras de AH, obtidas conforme 3.5.1 e 3.5.2, sendo que no primeiro, somente a amostra de vermicomposto foi analisada.

Dissolveu-se de 20 a 40 mg das amostras sólidas de AH em 100 mL de solução de NaHCO_3 $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ [1,3,43]. Foram determinadas as absorvâncias dessas soluções, através de um espectrofotômetro nos comprimentos de onda 465 e 665 nm, utilizando-se a solução de NaHCO_3 como “branco” para zerar o equipamento. A célula de absorção era de quartzo, possuindo caminho ótico de 1 cm. Embora a relação E4/E6, seja independente da concentração, utilizou-se 30 mg de AH em 100 mL de NaHCO_3 $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$, em todos os experimentos.

Após obter os valores das absorvâncias, dividiu-se o valor obtido em 465 nm, por aquele obtido em 665 nm.

3.6.6 - Absorção na região do infravermelho

Esta região é muito mais rica em informações, e tem sido largamente utilizada na caracterização de substâncias húmicas, não só para verificar a existência de determinados grupos funcionais, como também para investigar a interação de alguns destes com íons metálicos [3], ou mesmo sua capacidade ácido-base através da reação de grupos carboxílicos com OH^- [33].

Para esse estudo, foram utilizadas as duas amostras na forma sólida, obtidas conforme 3.5.2, sendo estas previamente mantidas em dessecador sob vácuo durante 24 horas. As amostras foram pulverizadas com KBr sólido, isento de umidade, sendo utilizados em torno de 10 mg de amostra e 490 mg de KBr, para a formação das pastilhas [33]. Foram efetuadas varreduras entre as regiões de 4000 a 400 cm^{-1} , num espectrômetro Perkin-Elmer 1750 com transformada de Fourier, sendo ambos espectros mostrados nas Figuras 13 e 14, no subitem 4.3.3.

3.6.7 - Estudos de complexação

Tais estudos foram efetuados, utilizando medida potenciométrica, cuja principal vantagem é determinar a atividade dos íons, sem influenciar os equilíbrios químicos em solução, embora apresente a desvantagem de uma menor sensibilidade frente às técnicas voltamétricas.

Foram estudadas as interações entre os íons metálicos de Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+} , com as amostras obtidas, conforme 3.5.2. No caso do Cu^{2+} , utilizou-se o eletrodo íon-seletivo de membrana sólida como indicador, e para os demais foram preparados amálgamas do metal de interesse com Hg, visando sua utilização como eletrodo indicador. Segue a descrição do preparo dos amálgamas.

3.6.7.1 - Preparo e acondicionamento dos amálgamas de Pb, Cd e Zn

Este item sem dúvida, é muito importante e de grande dificuldade em sua execução, onde concentrou-se grande parte do tempo utilizado, até obtenção do amálgama isento de oxidação, visualmente perceptível.

Inicialmente, tentou-se seguir procedimento semelhante ao proposto por Bernhard e colaboradores [16], preparando-se o amálgama através da redução dos íons de uma solução $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ do metal de interesse, durante aproximadamente 15 minutos, num poço de 3 mL de Hg. Porém, mesmo tomando todas as precauções e utilizando atmosfera inerte de N_2 , notava-se que o metal do amálgama, acabava sendo oxidado em grande parte, ou talvez até totalmente.

Por conseguinte, a concentração de metal no amálgama poderia variar, causando desvios ao longo das titulações, além do risco de obstruir parcial ou totalmente o capilar do eletrodo.

Assim, após várias tentativas, optou-se em formar o amálgama a partir do próprio metal com o Hg [66], utilizando-se N_2 ultrapuro, com teor de O_2 inferior a 1 ppm, e pureza $> 99,999\%$ [16].

Transferiu-se um volume de 5 mL de Hg para um tubo de vidro, fechou-se o tubo com uma tampa de vidro esmerilhada, levemente envolta com graxa de silicone, e mantinha-se um fluxo relativamente elevado de N_2 , durante 10 minutos, através de um orifício existente na lateral superior do tubo. Pesou-se o metal de interesse em pequenas raspas, de forma a gerar uma concentração do mesmo de $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ no volume de Hg. Transferiu-se o metal, cuidadosamente através do orifício lateral, e sem interromper o fluxo de N_2 , agitou-se durante 5 minutos manualmente, até dissolução do metal no Hg.

Em seguida, retirou-se a tampa de vidro, e introduziu-se rapidamente o eletrodo de gota pendente - E.G.P.A. (HMDE 6.0335.000), previamente limpo e preparado, sempre mantendo-se o fluxo de N_2 . Após carregar o eletrodo, utilizando bomba de vácuo, retirou-se o mesmo e fechou-se rapidamente o tubo, envolvendo-

se a tampa de vidro com fita Teflon, retirou-se então o fluxo de N_2 , tampando-se com borracha apropriada, e vedando-se a mesma também com Teflon. Transferiu-se para um dessecador, e executou-se 3 operações alternadas de fazer vácuo e introduzir N_2 . Os amálgamas utilizados, apresentaram na maioria das vezes a formação de pequenas quantidades de óxidos, mesmo sob todos os cuidados descritos. Este fato não impediu sua utilização, tomando-se o cuidado de succionar o amálgama de forma que o óxido formado não fosse sugado pelo capilar do eletrodo.

Talvez seja importante ressaltar a importância da limpeza do capilar, pois com o passar dos dias ocorriam pequenos depósitos de óxidos no mesmo. Assim, após um certo número de titulações, o eletrodo era desmontado e o amálgama contido no eletrodo descartado, limpando-se o capilar com HNO_3 10%, água desionizada, secando-se em seguida, utilizando bomba de vácuo. Inicialmente, teve-se alguns problemas, pois as gotas de amálgama não ficavam pendentes. Utilizou-se entretanto, um procedimento de criar uma camada hidrofóbica nas paredes laterais internas do capilar, através da passagem de tetrametilsilano (TMS), conforme proposto na literatura [77].

3.6.7.2 - Titulações de complexação

Inicialmente determinou-se os parâmetros E^0 e S , já definidos anteriormente, que foram obtidos através de uma curva de titulação, efetuada nas mesmas condições utilizadas para as amostras, onde plotando-se os valores de potenciais medidos ao longo dessa titulação em função do $\log [M]_t$, obtinha-se E^0 como coeficiente linear e S como coeficiente angular.

As titulações foram efetuadas nas seguintes condições: força iônica 0,02 ajustada com $NaNO_3$; $pH = 6,00 \pm 0,05$; temperatura = $25,0 \pm 0,1^\circ C$, utilizando um banho termostático; concentração das soluções titulantes = $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; atmosfera inerte, utilizando $N_2 - R$, para o estudo com Cu^{2+} e N_2 ultra puro para Pb^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+} ; os volumes utilizados das amostras foram 20,00 mL, com

concentração em torno de 30 mg.L^{-1} . Conforme já exposto, o eletrodo indicador para o Cu^{2+} , foi o E.I.S., e para o Pb^{2+} , o Cd^{2+} e o Zn^{2+} , o E.G.P.A., contendo o amálgama formado com o metal de interesse. Em todos os casos, foi utilizado um eletrodo de dupla junção de Ag/AgCl , em $\text{KCl } 3 \text{ mol.L}^{-1}$, como referencial.

Durante as titulações de calibração ou das amostras, mantinha-se uma leve agitação com o auxílio de uma pequena barra magnética, e um capilar, o qual proporcionava uma suave corrente do gás N_2 , previamente borbulhado em um frasco lavador de gases, contendo solução de $\text{NaNO}_3 \text{ } 0,02 \text{ mol.L}^{-1}$. Esse capilar foi colocado, aproximadamente 5 mm abaixo do nível da solução, com a finalidade de degaseificar a solução constantemente, em função das sucessivas adições da solução do íon metálico de interesse, bem como das pequenas adições de solução de $\text{NaOH } 2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ para controle do pH.

Todos os eletrodos, tiveram seus elementos sensores imersos na solução, de forma que o borbulhamento de N_2 , ficasse situado acima dos mesmos, minimizando assim, flutuações decorrentes do fluxo de gás, em especial no uso do E.G.P.A.

Os incrementos de volume da solução do íon metálico, foram efetuados com uma microbureta de pistão Gilmont GS 4200 A, sendo tais adições entre 10 e 100 μL , conforme a variação de potencial observada para uma dada região da curva de titulação. As adições da solução de NaOH para controle de pH, foram efetuadas ao longo da titulação, com outra microbureta Gilmont GS 1200 A, tendo seus volumes anotados, para posteriores correções. Para registrar os valores de potenciais, foi adotado um recurso disponível no potenciômetro empregado, onde as medidas foram tomadas, após suas variações serem inferiores a $0,555 \text{ mV.min}^{-1}$, sendo o tempo de estabilização em torno de 5 minutos para as primeiras adições e menos de 1 minuto próximo da fase final. Esse comportamento foi semelhante para todos os íons metálicos, inclusive para o Cu^{2+} . No caso do E.G.P.A., a cada adição de titulante, foram renovadas as gotas, obedecendo sempre a seqüência: adicionar o titulante, acertar o pH quando necessário, trocar a gota, e aguardar a estabilização do valor do potencial.

De posse dos valores dos potenciais das curvas de titulação de calibração e das amostras, determinou-se os valores de metal livre $[M]$ durante a titulação e de metal complexado $[ML]$, para obtenção da constante de estabilidade média condicional, jK e capacidade complexante jC_c . Segue uma explanação do método de Scatchard, utilizado no tratamento dos dados obtidos.

O grau de ocupação médio, θ , dos sítios de complexação de uma dada classe j em um ligante macromolecular, é definido como: [13]

$$^j\theta = [^jML]/[^jL]_t \quad (35)$$

$[^jML]$ = concentração de metal complexado em mol.L^{-1} ;

$[^jL]_t$ = concentração total dos sítios de complexação da classe j em mol.L^{-1} .

No caso de ligantes de ocorrência natural, onde a massa molar não é definida por um único valor, assim como a concentração total dos sítios de complexação não é conhecida *a priori*, expressa-se o grau de ocupação médio como: [13]

$$^jv = [^jML]/\{P\} = ^jC_c \theta \quad (36)$$

$\{P\}$ = concentração do ligante em g.L^{-1} ;

jC_c = capacidade complexante, que é o número de mols de sítios de complexação da classe j por grama de ligante.

A concentração total de sítios de complexação de uma classe j pode ser obtida a partir da relação:

$$[^jL]_t = ^jC_c \{P\} \quad (37)$$

O grau de ocupação médio, pode ainda ser expresso de acordo com a isoterma de adsorção de Langmuir: [13]

$$^jv = [^jML]/\{P\} = ^jC_c \cdot ^jK [M]/(1 + ^jK [M]) \quad (38)$$

jK = constante de estabilidade média para o complexo jML .

A equação 38 pode ser linearizada, de acordo com a proposta de Scatchard [62], que resulta na expressão:

$$[^j\text{ML}]/[M] = {}^jK [^jL]_t - {}^jK [^j\text{ML}] \quad (39)$$

Da equação 39, conclui-se que um gráfico de $[^j\text{ML}]/[M]$ em função de $[^j\text{ML}]$, produz uma reta, cujo coeficiente angular fornece o negativo da constante de estabilidade média condicional para o complexo formado entre M e os sítios de ligação de classe j. A divisão do coeficiente linear pelo angular, fornece o valor da concentração total de ligante, $[^jL]_t$.

Quando $j = 2$, a equação 39 deixa de ser linear. Entretanto, se 1K e 2K forem significativamente diferentes, dois segmentos lineares são obtidos, permitindo estimar 1K , 2K , $[^1L]_t$ e $[^2L]_t$. Os sítios de maior afinidade com o íon metálico, são titulados primeiro, o que resulta num segmento linear de maior inclinação (maior jK). A medida que os sítios de maior afinidade são ocupados, os sítios de menor afinidade começam a complexar o íon metálico que vai sendo adicionado, resultando numa gradual mudança de inclinação, até que a nova porção linear seja definida com inclinação menor que a primeira (menor jK). Deve-se salientar que todas estas considerações são válidas, quando não existem interações entre os sítios complexantes. Além disso, deve-se admitir que os complexos formados são de estequiometria 1:1, e que o experimento é conduzido em pH e força iônica constantes, de modo que a carga elétrica sobre as macromoléculas, mantenha-se constante durante a titulação, assim como sua conformação [13].

O subitem 4.3.4.3, traz algumas informações que auxiliam na compreensão da construção dos gráficos. Uma explanação matemática rigorosa para interpretação e obtenção do gráfico de Scatchard, é mostrada por Klotz e Hunston [63].

3.6.8 - Estudo de adsorção de íons Cu^{2+} no sedimento de Barra Bonita, utilizando eletrodo íon-seletivo (E.I.S.) e Espectrometria de Absorção Atômica (E.A.A.)

Esta etapa do trabalho foi cumprida, visando verificar qual a capacidade do sedimento em adsorver ou complexar íons metálicos, bem como tentar concluir qual a contribuição da fase húmica nesse mecanismo de adsorção ou complexação. Para tal, foi utilizado o íon metálico Cu^{2+} , devido as dificuldades em contornar os problemas de oxidação do amálgama para os outros metais, visto que neste caso, não seria possível uma titulação convencional com adições sucessivas, devido a demora para a estabilização do sinal potenciométrico [78,79].

Foi homogeneizada uma massa do sedimento, em torno de 60 gramas, e dividida em três partes iguais. Em uma das partes, foi efetuada uma lavagem com HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, mantendo-se a amostra sob agitação nas mesmas condições, conforme 3.5.2. Em seguida, descartou-se o sobrenadante, efetuando-se sucessivas operações de lavagens e centrifugação do sedimento, até as águas de lavagem atingirem condutividade próxima da água desionizada. Numa segunda fração, efetuou-se a mesma operação, sendo esta seguida de extração da fase húmica com solução extratora de NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, de modo similar àquele descrito em 3.5.2. Esta fração foi também exaustivamente lavada, sendo em seguida, as três amostras secas em estufa a $50 \pm 5^\circ\text{C}$.

Após secagem, as amostras foram trituradas em almofariz, e peneiradas em malha de náilon, sendo tomada a fração que passou na malha 250 mesh e ficou retida na malha 320 mesh. Essa operação foi conduzida à seco, devendo-se enfatizar que o procedimento mais adequado, seria peneirar a amostra bruta [78,79], e utilizar a fração de menor granulometria, já que esta é a maior responsável pela adsorção de íons metálicos, devido principalmente às argilas [71,80], porém a quantidade de amostra disponível não possibilitaria esse trabalho. As três frações, foram mantidas em dessecador sob vácuo.

Inicialmente, foi feito um teste com uma das amostras, tentando-se titular por volta de 0,2 g de amostra, em 20,00 mL de solução de NaNO_3 $0,02 \text{ mol.L}^{-1}$, com solução titulante de Cu^{2+} , utilizando-se E.I.S. como indicador, nas condições descritas em 3.6.7.2. Verificou-se que o tempo para estabilização das medidas, era superior a 30 minutos, até os 10 primeiros pontos, o que impossibilitaria efetuar a titulação por esse processo. Efetuou-se então os experimentos, pesando-se $0,1000 \pm 0,0002 \text{ g}$ das amostras em 25 frascos de centrifuga em polipropileno, de 50 mL, acrescentando-se em seguida 20,00 mL de solução de NaNO_3 $0,02 \text{ mol.L}^{-1}$. Foram adicionados incrementos crescentes de solução de Cu^{2+} $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$, em força iônica 0,02 a cada um dos frascos, utilizando-se a microbureta de pistão Gilmont GS 4200 A. As diferenças de volumes de um frasco para seu subsequente, eram variáveis para uma mesma amostra, de 5 a $250 \mu\text{L}$, tendo os primeiros pontos, pequenas adições, de forma a não proporcionar variações bruscas nos valores de potenciais ao serem lidos. Todos os conteúdos dos frascos tiveram o pH acertado em $6,00 \pm 0,05$, com solução de NaOH $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em força iônica 0,02, utilizando a microbureta de pistão GS 1200 A, sendo mantido um fino capilar de Teflon no fundo dos tubos, durante essa etapa, passando uma corrente de gás N_2 , para propiciar atmosfera inerte e ao mesmo tempo homogeneizar as soluções. Os frascos foram muito bem vedados, e mantidos sob agitação em uma mesa agitadora horizontal a $200 \text{ ciclos.min}^{-1}$, sendo adotado um tempo de 15 horas para essa operação.

Os frascos foram então transferidos para um banho termostático a $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, tendo seus potenciais medidos com E.I.S. para Cu vs Ag/AgCl 3 mol.L^{-1} , um a um sob atmosfera inerte de N_2 . O tempo de estabilização das medidas foi de 0,5 a 1,0 minuto. Foram checados os valores de pH dos conteúdos dos tubos, logo após a medida do potencial, tendo na maioria dos casos uma variação de $\pm 0,1$, unidade de pH, e em alguns poucos casos desvios de até $\pm 0,3$ unidades. Os valores de E^0 e S foram determinados, conforme 3.6.7.2, através de uma curva de calibração, utilizando-se titulação convencional, e os dados referentes a capacidade de adsorção ou complexação, foram obtidos também pelo método de Scatchard, sendo mostrados no subitem 4.4.

Após as medidas dos potenciais, foram filtrados em torno de 5 mL da solução de cada tubo, utilizando o sistema Millex® 0,45 μm , com auxílio de uma seringa hipodérmica, para análise por E.A.A. por chama. Para tal determinação, foram preparados padrões de Cu^{2+} em meio NaNO_3 0,02 mol.L^{-1} , por diluição conveniente de uma solução estoque 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, em concentrações de $4 \cdot 10^{-6}$ até $8 \cdot 10^{-5}$ mol.L^{-1} . Essa faixa foi adotada a fim de cobrir a maior parte das concentrações das amostras, sendo que aproximadamente 8 amostras excediam o maior valor, sendo então convenientemente diluídas, e recebendo a adição do NaNO_3 , de forma a possuírem a mesma composição da matriz, que as demais amostras e padrões. Deve-se enfatizar, que não se estendeu mais a faixa dos padrões, pois ficaria acima do limite estabelecido pelo manual do equipamento Perkin-Elmer 403, até 5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, ou seja, acima do limite da Lei de Beer-Lambert [81,82]. Os parâmetros utilizados no equipamento para essas medidas foram: chama oxidante ar- C_2H_2 , comprimento de onda $\lambda = 324,7$ nm, abertura do monocromador = 0,7 nm, corrente da lâmpada de cátodo oco = 20 mA; e as demais variáveis, como o fluxo dos gases, altura, distância e inclinação do cabeçote do queimador e otimização da taxa de nebulização, eram efetuadas para cada série de análises.

Os dados foram também tratados de forma similar àqueles obtidos pelas titulações com E.I.S., para posterior comparação dos resultados, devendo-se mencionar, que considerou-se como metal livre [Cu] neste caso, a concentração de íons, obtida diretamente nos filtrados.

3.6.9 - Determinação do teor de metais nas amostras do sedimento e nos ácidos húmicos por E.A.A

Este item foi efetuado, com o objetivo de conhecer a composição aproximada dos metais adsorvidos ou fracamente ligados ao sedimento, pois além da matéria orgânica, argilas e carbonatos, pode-se ter ainda a contribuição de agentes adsorvedores como: óxidos de ferro, alumínio e manganês [13]. Possibilitou ainda, a verificação do grau de homogeneidade do mesmo [78-80]. Em relação as amostras de ácido húmico, essa determinação é importante, pois fornece uma noção do grau de ocupação dos sítios complexantes por íons metálicos, principalmente Fe^{3+} , Al^{3+} e Cu^{2+} . Essas análises foram efetuadas, utilizando E.A.A. por chama, sendo determinados os metais Fe, Mn, Cu, Zn, Al, Pb e Cd, sendo que os quatro primeiros elementos, foram determinados, através do Espectrômetro Perkin-Elmer 403 e para os demais, utilizou-se o Espectrômetro CG AA 7000 BC, sendo este dotado de corretor de absorção não específica, utilizando lâmpada de deutério.

No caso das três amostras do sedimento, pesou-se em duplicata, por volta de 1 g das mesmas com precisão de $\pm 0,0001$ g, em erlenmeyer de 125 mL, adicionando-se 4 mL de HNO_3 concentrado, mantendo-se em aquecimento $\pm 100^\circ\text{C}$, durante 1 hora, tomando-se o cuidado de não deixar chegar a secura [81]. Deixou-se esfriar e adicionou-se + 1 mL do mesmo ácido, e 2 mL de H_2O_2 , 130 volumes cuidadosamente, mantendo-se um novo aquecimento de forma controlada, para a eliminação da matéria orgânica [80]. As amostras foram aquecidas suavemente, por mais 30 minutos. A seguir, os conteúdos de cada amostra, foram filtrados em membrana $0,45\ \mu\text{m}$, utilizando sistema Millex®, e quantitativamente transferidos para balões volumétricos de 50,00 mL, sendo acertado os meniscos e homogeneizados. Essas soluções, foram mantidas em frascos de polietileno e armazenadas em geladeira a 4°C , até o momento das análises. As amostras de ácido húmico Aldrich e Barra Bonita foram tratadas de forma similar ao sedimento, porém utilizou-se por volta de 0,1 g das mesmas, e

não foi possível efetuar em duplicata, devido a disponibilidade de amostra. Tomou-se maior precaução na adição de H_2O_2 130 volumes, devido a violenta reação de oxidação da matéria orgânica. Neste caso, foram necessárias 2 adições de H_2O_2 , para total destruição da matéria orgânica.

Para o preparo dos padrões e provas em “branco”, utilizou-se as mesmas quantidades dos reagentes, de acordo com as amostras, efetuando-se diluições quando necessário, de forma a respeitar a faixa linear de trabalho, visando minimizar algum possível efeito de matriz. [81-83]. Na análise de Al, foi utilizada chama $\text{N}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_2$, para fornecer maior quantidade de energia e liberar o Al, devido a formação de compostos refratários deste elemento na chama $\text{ar}-\text{C}_2\text{H}_2$. Foi adicionado KCl aos padrões, amostras e prova em “branco” de forma a proporcionar concentração de K^+ em torno de $1500 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$, visando minimizar o efeito da ionização, que ocorre para o Al, neste tipo de chama [81-83], onde a temperatura fica ao redor de 3000°C . Os demais elementos, foram determinados em chama oxidante $\text{ar}-\text{C}_2\text{H}_2$.

A Tabela 7 mostra as condições utilizadas nas análises.

Tabela 7 - Parâmetros operacionais, utilizados na determinação de metais no sedimento de Barra Bonita, e nas amostras de AH, por E.A.A.

Elemento	λ (nm)	Fenda (nm)	I (mA)	F ($\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$)
Al	396,2	0,5	10	10,00-80,00
Fe	248,3	0,2	25	1,00-8,00
Mn	279,5	0,2	25	0,50-4,00
Cu	324,7	0,7	20	0,20-1,60
Zn	213,9	0,7	15	0,25-1,00
Cd	228,8	0,5	3	0,10-0,25
Pb	217,0	1,0	5	0,50-4,00

λ = comprimento de onda; I = corrente utilizada para a lâmpada de cátodo oco; F = faixa de trabalho, sendo utilizados + 2 padrões de concentrações intermediárias dos valores tabelados.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Análise do húmus de minhoca e sedimento de Barra Bonita

Inicialmente, tinha-se como intenção executar um teste comparativo entre os métodos potenciométrico, condutométrico, barita e acetato de cálcio, porém em função dos baixos teores de matéria orgânica total (MOT), no sedimento de Barra Bonita, optou-se por uma amostra de húmus de minhoca, rica em matéria orgânica, pois a aplicação de todos esses métodos consumiria uma grande quantidade de ácido húmico.

Tabela 8 - Resultados dos teores de umidade, MOT, e cinzas

amostra	umidade (%)	MOT (%)	cinzas (%)
húmus de minhoca	46,7±0,2	16,2±0,2	37,1±0,3
sedimento B.Bonita	0,72±0,02	2,1±0,2	97,2±0,3

A amostra de sedimento foi seca ao ar durante 4 dias antes da análise. Os resultados representam a média de 3 determinações

4.2 - Ácidos húmicos (AH) extraídos do húmus de minhoca e da Aldrich, conforme 3.5.1.

4.2.1 - Análise elementar e teor de cinzas

Após extração, as amostras de ácido húmico obtidas, apresentaram composição elementar semelhante, exceto no tocante ao teor de N, da amostra Aldrich, fato que leva muitos pesquisadores a criticar a utilização de ácidos húmicos comerciais [44]. Os demais teores estão de acordo com os resultados comumente obtidos em extrações similares a esta [1,3,22,43,44].

Tabela 9 - Análise elementar e % de cinzas do AH de húmus de minhoca e Aldrich

amostra	C (%)	H (%)	N (%)	cinzas (%)
AH-Aldrich	53,6	4,8	0,71	3,0
AH-húmus	51,5	5,4	3,3	2,2

4.2.2 - Determinação da acidez de grupos -COOH e fenólicos, por diferentes métodos.

Como os resultados obtidos pela análise elementar e teor de cinzas, foram satisfatórios para ambas amostras, aplicou-se as metodologias, conforme exposto entre 3.6.1 e 3.6.4. Em relação as titulações condutométricas, segue uma explanação de como foram obtidos os resultados, tomando como exemplo uma titulação de AH extraído de húmus de minhoca.

4.2.2.1 - Titulações condutométricas

Os detalhes referentes a execução da titulação são descritos, conforme 3.6.3. Plotou-se condutividade em função do número de mols adicionados de OH^- , conforme Figura 10, e através da mudança de inclinação entre as regiões II e III, obteve-se o número de mols de OH^- . Para tal determinação, foram igualadas as equações de reta, mostradas na Figura 11, permitindo obter o número de mols de OH^- , que é igual ao número de mols de grupos de sítios ionizáveis, considerando estequiometria 1:1. Relacionou-se o valor obtido, com a massa de AH contida na alíquota titulada, resultando a relação em mmol de grupos de sítios ionizáveis, por grama de amostra.

Tabela 10 - Dados obtidos na titulação condutométrica da amostra de AH, extraído de húmus de minhoca

condut. ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)	mmol (OH^-)	condut. ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)	mmol (OH^-)
51,887	0,0057	37,225	0,0618
48,877	0,0076	38,543	0,0665
45,985	0,0095	40,108	0,0713
43,229	0,0114	41,800	0,0760
40,790	0,0133	42,910	0,0808
38,463	0,0152	44,653	0,0855
36,523	0,0171	44,650	0,0903
35,144	0,0190	45,904	0,0902
33,965	0,0209	47,457	0,0950
32,986	0,0228	49,342	0,0998
31,972	0,0266	52,423	0,1045
31,988	0,0285	63,191	0,1140
31,507	0,0314	71,610	0,1188
31,523	0,0333	82,600	0,1235
31,741	0,0352	93,130	0,1283
32,068	0,0380	109,52	0,1330
32,394	0,0409	124,85	0,1378
32,623	0,0428	141,15	0,1425
33,183	0,0456	157,38	0,1473
33,746	0,0475	176,27	0,1520
33,996	0,0494	210,61	0,1615
34,720	0,0523	251,80	0,1710
35,738	0,0570	290,97	0,1805

Condições: $T = 25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$; titulante = solução de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ - $0,0950 \text{ mol.L}^{-1}$, adicionado com microbureta de pistão Gilmont GS 4200 A; alíquota da suspensão de AH = 40,00 mL, ($C = 1,15 \text{ g.L}^{-1}$); atmosfera inerte, utilizando N_2 - R.

Figura 10 - Curva de titulação condutométrica para o AH extraído de húmus de minhoca. Condições: $T = 25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$; titulante = solução de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ - $0,0950 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, adicionado com microbureta de pistão Gilmont GS 4200 A; alíquota da suspensão de AH = $40,00 \text{ mL}$, ($C = 1,15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$); atmosfera inerte, utilizando N_2 - R.

Figura 11 - Determinação do ponto de equivalência da titulação condutométrica para a amostra de húmus de minhoca, referente à Figura 10.

Embora não apresentados, os gráficos obtidos para a amostra de suspensão do AH Aldrich, são semelhantes à Figura 10.

Nota-se, conforme Figura 10, um decréscimo inicial no valor de condutividade (região I), devido a reação entre os íons OH^- e H^+ , bem como a precipitação do “humato” de bário. Na região II, ocorre a reação entre os grupos de sítios não ionizados inicialmente, com íons Ba^{2+} e OH^- , e assim o acréscimo no valor de condutividade é muito pequeno, e finalmente a região III mostra uma grande elevação no valor de condutividade, devido ao término da reação entre os sítios ionizáveis, e os íons Ba^{2+} e OH^- , sendo que principalmente os íons OH^- , possuem alta mobilidade iônica, ocasionando grande elevação nos valores de condutividade. Caso a titulação fosse conduzida com NaOH ou KOH, a distinção entre as regiões II e III não seria muito nítida, pois durante as adições de titulante, cujos pontos pertencem a região II, ocorre também aumento no valor da condutividade, devido a presença dos cátions Na^+ ou K^+ [33,41], os quais interagem muito fracamente com AH, ao contrário de íons divalentes.

4.2.3 - Concentração dos sítios ionizáveis determinados por titulação potenciométrica.

A tabela 11, mostra os resultados de concentração de cada grupo de sítios ionizáveis, bem como os respectivos valores de pKa. Maiores detalhes de como efetuar tal determinação, são mostrados em 4.3.2.

Tabela 11 - Concentração de cada grupo de sítios ionizáveis (AHn), em mmol.g⁻¹, e valores de pKa.

	AH1	AH2	AH3	AH4	AH5	AH6
CAH-1	0,85±0,02	1,99±0,02	0,80±0,04	0,44±0,06	0,40±0,07	0,45±0,07
pKa-1	2,85±0,08	4,60±0,02	6,02±0,02	7,4±0,2	8,7±0,2	9,8±0,1
CAH-2	0,52±0,03	1,13±0,06	0,39±0,04	0,31±0,04	0,50±0,04	-
pKa-2	3,4±0,2	5,02±0,02	6,5±0,2	8,17±0,07	9,70±0,06	-

1 = AH - Aldrich, 2 = AH - húmus de minhoca; Conc. das suspensões: 1 = 0,685 g.L⁻¹ e 2 = 0,575 g.L⁻¹, força iônica 0,1 (NaCl). Σ de grupos carboxílicos e fenólicos conforme Tabela 12. Os resultados representam a média de 3 determinações.

Os resultados entre cada grupo de sítios são bem concordantes, de acordo com os desvios apresentados, bem como seus respectivos pKa. Observa-se a caracterização de 5 classes de grupos, para a amostra de húmus de minhoca e 6 para Aldrich, decorrente das diferentes procedências de ambas amostras.

Tabela 12 - Resultados comparativos entre os métodos clássico, potenciométrico e condutométrico para os AH Aldrich e húmus de minhoca (mmol de grupos de sítios ionizáveis por grama de amostra).

Método	Aldrich	Húmus de minhoca
potenciométrico (C)	3,64±0,08	2,0±0,1
potenciométrico (F)	1,3±0,2	0,81±0,08
potenciométrico (C+F)	4,9±0,3	2,8±0,2
condutométrico (C+F)	5,11±0,11	2,59±0,01
acetato de cálcio (C)	3,64±0,01	1,87±0,05
barita (C+F)	6,25±0,06	4,0±0,2
[barita] - [ac. Ca] (F)	2,61±0,07	2,1±0,3

(C) e (F) = contribuições de acidez devida à grupos -COOH e fenólicos respectivamente, para a determinação por potencimetria, (C) e (F), representam a Σ da concentração de grupos de sítios ionizáveis até pKa = 7, e acima de pKa = 7, respectivamente em força iônica 0,1. Os resultados representam a média de 3 determinações.

De acordo com a Tabela 12, pode-se verificar que houve boa concordância entre as determinações de grupos carboxílicos, pelos métodos do acetato de cálcio, e potenciométrico, bem como entre os resultados de acidez total (C + F), obtido através do método condutométrico. No entanto, a aplicação do método clássico da barita, leva a resultados mais elevados, possivelmente devido a este método detectar contribuições de grupamentos fenólicos de valores de pKa mais elevados, os quais não são determinados pelo método potenciométrico; ou devido a contaminações por CO₂ atmosférico, apesar de terem sido tomadas as devidas precauções. Ainda assim, a aplicação do método potenciométrico, traz maior número de informações, pois o programa utilizado, permite determinar as contribuições dos diferentes sítios ionizáveis, bem como seus respectivos valores de pKa. Dessa forma, adotou-se no presente trabalho, a utilização da técnica potenciométrica para análise do AH, extraído do sedimento de Barra Bonita.

4.3 - Ácidos húmicos extraídos de Barra Bonita e Aldrich, conforme 3.5.2.

4.3.1 - Análise elementar, teor de cinzas e relação E4/E6

Conforme comentado, houve necessidade de utilizar outro método de extração de AH, pois aquele exposto em 3.5.1, não apresentou bons resultados com relação aos teores de cinzas para a amostra de Barra Bonita, possivelmente devido ao material muito fino que compõe esta amostra. A Tabela 13, mostra uma comparação dos resultados, conforme os métodos de extração 3.5.1 e 3.5.2, para a amostra de Barra Bonita, bem como para a amostra Aldrich.

Tabela 13 - Análise elementar, teor de cinzas e relação E4/E6.

amostra	C (%)	H(%)	N(%)	cinzas(%)	E4/E6
AHB - 1	37,6	4,4	3,8	23,8±0,5	4,4
AHB - 2	46,9	5,0	5,0	10,5±0,3	4,1
AHB (3.5.2)	54,1	4,7	4,8	1,3±0,1	5,8
AHA (3.5.2)	55,3	4,5	0,77	4,3±0,2	6,2

AHB - 1 = 1ª extração do AH de Barra Bonita conforme 3.5.1; AHB - 2 = AHB - 1 submetido à um 2º processo de extração 3.5.1; AHB (3.5.2) e AHA (3.5.2) = AH do sedimento de Barra Bonita e Aldrich respectivamente, que foram submetidos ao processo de extração 3.5.2. O teor de cinzas é representado pela média entre 2 determinações.

Constata-se de acordo com a Tabela 13, que a aplicação do método, inicialmente empregado para o húmus de minhoca, não foi adequado para o sedimento de Barra Bonita, pois mesmo após submeter o AHB a uma 2ª etapa de tratamento, o teor de cinzas ainda foi mantido próximo a 10%, o que tornaria inviável utilizar este método de purificação, ao passo que o método adotado pela S.I.S.H. [22], apesar de muito trabalhoso, permite obter um ácido húmico com baixo teor de cinzas. Deve-se lembrar que o AHA, foi submetido apenas à fase final de tratamento, apresentando por este motivo, teor de cinzas um pouco mais alto. Os resultados da relação E4/E6 para as amostras com baixos teores de cinzas, são mais elevados do que normalmente encontrado na literatura [1,43,44], o que indica um baixo grau de condensação de aromáticos; provavelmente ambas as amostras devem ter estruturas de caráter mais alifático. Nota-se ainda, uma grande distorção nos resultados de E4/E6, quando os teores de cinzas são muito elevados.

4.3.2 - Determinação da estequiometria de sítios ionizáveis por titulação potenciométrica ácido-base

Antes de apresentar os resultados, será mostrado um exemplo do conjunto de dados experimentais de titulação potenciométrica ácido-base (Tabela 14), assim como das funções de Gran modificadas (Tabela 15), calculadas na determinação da concentração de sítios ionizáveis e seus pKa, para uma amostra de AH, extraído do sedimento de Barra Bonita.

De posse dos parâmetros $E^0 = 411,93 \text{ mV}$, $j_H = -32,5 \text{ mV} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, $j_{OH} = 506,1 \text{ mV} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ e $K_w = 1,73 \cdot 10^{-14}$, conforme 3.6.4.1 e dos dados de volumes de NaOH e potenciais lidos ao longo da titulação da amostra, os valores de potenciais obtidos, são convertidos em p^cH , conforme descrito em 3.6.4.2.

Em seguida, lança-se os volumes de NaOH, valores de p^cH obtidos, volume inicial, contido na cela de titulação, concentração da solução de NaOH em $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, e K_w , em um programa de regressão linear, que utiliza funções de Gran modificadas [74-76], o qual irá segmentar e linearizar os dados, de forma a proporcionar as concentrações de cada grupo de sítios ionizáveis e respectivos pKa. Para tal resolução, deve ser estimado: o número de grupos de sítios ionizáveis; os volumes de solução de NaOH, necessários para neutralizar cada grupo e as constantes de ionização aproximadas de cada grupo. O programa efetua sucessivas iterações e fornece os seguintes resultados: volume de equivalência, concentração, pKa, Ka e coeficientes de correlação (R), para cada grupo de sítios ionizáveis. A Tabela 14, mostra a conversão dos valores de potenciais em p^cH , obtidos de uma das titulações do ácido húmico, extraído de Barra Bonita, e a Tabela 15 exemplifica a listagem, obtida pela aplicação da regressão linear.

Tabela 14 - Modelo de listagem de conversão dos potenciais em p^oH.

N	V (mL)	E(mV)	p ^o H	N	V (mL)	E(mV)	p ^o H
1	0,0000	221,4	3,220	52	0,6400	2,9	6,914
2	0,0400	215,0	3,329	53	0,6500	-5,9	7,063
3	0,0600	210,8	3,400	54	0,6600	-16,6	7,244
4	0,0800	206,2	3,477	55	0,6700	-26,6	7,413
5	0,1000	201,2	3,562	56	0,6800	-36,3	7,577
6	0,1200	196,0	3,650	57	0,6900	-46,0	7,741
7	0,1400	190,4	3,744	58	0,7000	-55,2	7,896
8	0,1500	187,9	3,787	59	0,7100	-65,0	8,062
9	0,1600	185,3	3,831	60	0,7200	-74,9	8,229
10	0,1700	182,4	3,880	61	0,7300	-84,6	8,393
11	0,1800	179,4	3,930	62	0,7400	-94,2	8,555
12	0,1900	176,6	3,978	63	0,7500	-103,0	8,704
13	0,2000	174,1	4,020	64	0,7600	-111,2	8,843
14	0,2100	171,3	4,067	65	0,7700	-118,9	8,973
15	0,2200	169,5	4,098	66	0,7800	-126,4	9,100
16	0,2300	167,4	4,133	67	0,7900	-134,6	9,238
17	0,2400	165,8	4,160	68	0,8000	-141,8	9,360
18	0,2600	160,5	4,250	69	0,8100	-148,1	9,467
19	0,2700	158,5	4,284	70	0,8200	-154,5	9,575
20	0,2900	155,5	4,334	71	0,8300	-160,3	9,673
21	0,3100	151,5	4,402	72	0,8400	-165,4	9,760
22	0,3300	146,2	4,492	73	0,8500	-170,0	9,838
23	0,3500	140,8	4,583	74	0,8600	-173,9	9,904
24	0,3600	138,0	4,630	75	0,8700	-178,0	9,973
25	0,3700	135,3	4,676	76	0,8800	-181,9	10,039
26	0,3800	132,2	4,728	77	0,8900	-185,3	10,097
27	0,3900	128,9	4,784	78	0,9000	-187,9	10,141
28	0,4000	125,5	4,842	79	0,9100	-191,1	10,196
29	0,4100	122,6	4,891	80	0,9200	-193,9	10,243
30	0,4200	119,0	4,951	81	0,9300	-196,5	10,287
31	0,4300	115,7	5,007	82	0,9400	-198,8	10,326
32	0,4400	112,4	5,063	83	0,9500	-201,0	10,364
33	0,4500	108,8	5,124	84	0,9700	-205,2	10,436
34	0,4600	105,1	5,186	85	1,0000	-210,8	10,531
35	0,4700	101,1	5,254	86	1,0200	-214,0	10,586
36	0,4800	97,2	5,320	87	1,0500	-218,2	10,658
37	0,4900	93,1	5,389	88	1,0700	-220,6	10,699
38	0,5000	88,7	5,464	89	1,1000	-224,0	10,758
39	0,5100	84,6	5,533	90	1,1200	-226,0	10,792
40	0,5200	80,6	5,601	91	1,1500	-228,7	10,839
41	0,5300	75,7	5,683	92	1,2000	-232,9	10,912
42	0,5400	70,8	5,766	93	1,2500	-236,4	10,973
43	0,5500	66,0	5,847	94	1,3000	-239,6	11,029
44	0,5600	60,5	5,940	95	1,3500	-242,3	11,076
45	0,5700	54,5	6,042	96	1,4000	-244,9	11,122
46	0,5800	48,3	6,147	97	1,5000	-249,2	11,199
47	0,5900	41,3	6,265	98	1,6000	-252,9	11,265
48	0,6000	34,5	6,380	99	1,7000	-256,1	11,323
49	0,6100	26,9	6,508	100	1,8000	-258,8	11,372
50	0,6200	20,1	6,623	101	1,9000	-261,2	11,417
51	0,6300	11,6	6,767	102	2,0000	-263,4	11,458

N = numeração sequencial; V = volume de NaOH 0,1090 mol.L⁻¹ adicionado (força iônica 0,1 - NaCl); E(mV) = potencial em milivolts. Condições: CAH = 1,105 g.L⁻¹; volume inicial = 20,00 mL; força iônica = 0,1 (NaCl); T = 25,0±0,1°C; eletrodo de referência = Ag/AgCl - KCl 3 mol.L⁻¹.

Tabela 15 - Segmentação e linearização dos dados, conforme Tabela 14, para obtenção das concentrações e pKa de cada grupo de sítios ionizáveis.

PARA HA 1

N1= 1 N2 = 4

VOLUME	pH	FG.MODIF	FG.AJUST	DESVIO
0,0000	3,220	3,2539E-04	3,3400E-04	-2,5795E+00
0,0400	3,329	1,9719E-04	1,8714E-04	5,3734E+00
0,0600	3,400	1,1976E-04	1,1370E-04	5,3242E+00
0,0800	3,477	4,1075E-05	4,0272E-05	1,9932E+00
0,1000	3,562	-4,1458E-05	-3,3161E-05	2,5020E+01
VHA	CHA	PKA	KHA	R
0,09097	4,9578E-04	2,43514	3,6716E-03	-0,99824125

PARA HA 2

N1 = 21 N2 = 10

VOLUME	pH	FG.MODIF	FG.AJUST	DESVIO
0,3100	4,402	8,3910E-06	8,3700E-06	2,5068E-01
0,3300	4,492	7,0525E-06	7,0853E-06	-4,6386E-01
0,3500	4,583	5,7861E-06	5,8007E-06	-2,5043E-01
0,3600	4,630	5,1587E-06	5,1583E-06	6,5237E-03
0,3700	4,676	4,5712E-06	4,5160E-06	1,2221E+00
0,3800	4,728	3,9057E-06	3,8736E-06	8,2703E-01
0,3900	4,784	3,2072E-06	3,2313E-06	-7,4639E-01
0,4000	4,842	2,5112E-06	2,5890E-06	-3,0016E+00
0,4100	4,891	1,9666E-06	1,9466E-06	1,0252E+00
0,4200	4,951	1,2934E-06	1,3043E-06	-8,3334E-01
0,4300	5,007	6,9352E-07	6,6193E-07	4,7735E+00
VHA	CHA	PKA	KHA	R
0,34934	1,9039E-03	4,19223	6,4234E-05	-0,99988127

PARA HA 3

N1 = 40 N2 = 10

VOLUME	pH	FG.MODIF	FG.AJUST	DESVIO
0,5200	5,601	2,5996E-07	2,5389E-07	2,3907E+00
0,5300	5,683	2,2864E-07	2,2734E-07	5,7027E-01
0,5400	5,766	1,9960E-07	2,0079E-07	-5,9332E-01
0,5500	5,847	1,7410E-07	1,7424E-07	-8,0342E-02
0,5600	5,940	1,4564E-07	1,4770E-07	-1,3944E+00
0,5700	6,042	1,1697E-07	1,2115E-07	-4,1203E+00
0,5800	6,147	9,0702E-08	9,4600E-08	-6,1805E+00
0,5900	6,265	6,3846E-08	6,8052E-08	-2,2318E+00
0,6000	6,380	4,0578E-08	4,1504E-08	-2,2318E+00
0,6100	6,508	1,6417E-08	1,4957E-08	9,7623E+01
0,6200	6,623	-3,8176E-09	-1,1591E-08	-6,7065E+01
VHA	CHA	PKA	KHA	R
0,17533	9,5554E-04	5,57597	2,6548E-06	-0,99898291

continua

PARA HA 4

N1 = 55 N2 = 10

VOLUME	pH	FG.MODIF	FG.AJUST	DESVIO
0,6700	7,413	1,9627E-09	1,9519E-09	5,5707E-01
0,6800	7,577	1,3692E-09	1,4096E-09	-2,8623E+00
0,6900	7,741	8,2285E-10	8,6731E-10	-5,1260E+00
0,7000	7,896	3,4038E-10	3,2502E-10	4,7251E+00
0,7100	8,062	-1,7915E-10	-2,1726E-10	-1,7542E+01
0,7200	8,229	-7,1421E-10	-7,5954E-10	-5,9681E+00
0,7300	8,393	-1,2674E-09	-1,3018E-09	-2,6444E+00
0,7400	8,555	-1,8490E-09	-1,8441E-09	2,6514E-01
0,7500	8,704	-2,4114E-09	-2,3864E-09	1,0461E+00
0,7600	8,843	-2,9546E-09	-2,9287E-09	8,8637E-01
0,7700	8,973	-3,4745E-09	-3,4710E-09	1,0082E-01
VHA	CHA	PKA	KHA	R
0,09036	4,9246E-04	7,26577	5,4228E-08	-0,99984568

PARA HA 5

N1 = 65 N2 = 8

VOLUME	pH	FG.MODIF	FG.AJUST	DESVIO
0,7700	8,973	4,4699E-11	4,4932E-11	-5,1750E-01
0,7800	9,100	2,8015E-11	2,7108E-11	3,3452E+00
0,7900	9,238	8,4456E-12	9,2836E-12	-9,0270E+00
0,8000	9,360	-9,1968E-12	-8,5405E-12	7,6843E+00
0,8100	9,467	-2,5540E-11	-2,6365E-11	-3,1258E+00
0,8200	9,575	-4,3856E-11	-4,4189E-11	-7,5347E-01
0,8300	9,673	-6,2150E-11	-6,2013E-11	2,2164E-01
0,8400	9,760	-8,0037E-11	-7,9837E-11	2,5044E-01
0,8500	9,838	-9,7661E-11	-9,9661E-11	1,0658E-04
VHA	CHA	PKA	KHA	R
0,08921	4,8622E-04	8,74899	1,7824E-09	-0,99992496

PARA HA 6

N1 = 75 N2 = 10

VOLUME	pH	FG.MODIF	FG.AJUST	DESVIO
0,8700	9,973	3,8010E-12	3,7282E-12	1,9516E+00
0,8800	10,039	3,1344E-12	3,1879E-12	-1,6762E+00
0,8900	10,097	2,5588E-12	2,6475E-12	-3,3533E+00
0,9000	10,141	2,2324E-12	2,1072E-12	5,9394E+00
0,9100	10,196	1,5508E-12	1,5669E-12	-1,0275E+00
0,9200	10,243	9,9146E-13	1,0265E-12	-3,4168E+00
0,9300	10,287	4,3856E-13	4,8620E-13	-9,7995E+00
0,9400	10,326	-5,0779E-14	-5,4129E-14	-6,1900E+00
0,9500	10,364	-5,7070E-13	-5,9446E-13	-3,9969E+00
0,9700	10,436	-1,6616E-12	-1,6751E-12	-8,0502E-01
1,0000	10,531	-3,2936E-12	-3,2961E-12	-7,6523E-02
VHA	CHA	PKA	KHA	R
0,14379	7,8365E-04	10,26734	5,4033E-11	-0,99960405

N1 e N2 são estimados, onde N1 = número que representa o 1º ponto escolhido para efetuar a regressão linear de um dado segmento de reta, de acordo com numeração sequencial da Tabela 14; N2 = número de pontos que deve ser somado à N1, que determina o último ponto da regressão linear de um dado segmento de reta; VOLUME = volume de solução de NaOH; FG.MODIF = função de Gran modificada; FG. AJUST = função de Gran ajustada; DESVIO = diferença em % entre FG,MODIF e FG.AJUST, com relação à FG.AJUST.; HA1 a HA 6 representam 6 grupos de sítios ionizáveis, que foi possível caracterizar neste caso; VHA = volume de equivalência, CHA = concentração (mol.L⁻¹), PKA = pKa e KHA = Ka, para um dado grupo de sítios ionizáveis; R = coeficiente de correlação. Condições conforme Tabela 14.

Após o término dos cálculos, converte-se o resultado de CHA, em mmol de sítios ionizáveis por grama de amostra, de acordo com a concentração da suspensão utilizada na análise.

Pode-se verificar, de acordo com o procedimento demonstrado, que trata-se de um método bastante trabalhoso, desde a parte experimental, até o tratamento dos dados, porém possui a grande vantagem de permitir determinar a concentração dos diferentes grupos de sítios ionizáveis, e os valores de pKa, ao contrário dos métodos clássicos e do condutométrico. A Figura 12, mostra o gráfico obtido, decorrente desse tratamento de dados.

Figura 12 - Curva de titulação segmentada e linearizada, utilizando funções de Gran modificadas. Condições: CAH = 1,105 g.L⁻¹; volume inicial = 20,00 mL; força iônica = 0,1 (NaCl); T = 25,0±0,1°C; eletrodo de referência = Ag/AgCl - KCl 3 mol.L⁻¹; FAHn = funções de Gran modificadas (n=1-6, representam cada grupo de sítios ionizáveis).

Seguem as tabelas 16 e 17, que mostram os resultados obtidos para as amostras de AH da Aldrich e do sedimento de Barra Bonita respectivamente, bem como a tabela 18, onde consta a somatória de grupos carboxílicos e fenólicos.

Tabela 16 - Ácido húmico Aldrich (mmol.g^{-1}).

	AH1	AH2	AH3	AH4	AH5	AH6
CAH-1	0,85±0,02	1,99±0,02	0,80±0,04	0,44±0,06	0,40±0,07	0,45±0,07
pKa-1	2,85±0,08	4,60±0,02	6,02±0,02	7,4±0,2	8,7±0,2	9,8±0,1
CAH-2	0,98±0,08	1,50±0,04	0,57±0,07	0,59±0,04	0,66±0,08	-
pKa-2	-	5,3±0,1	6,6±0,2	7,82±0,07	9,28±0,06	-

CAH = concentração de cada grupo de sítios ionizáveis (AH1-AH6); 1 = força iônica 0,1(NaCl) conforme Tabela 11; 2 = força iônica 0,02 (NaNO₃); concentração das suspensões: 1 = 0,685 g.L⁻¹ e 2 = 32,10 mg.L⁻¹, volume utilizado: 1 = 50,00 mL, 2 = 20,00 mL. Os resultados representam a média de 3 determinações.

Tabela 17 - Ácido húmico extraído do sedimento de Barra Bonita (mmol.g^{-1}).

	AH1	AH2	AH3	AH4	AH5	AH6
CAH-1	0,45±0,01	1,75±0,02	0,85±0,03	0,44±0,01	0,45±0,01	0,66±0,06
pKa-1	2,4±0,2	4,20±0,02	5,61±0,04	7,24±0,07	8,75±0,02	10,2±0,1
CAH-2	0,50±0,05	1,45±0,09	0,59±0,01	0,38±0,01	0,7±0,1	-
pKa-2	-	4,88±0,02	6,3±0,1	7,7±0,3	9,0±0,2	-

CAH = concentração de cada grupo de sítios ionizáveis (AH1-AH6); 1 = força iônica 0,1(NaCl); 2 = força iônica 0,02 (NaNO₃); concentração das suspensões: 1 = 1,105 g.L⁻¹ e 2 = 33,15 mg.L⁻¹; volume utilizado: 1 = 2 = 20,00 mL. Os resultados representam a média de 3 determinações.

Tabela 18 - Somatória de grupos carboxílicos e fenólicos para ambas amostras, conforme Tabelas 16 e 17 (mmol.g^{-1}).

	AHA-COOH	AHA-FENÓL.	AHB-COOH	AHB-FENÓL.
I = 0,1-NaCl	3,64±0,08	1,3±0,2	3,05±0,06	1,55±0,08
I = 0,02-NaNO ₃	3,1±0,2	1,3±0,1	2,5±0,2	1,1±0,1

I = força iônica; AHA e AHB = ácidos húmicos Aldrich e de Barra Bonita respectivamente; grupos COOH = até pKa = 7,0, grupos fenólicos acima de pKa = 7,0.

Pode-se verificar que o procedimento apresentado é bastante rigoroso, permitindo obter resultados altamente satisfatórios, de acordo com as estimativas de desvios apresentadas, bem como os coeficientes de correlação.

Quando as titulações são efetuadas em concentrações de AH mais elevadas, permite determinar até 6 grupos de sítios ionizáveis, o que não acontece em concentrações inferiores, provavelmente devido as baixas concentrações de cada grupo, nesta última condição, que acaba ocasionando uma certa limitação durante a resolução pelo programa utilizado, apesar de ter-se utilizado solução de NaOH $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$, para gerar um maior número de pontos. Pelo mesmo motivo, não foi possível determinar o valor de pKa do 1º grupo de sítios, para ambas amostras, quando em baixa concentração. Esse tipo de limitação em função da concentração de AH, parece estar associada com a diminuição da capacidade tamponante em certas regiões da curva, tendo sido estudada por Masini [32]. As diferenças observadas, não parecem estar associadas com a força iônica [33], mas sim com a concentração de AH.

Conforme Tabela 18, pode-se verificar desvios significativos, quando as concentrações de AH são diferentes, e por este motivo a análise em baixa concentração de AH e força iônica 0,02 foi efetuada, visando posterior comparação com a capacidade complexante por íons metálicos. Vale lembrar, que devido as amostras de AH serem oriundas de diferentes fontes, observa-se os desvios nos teores de grupos carboxílicos e fenólicos, em mesmas condições de força iônica e concentração, mas de um modo geral os resultados da concentração total de grupos de sítios ionizáveis, são concordantes com os dados publicados na literatura.

4.3.3 - Espectroscopia na região do infravermelho

As amostras foram preparadas conforme 3.6.6, e os espectros obtidos são bastante similares, porém devido ao excessivo alargamento das bandas de absorção, torna-se um pouco difícil sua interpretação, principalmente na região de 3400 cm^{-1} , que deve ser causado pela presença de água associada ao AH.

As Figuras 13 e 14, mostram os espectros obtidos, onde pode-se visualizar que as principais bandas de absorção são concordantes com a literatura [1,3,43], como pode ser constatado na Tabela 3. A ausência da banda em 2850 cm^{-1} , e a menor absorção na região de 2920 cm^{-1} (referentes respectivamente as vibrações de estiramento simétrico e assimétrico da ligação C-H de $-\text{CH}_2-$), observada para a amostra AHB pode ser indicativo de uma menor concentração de alifáticos. Sua relação E4/E6 é um pouco inferior, o que indica um maior grau de condensação de aromáticos. A varredura efetuada, para AHA e AHB, foi entre 4000 e 400 cm^{-1} , com as pastilhas obtidas, prensando-se 10 mg de AH com 490 mg de KBr.

Figura 13 - Espectro na região do IV para a amostra AHA.

Figura 14 - Espectro na região do IV para a amostra AHB.

4.3.4 - Estudos de complexação entre AHA e AHB com os íons metálicos Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+}

4.3.4.1 - Determinação dos desvios de E^0 e S

Foram efetuadas algumas titulações, visando verificar a reprodutibilidade nos valores de E^0 , S, limites de detecção e determinação para os 4 íons a serem estudados, titulando-se alíquotas de solução de NaNO_3 $0,02 \text{ mol.L}^{-1}$. A Tabela 19, mostra os resultados obtidos.

Tabela19 - Valores de E^0 , S, limites de detecção e de determinação obtidos para o estudo com íons Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+} .

Eletrodo	E^0 (mV)	S(mV)	LD ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	$[\text{M}]_t$ mín. ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)
EIS/Cu	324 $\pm$ 2	28,6 $\pm$ 0,5	0,01	1,2 $\pm$ 0,2
EGPA/Pb	-279 $\pm$ 1	28,5 $\pm$ 0,2	3,5 $\pm$ 0,2	15,1 $\pm$ 0,3
EGPA/Cd	-479 $\pm$ 1	28,1 $\pm$ 0,4	3,5 $\pm$ 1,0	17,3 $\pm$ 0,2
EGPA/Zn	-921 $\pm$ 1	24,9 $\pm$ 0,1	6,3 $\pm$ 0,1	15,1 $\pm$ 0,5

E.I.S. = eletrodo íon-seletivo; E.G.P.A. = eletrodo de gota pendente de amálgama com o metal M; LD = limite de detecção; $[\text{M}]_t$ = conc. mínima que fornece resposta linear. Condições: Volume = 20,00 mL de solução de NaNO_3 0,02 mol.L⁻¹; titulante = solução do íon do metal M, de conc. = $5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ em força iônica 0,02 (NaNO_3); pH = 6,00 $\pm$ 0,05, ajustado com NaOH $2 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ em força iônica 0,02 (NaNO_3); temperatura = 25,0 $\pm$ 0,1°C; atmosfera = N_2 ; eletrodo de referência = Ag/AgCl - KCl 3 mol.L⁻¹. Os resultados representam a média de 5 determinações.

Constata-se haver ótima concordância entre os valores, de acordo com as estimativas dos desvios padrões, sendo que LD foi determinado na intersecção da região linear com a parte não linear da curva [65], e $[\text{M}]_t$ mín. é o 1º valor que pertence a região linear da curva utilizada. No caso do Zn, o valor obtido para a inclinação S, foi muito diferente do valor teórico de 29,58 mV. Esse desvio pode estar relacionado com o baixo potencial de redução do par Zn^{2+}/Zn , o que ocasiona uma concentração de Zn^{2+} na superfície da gota de amálgama superior a concentração no seio da solução, devido a oxidação do Zn metálico do amálgama.

A Figura 15, ilustra o comportamento da resposta do eletrodo de amálgama de Pb. Para os demais gráficos, o aspecto das curvas foram similares, exceto no caso do Cu, onde não foi verificado o limite de detecção, tomando-se como base o valor do fabricante.

4.3.4.2 - Tentativa de aumentar a faixa linear de resposta dos E.G.P.A.

Conforme fôra abordado, uma das limitações da técnica potenciométrica é a baixa sensibilidade, ocasionando que os trabalhos sejam conduzidos em maiores concentrações de ligantes e íons metálicos. Bernhard e Buffle [16,57], mostram a possibilidade de trabalhar com o E.G.P.A. do metal de interesse em concentrações mais baixas de íons metálicos e ligantes, através de algumas correções. Tentou-se aplicar o método proposto, para o elemento Pb.

Foram efetuadas curvas de calibração, utilizando E.G.P.A. de Pb, obtido conforme 3.6.7.1.; Bernhard [16] se baseou na seguinte equação:

$$[M]_0 = [M]_t + \Delta C_{ox} + \Delta C_c \quad (40)$$

$[M]_0$ = conc. total de íons do metal M na superfície da gota do E.G.P.A;

ΔC_{ox} = conc. do íon metálico de M proveniente da oxidação de M por traços de O_2 na solução;

ΔC_c = conc. constante do íon metálico do metal M, devido à contaminações do sal de $NaNO_3$, ou da vidraria = $1,8 \cdot 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$ (para o Pb^{2+}), conforme 3.2.3.

Devido as dificuldades para determinação de ΔC_{ox} , foi utilizado o valor obtido por Bernhard [16] = $5 \cdot 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$, onde o autor verifica a mudança de $[M]_0$, causada pelo aumento do teor de O_2 no N_2 empregado. Deve-se ressaltar, que o N_2 usado em tal referência, possui mesma especificação que o N_2 utilizado neste trabalho, bem como as demais condições.

Dessa forma, o autor corrige matematicamente a concentração do metal M na superfície do eletrodo [16,57]. Entretanto, no presente trabalho não foi observado um aumento significativo na linearidade das curvas analíticas ao efetuar esta correção, conforme mostrado na Figura 15. Com isso, optou-se por trabalhar com concentrações de AH da ordem de 20 a 30 mg.L^{-1} .

Figura 15 - Curvas de calibração sem a correção proposta (A) e com a correção (B), para o íon Pb^{2+} . Condições: Volume = 20,00 mL de solução de NaNO_3 $0,02 \text{ mol.L}^{-1}$; titulante = solução de Pb^{2+} $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em força iônica 0,02; pH = $6,00 \pm 0,05$, ajustado com NaOH $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; $T = 25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$; atmosfera = N_2 .

4.3.4.3 - Resultados obtidos do estudo de complexação

Para a obtenção dos valores da constante de estabilidade média condicional (iK) e capacidade complexante (iC_c - mmol de íon metálico por grama de AH), utilizou-se o método de Scatchard [1,13,56,62]. Os detalhes de como obter os valores de (iK), bem como [^iML], foram descritos em 3.6.7.2. De posse dos valores de [^iML] e da concentração da suspensão de AH utilizada (mg.L^{-1}), determina-se iC_c . Os pontos escolhidos para os dois segmentos de reta nos gráficos de Scatchard, são tomados de forma a proporcionar os melhores coeficientes de correlação possíveis, descartando-se parte dos pontos. A Tabela 20, fornece todos os valores utilizados no cálculo de uma das titulações efetuadas, sendo obtida pelo programa Microcal Origin 3.54, da Microcal Software Inc. 1991-1994. Segue a explanação dos valores das colunas, que serão apresentadas na Tabela 20.

coluna	parâmetro
A	volume de titulante ao longo das titulações de calibração ou amostra;
B	volume de NaOH para controle do pH na titulação de calibração;
C	$[Cu]_t$ = conc. total de íons Cu^{2+} ao longo da titulação de calibração;
D	$\log$ da $[Cu]_t$ na titulação de calibração;
E	valores de potenciais (mV), obtidos na titulação de calibração;
F	volume de NaOH para controle do pH na titulação da amostra;
G	$[Cu]_t$ = conc. total de íons Cu^{2+} ao longo da titulação da amostra;
H	$\log$ da $[Cu]_t$ na titulação da amostra;
I	valores de potenciais (mV), obtidos na titulação da amostra;
J	$[Cu]$ = conc. livre de íons Cu^{2+} , na titulação da amostra;
K	$[CuL]$ = conc. de íons Cu^{2+} , complexado na titulação da amostra;
L	$[CuL]/[Cu]$.

obs.: As cargas referentes ao íon Cu^{2+} , foram omitidas.

- ⇒ Através das colunas A, B e da concentração do titulante, determina-se $[Cu]_t$ = coluna C, para a titulação de calibração. Calcula-se o $\log [Cu]_t$ = coluna D;
- ⇒ plota-se a coluna E x coluna D, obtendo-se os valores de E^0 e S;
- ⇒ determina-se $[Cu]_t$ para a titulação da amostra, utilizando-se as colunas A, F e a concentração do titulante. Calcula-se o $\log [Cu]_t$ = coluna H;
- ⇒ plota-se a coluna I x coluna H, obtendo-se a curva de titulação da amostra;
- ⇒ determina-se então $[Cu]$, aplicando-se os valores de E^0 e S, obtidos pela curva de calibração na equação de Nernst;
- ⇒ calcula-se $[CuL]$ = coluna K através da diferença (coluna G - coluna J);
- ⇒ divide-se (coluna K pela coluna J) = $[CuL]/[Cu]$ = coluna L;
- ⇒ finalmente plota-se a coluna L x coluna K, obtendo-se o gráfico de Scatchard.

Tabela 20 - Valores obtidos de uma titulação de suspensão de AHB com íons Cu^{2+} , utilizando o programa Origin 3.5.

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
0,0050	0,0000	1,2497E-6	-5,90320	156,9	0,0000	1,2016E-6	-5,92023	44,4	1,7122E-10	1,2015E-6	7016,87866
0,0100	0,0000	2,4988E-6	-5,60228	163,7	0,0000	2,4027E-6	-5,61930	56,6	4,5724E-10	2,4022E-6	5253,82266
0,0150	0,0000	3,7472E-6	-5,42629	167,5	0,0000	3,6032E-6	-5,44332	70,5	1,4001E-9	3,6018E-6	2572,54047
0,0200	0,0100	4,9925E-6	-5,30168	172,4	0,0000	4,8031E-6	-5,31848	78,6	2,6876E-9	4,8004E-6	1786,09914
0,0250	0,0100	6,2391E-6	-5,20488	174,5	0,0200	5,9966E-6	-5,22209	86,8	5,2010E-9	5,9914E-6	1151,98643
0,0300	0,0100	7,4850E-6	-5,12581	176,6	0,0300	7,1908E-6	-5,14322	94,2	9,4368E-9	7,1814E-6	760,9944
0,0350	0,0100	8,7304E-6	-5,05897	179,0	0,0400	8,3832E-6	-5,07659	101,4	1,6849E-8	8,3664E-6	496,55161
0,0400	0,0100	9,9751E-6	-5,00108	180,7	0,0600	9,5694E-6	-5,01912	106,5	2,5404E-8	9,5440E-6	375,69391
0,0450	0,0100	1,1219E-5	-4,95004	182,3	0,0700	1,0758E-5	-4,96828	111,0	3,6495E-8	1,0721E-5	293,77245
0,0500	0,0100	1,2463E-5	-4,90439	183,4	0,0800	1,1945E-5	-4,92283	116,3	5,5918E-8	1,1889E-5	212,6084
0,0550	0,0100	1,3705E-5	-4,86311	184,8	0,0900	1,3130E-5	-4,88175	119,6	7,2935E-8	1,3057E-5	179,01772
0,0600	0,0100	1,4948E-5	-4,82543	185,8	0,1000	1,4313E-5	-4,84427	123,5	9,9839E-8	1,4213E-5	142,36042
0,0650	0,0100	1,6189E-5	-4,79077	186,6	0,1200	1,5487E-5	-4,81003	126,6	1,2814E-7	1,5359E-5	119,85986
0,0700	0,0100	1,7430E-5	-4,75870	187,6	0,1400	1,6659E-5	-4,77836	129,6	1,6315E-7	1,6496E-5	101,10678
0,0800	0,0100	1,9910E-5	-4,70092	188,7	0,1600	1,9011E-5	-4,72099	135,5	2,6235E-7	1,8749E-5	71,46581
0,0900	0,0100	2,2388E-5	-4,64998	190,6	0,1800	2,1357E-5	-4,67045	141,9	4,3919E-7	2,0918E-5	47,62847
0,1000	0,0100	2,4863E-5	-4,60444	191,7	0,2000	2,3697E-5	-4,62531	147,1	6,6754E-7	2,3029E-5	34,49867
0,1200	0,0200	2,9791E-5	-4,52591	193,8	0,2500	2,8342E-5	-4,54757	154,9	1,2508E-6	2,7091E-5	21,65831
0,1400	0,0200	3,4722E-5	-4,45939	196,0	0,2900	3,2972E-5	-4,48185	163,2	2,4401E-6	3,0532E-5	12,51249
0,1600	0,0200	3,9643E-5	-4,40183	197,4	0,3400	3,7559E-5	-4,42529	168,6	3,7690E-6	3,3790E-5	8,96521
0,1800	0,0200	4,4554E-5	-4,35111	199,2	0,3800	4,2135E-5	-4,37536	173,6	5,6370E-6	3,6498E-5	6,47467
0,2000	0,0200	4,9456E-5	-4,30578	200,4	0,4200	4,6685E-5	-4,33082	177,4	7,6545E-6	3,9031E-5	5,09908
0,2200	0,0200	5,4348E-5	-4,26482	201,5	0,4500	5,1234E-5	-4,29044	181,1	1,0311E-5	4,0924E-5	3,96906
0,2400	0,0300	5,9201E-5	-4,22767	202,8	0,4900	5,5736E-5	-4,25386	183,0	1,2015E-5	4,3721E-5	3,63892
0,2600	0,0300	6,4071E-5	-4,19334	203,6	0,5300	6,0213E-5	-4,22031	185,2	1,4343E-5	4,5870E-5	3,19805
0,2800	0,0300	6,8932E-5	-4,16158	204,7	0,5600	6,4695E-5	-4,18913	187,6	1,7400E-5	4,7295E-5	2,71802
0,3000	0,0300	7,3783E-5	-4,13205	205,5	0,5700	6,9220E-5	-4,15977	190,0	2,1109E-5	4,8111E-5	2,27912
0,3500	0,0400	8,5826E-5	-4,06638	207,4	0,5900	8,0497E-5	-4,09422	194,6	3,0571E-5	4,9925E-5	1,63308
0,4000	0,0400	9,7847E-5	-4,00945	209,0	0,6300	9,1617E-5	-4,03802	198,0	4,0197E-5	5,1420E-5	1,27919
0,4500	0,0500	1,0976E-4	-3,95957	210,5	0,6700	1,0265E-4	-3,98866	200,9	5,0769E-5	5,1877E-5	1,02184
0,5000	0,0600	1,2160E-4	-3,91508	211,7	0,6900	1,1369E-4	-3,94429	203,3	6,1590E-5	5,2098E-5	0,84588
0,6000	0,0700	1,4514E-4	-3,83822	214,0	0,7510	1,3544E-4	-3,86825	207,1	8,3633E-5	5,1807E-5	0,61946
0,8000	0,0900	1,9148E-4	-3,71788	217,6	0,8300	1,7833E-4	-3,74877	212,4	1,2814E-4	5,0190E-5	0,39168
1,0000	0,1100	2,3685E-4	-3,62552	220,2	0,9000	2,2026E-4	-3,65706	216,2	1,7400E-4	4,6260E-5	0,26586
1,5000	0,1800	3,4594E-4	-3,46100	225,2	1,0700	3,2092E-4	-3,49360	222,4	2,8664E-4	3,4280E-5	0,11959
2,0000	0,2800	4,4883E-4	-3,34792	228,4	1,2000	4,1667E-4	-3,38021	226,5	3,9875E-4	1,7918E-5	0,04494
2,5000	0,4200	5,4538E-4	-3,26330	230,9	1,4000	5,0607E-4	-3,29579	229,1	4,9160E-4	1,4477E-5	0,02945

As Tabelas 21 e 22, mostram respectivamente os resultados obtidos para o log das constantes de estabilidade médias condicionais (jK), e capacidades complexantes (jC_c) em mmol de íon metálico por grama de amostra para AHA e AHB com os quatro íons metálicos estudados.

Tabela 21- jK e jC_c para as classes de sítios complexantes $j = 1$ e $j = 2$, para a amostra AHA.

íon	$\log ^1K$	1C_c (mmol.g ⁻¹)	$\log ^2K$	2C_c (mmol.g ⁻¹)	$^1C_c + ^2C_c$ (mmol.g ⁻¹)
Cu ²⁺	7,1±0,2	0,46±0,05	5,5±0,1	0,84±0,08	1,3±0,1
Pb ²⁺	5,3±0,1	2,1±0,1	4,7±0,2	0,8±0,2	2,9±0,3
Cd ²⁺	4,6±0,1	1,0±0,1	-	-	1,0±0,1
Zn ²⁺	4,64±0,02	0,94±0,03	-	-	0,94±0,03

Condições: força iônica = 0,02 (NaNO₃); pH = 6,00 ± 0,05 mantido com solução de NaOH 2.10⁻³ mol.L⁻¹ em força iônica 0,02; T = 25,0 ± 0,1°C; atmosfera = N₂; volume inicial contido na cela de titulação = 20,00 mL, exceto para Zn²⁺ = 40,00 mL; conc. das suspensões de AHA = 32,10 mg.L⁻¹, exceto para a titulação com Pb²⁺ = 21,40 mg.L⁻¹; conc. das soluções titulantes = 5.10⁻³ mol.L⁻¹ em força iônica 0,02; eletrodo de referência = Ag/AgCl - KCl 3 mol.L⁻¹. Os resultados representam a média de 5 determinações.

Tabela 22 - jK e jC_c para as classes de sítios complexantes $j = 1$ e $j = 2$, para a amostra AHB.

íon	$\log ^1K$	1C_c (mmol.g ⁻¹)	$\log ^2K$	2C_c (mmol.g ⁻¹)	$^1C_c + ^2C_c$ (mmol.g ⁻¹)
Cu ²⁺	7,8±0,1	0,42±0,02	6,0±0,1	0,9±0,3	1,3±0,3
Pb ²⁺	5,6±0,1	1,8±0,1	5,0±0,2	0,6±0,1	2,4±0,2
Cd ²⁺	4,8±0,1	0,8±0,1	-	-	0,8±0,1
Zn ²⁺	4,89±0,06	0,94±0,01	-	-	0,94±0,01

Condições: força iônica = 0,02 (NaNO₃); pH = 6,00 ± 0,05 mantido com solução de NaOH 2.10⁻³ mol.L⁻¹ em força iônica 0,02; T = 25,0 ± 0,1°C; atmosfera = N₂; volume inicial contido na cela de titulação = 20,00 mL, exceto para Zn = 40,00 mL; conc. das suspensões de AHB = 33,15 mg.L⁻¹, exceto para a titulação com Pb²⁺ = 22,10 mg.L⁻¹; conc. das soluções titulantes = 5.10⁻³ mol.L⁻¹ em força iônica 0,02; eletrodo de referência = Ag/AgCl - KCl 3 mol.L⁻¹. Os resultados representam a média de 5 determinações.

Seguem alguns dos gráficos, obtidos para a amostra AHB, com seus respectivos gráficos de Scatchard, sendo que aqueles obtidos para a amostra AHA, foram bastante similares.

Figura 16 - Titulação de AHB com íons Cu^{2+} . $V = 20,00 \text{ mL}$ da suspensão - $33,15 \text{ mg.L}^{-1}$ com solução de $\text{Cu}^{2+} 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em força iônica $0,02 (\text{NaNO}_3)$; $\text{pH} = 6,00 \pm 0,05$, ajustado com $\text{NaOH } 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; $T = 25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$; atmosfera = $\text{N}_2\text{-R}$.

Figura 17 - Gráfico de Scatchard referente à titulação conforme Figura 16.

Figura 18 - Titulação de AHB com íons Pb^{2+} . $V = 20,00 \text{ mL}$ da suspensão - $22,10 \text{ mg.L}^{-1}$ com solução de $\text{Pb}^{2+} 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em força iônica $0,02 (\text{NaNO}_3)$; $\text{pH} = 6,00 \pm 0,05$, ajustado com $\text{NaOH } 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; $T = 25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$; atmosfera = $\text{N}_2\text{-UP}$.

Figura 19 - Gráfico de Scatchard referente à titulação conforme Figura 18.

Figura 20 - Titulação de AHB com íons Cd^{2+} . $V = 20,00 \text{ mL}$ da suspensão - $33,15 \text{ mg.L}^{-1}$ com solução de $\text{Cd}^{2+} 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em força iônica $0,02 (\text{NaNO}_3)$; $\text{pH} = 6,00 \pm 0,05$, ajustado com $\text{NaOH} 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; $T = 25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$; atmosfera = N_2 -UP.

Figura 21 - Gráfico de Scatchard referente à titulação, conforme Figura 20.

Figura 22 - Titulação de AHB com íons Zn^{2+} . $V = 40,00 \text{ mL}$ da suspensão - $33,15 \text{ mg.L}^{-1}$ com solução de $\text{Zn}^{2+} 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em força iônica $0,02 (\text{NaNO}_3)$; $\text{pH} = 6,00 \pm 0,05$, ajustado com $\text{NaOH } 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; $T = 25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$; atmosfera = $\text{N}_2\text{-UP}$.

Figura 23 - Gráfico de Scatchard referente à titulação, conforme Figura 22.

Os trabalhos voltados para esse tipo de estudo, normalmente apresentam mais enfoque para o elemento cobre, devendo-se mencionar que devido às diferentes procedências de cada amostra, os resultados são bastantes variáveis. Os resultados obtidos neste trabalho, são coerentes com aqueles publicados na literatura. A utilização do E.I.S. se mostrou bastante satisfatória para o estudo com íons Cu^{2+} . No caso do E.G.P.A., apesar de possuir uma grande limitação, associada com a oxidação do metal contido no amálgama, permitiu obter bons resultados para o estudo com íons metálicos Pb^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+} . Para o estudo com íons Cu^{2+} e Pb^{2+} , foi possível determinar a contribuição de duas classes de sítios complexantes $j = 1$ e $j = 2$, conforme Figuras 17 e 19, ao passo que para Cd^{2+} e Zn^{2+} , foi possível caracterizar apenas uma classe, conforme Figuras 21 e 23.

As concentrações das suspensões utilizadas, em mg.L^{-1} , AHA = 32,10 e AHB = 33,15, e para as titulações com íons Pb^{2+} = 21,40 para AHA e 22,10 para AHB, estão de acordo com alguns dos trabalhos consultados, pois em valores inferiores, o efeito de complexação seria muito pouco pronunciado, devido às baixas concentrações de sítios disponíveis. Tal fato, pode ser notado verificando as diferentes curvaturas para os quatro elementos, em concentrações semelhantes de ligante, devido aos diferentes $\log {}^jK$ e jC_c , conforme Figuras 16, 18, 20 e 22. Além disso, em concentrações mais baixas de substâncias húmicas, os incrementos de íons metálicos na titulação, deveriam ser menores, estando abaixo da faixa de resposta Nernstiana dos eletrodos potenciométricos.

De acordo com os resultados obtidos, é indicativo que a ordem de estabilidade média para os complexos obtidos é: $\log K \text{ Cu-AH} > \log K \text{ Pb-AH} > \log K \text{ Cd-AH} \cong \log K \text{ Zn-AH}$; e em relação a jC_c , pode-se dizer que: ${}^jC_c\text{-Pb} > {}^jC_c\text{-Cu} > {}^jC_c\text{-Cd} \cong {}^jC_c\text{-Zn}$. Embora as amostras sejam de procedências diferentes, os resultados obtidos são muito próximos. As Figuras 24 e 25, mostram respectivamente o $\log {}^jK$ e jC_c para as amostras AHA e AHB com os 4 íons metálicos estudados, para as classes de sítios complexantes $j = 1$ ou $j = 2$. Os valores mínimo e máximo, descritos na literatura, representam resultados obtidos em trabalhos publicados.

Figura 24 - $\log i_K$ para amostras AHA e AHB com os 4 íons metálicos estudados. Lit. mín e máx., são respectivamente os valores mínimo e máximo, observados na literatura, conforme referências [1,16-18,42,49-51 e 56].

Figura 25 - i_{C_c} para amostras AHA e AHB com os 4 íons metálicos estudados. Lit. mín e máx., ídem à Figura 24.

4.4 - Estudo de adsorção de íons Cu^{2+} no sedimento de Barra Bonita

Através da aplicação do método gráfico de Scatchard, foi possível caracterizar duas classes de sítios, contribuindo para o efeito de adsorção entre o sedimento de Barra Bonita e os íons Cu^{2+} . A Tabela 23, e as Figuras 26 e 27, mostram os resultados obtidos através da utilização do E.I.S., para as amostras A, B e C, sendo que A = amostra de sedimento triturada e seca; B = ídem à A, seguida de tratamento com HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; C = ídem à B, porém submetida ao tratamento com NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. A Tabela 24 e a Figura 28, mostram os resultados através do uso de E.A.A., para as mesmas amostras. As Figuras 26, 27 e 28, são referentes a amostra A do sedimento, sendo que para B e C, os gráficos obtidos foram similares.

Tabela 23 - Resultados do estudo de adsorção de íons Cu^{2+} para o sedimento de Barra Bonita por E.I.S.. 1C_a = capacidade de adsorção em $\mu\text{mol.g}^{-1}$.

	AMOSTRA		
	A	B	C
$\log ^1K$	$6,15 \pm 0,02$	$5,2 \pm 0,7$	$5,6 \pm 0,1$
1C_a	$7,6 \pm 0,5$	$3,4 \pm 0,3$	$1,5 \pm 0,2$
$\log ^2K$	$3,80 \pm 0,01$	$4,6 \pm 0,2$	$5,04 \pm 0,04$
2C_a	35 ± 11	6 ± 2	$1,5 \pm 0,2$
$^1C_a + ^2C_a$	43 ± 11	9 ± 2	$3,0 \pm 0,4$

$T = 25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$; $\text{pH} = 6,0 \pm 0,1$, ajustado com solução de NaOH $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ em força iônica $0,02$ (NaNO_3); atmosfera N_2 ; volume = $20,00 \text{ mL}$; Conc. da amostra = $5,00 \text{ g.L}^{-1}$; titulante = solução de Cu^{2+} $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$, em força iônica $0,02$, adicionado com microbureta de pistão Gilmont GS 4200 A; E.I.S. $\text{Cu} \times \text{Ag/AgCl}$. Os resultados representam a média de 2 determinações.

Figura 26 - Titulação da amostra A do sedimento de Barra Bonita. Condições: força iônica 0,02 (NaNO_3); $T = 25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$; $\text{pH} = 6,0 \pm 0,1$, ajustado com solução de NaOH $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$; atmosfera $\text{N}_2\text{-R}$; volume = $20,00 \text{ mL}$; Conc. da amostra = $5,00 \text{ g.L}^{-1}$; titulante = solução de Cu^{2+} $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$; E.I.S. Cu.

Figura 27 - Gráfico de Scatchard obtido pela titulação da amostra A, por E.I.S.

Tabela 24 - Resultados do estudo de adsorção de íons Cu^{2+} para o sedimento de Barra Bonita por E.A.A. 1C_a em $\mu\text{mol.g}^{-1}$.

	AMOSTRA		
	A	B	C
$\log ^1K$	$5,8\pm 0,7$	$5,8\pm 0,2$	$6,0\pm 0,2$
1C_a	10 ± 4	3 ± 1	$1,1\pm 0,1$
$\log ^2K$	$3,71\pm 0,06$	$4,62\pm 0,08$	$4,95\pm 0,04$
2C_a	41 ± 10	7 ± 1	$1,1\pm 0,3$
$^1C_a + ^2C_a$	51 ± 14	10 ± 2	$2,2\pm 0,4$

Concentração de sedimento = $5,00 \text{ g.L}^{-1}$; volume = $20,00 \text{ mL}$ em NaNO_3 $0,02 \text{ mol.L}^{-1}$; $\text{pH} = 6,0\pm 0,1$, ajustado com solução de NaOH $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ em força iônica $0,02$; $\lambda = 324,7 \text{ nm}$; corrente da LCO = 20 mA ; abertura da fenda = $0,7 \text{ nm}$; chama $\text{ar-C}_2\text{H}_2$ oxidante. Os resultados representam a média de 2 determinações.

Figura 28 - Gráfico de Scatchard obtido pela titulação da amostra A, por E.A.A. As condições estão descritas na Tabela 24.

De acordo com as Tabelas 23 e 24, pode-se verificar que a estimativa do desvio padrão nos resultados obtidos é bastante elevada, o que pode ser indicativo de heterogeneidade do material, ou que as diversas passagens operacionais, acabam contribuindo como fontes de erro, como por exemplo as dificuldades para acerto de pH. Constata-se uma significativa diminuição da capacidade de complexação/adsorção, após os tratamentos com HCl (amostra B) e NaOH (amostra C). Este fato, estaria em princípio relacionado com a solubilização de fases adsorventes, ou formadores de compostos pouco solúveis, entre os quais, pode-se mencionar óxidos hidratados de ferro, alumínio e manganês, bem como carbonatos, durante o tratamento com ácido clorídrico.

A diminuição da capacidade de complexação/adsorção da amostra C em relação a amostra B, estaria relacionada a extração da substância húmica do sedimento.

Em relação as duas técnicas empregadas E.I.S. e E.A.A., não foram encontradas diferenças significativas. Este fato sugere que pode ser utilizado um ou outro método, de acordo com a conveniência.

No sentido de verificar se o tratamento com NaOH removeria apenas a matéria húmica, mantendo intactos os teores de Fe, Al e Mn, realizou-se as análises dos teores desses metais nas amostras A, B e C, e também nos ácidos húmicos da Aldrich e extraído do sedimento. Paralelamente, determinou-se os teores de Pb, Cd, Zn e Cu em todas as amostras, conforme descrito em 3.6.9. Os resultados destas análises são apresentados na Tabela 25, além do teor de carbono em cada uma das amostras. Os resultados de Pb e Cd foram omitidos, pois ficaram abaixo do limite de detecção por E.A.A.

Tabela 25 - Teores de íons metálicos e carbono do sedimento de Barra Bonita, e nas amostras de ácido húmico. Resultados em $\mu\text{g.g}^{-1}$, e teor de carbono em %.

Elemento	AMOSTRA				
	A	B	C	AHA	AHB
Al	6476 $\pm$ 663	4838 $\pm$ 124	953 $\pm$ 18	1700	432
Fe	5093 $\pm$ 18	2983 $\pm$ 18	998 $\pm$ 11	9723	1507
Mn	342 $\pm$ 4	41 $\pm$ 1	16,3 $\pm$ 0,4	ND	ND
Cu	49 $\pm$ 2	63 $\pm$ 1	50 $\pm$ 1	54	158
Zn	30,8 $\pm$ 0,4	29,8 $\pm$ 0,4	22,3 $\pm$ 0,4	32,3	32,6
C	0,50 $\pm$ 0,04	0,29 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,02	55,3	54,1

ND = não detectado. Os resultados representam a média de 2 determinações para os teores de metais no sedimento, 1 para AHA e AHB, e 3 para os teores de C no sedimento. Condições conforme Tabela 7.

A extração efetuada com $\text{HCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, causou considerável diminuição no teor de metais como Al, Fe e Mn na amostra A, talvez decorrente da presença dos mesmos na forma de óxidos que solubilizaram, sendo removidos no extrato, ou mesmo, como carbonatos, o que pode ser constatado pelo menor teor de carbono na amostra B.

No caso da extração com $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ na amostra B, houve grande remoção dos metais, o que para o Al pode ser explicado pela alta concentração de OH^- , que poderia gerar o complexo aluminato solúvel. No caso do Fe, a tendência seria o Fe^{3+} precipitar como Fe(OH)_3 , e com o repouso ficar incorporado ao sedimento e portanto manter um teor na amostra C semelhante à B. Este fato, sugere que cátions de Fe e Al, poderiam estar tão fortemente ligados à pequena quantidade de matéria orgânica, que seriam arrastados junto com a mesma na fração alcalina solúvel. Esta hipótese, pode ser verificada a partir dos resultados da concentração de íons metálicos nas amostras AHA e AHB, mostradas na Tabela 25, onde são observadas elevadas concentrações de Fe, Al, Cu e Zn, mesmo após o tratamento realizado de acordo com o método da S.I.S.H. [22], que resultou num teor de cinzas de 4,3% para AHA e 1,3% para AHB, conforme Tabela

13. Deve-se lembrar que o teor de cinzas de AHA é superior, pois esta foi submetida apenas à fase final de purificação.

O modelo de estrutura mostrado na Figura 5, proposto por Kleinhempel [27], mostra elementos como Fe, Al e Si, como parte de uma possível estrutura terciária do AH, o que reforça essa hipótese.

Os resultados confirmam a importante participação das substâncias húmicas na capacidade de adsorção de sedimentos, e sugerem que íons metálicos trivalentes (Fe^{3+} , Al^{3+}) e divalentes (Cu^{2+}), fazem parte da estrutura terciária da substância húmica, o que no entanto deveria ser confirmado através de uma investigação mais aprofundada.

5 - CONCLUSÕES

5.1 - A metodologia mais simplificada de extração de ácido húmico, conforme exposto em 3.5.1, mostrou-se adequada para as amostras com baixos valores aparentes de área superficial e alto teor de matéria orgânica, como o húmus de minhoca; contudo para as amostras, cuja área superficial e teor de sílica são mais elevados, como do sedimento de Barra Bonita, não foram observados bons resultados, sendo necessária a utilização do método proposto pela S.I.S.H. Essa observação está fundamentada nos teores de carbono e cinzas, obtidos para ambas amostras, pelos dois métodos empregados, de modo que para extrações de AH de sedimentos arenosos (alto teor de SiO_2), recomenda-se o método proposto pela S.I.S.H..

5.2 - Através do presente trabalho, foi possível verificar um ótimo resultado no que diz respeito as titulações potenciométricas das suspensões de ácido húmico, quando em confronto com outros métodos como condutométrico, acetato de cálcio e barita. Deve-se mencionar, a vantagem de ser possível caracterizar a concentração das contribuições de cada grupo de sítios ionizáveis, com seus respectivos pKa. Embora exista uma certa dificuldade no tratamento dos dados obtidos, quando as suspensões a serem tituladas estão em baixas concentrações, o método aplicado se mostrou altamente satisfatório, e com boa reprodutibilidade.

5.3 - A medida da relação E4/E6, indica que as amostras de ácido húmico da Aldrich e de Barra Bonita, apresentam baixo grau de condensação de grupos aromáticos, tendo provavelmente um caráter mais alifático, e massa molar relativamente baixa. Os espectros na região do infravermelho para ambas amostras, indicam grande similaridade com aqueles apresentados na literatura.

5.4 - O método potenciométrico com E.G.P.A., mostrou-se bastante adequado aos estudos de propriedades de complexação de substâncias húmicas. Com relação aos resultados obtidos para as constantes de estabilidades médias condicionais (iK), pode-se dizer que as substâncias húmicas estudadas apresentam forte interação com íons Cu^{2+} , seguido por Pb^{2+} . No caso dos íons Cd^{2+} e Zn^{2+} , esse efeito não é tão pronunciado. Para a capacidade complexante (iC_c), o Pb^{2+} , apresenta valores bastante elevados, seguido pelo Cu^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+} , sendo estes dois últimos valores semelhantes entre si. Quando se considera a concentração de grupos de sítios ionizáveis até $\text{pH} = 6,00$ na titulação ácido-base, em mesma força iônica do estudo de complexação, são obtidos os valores $2,5 \pm 0,1 \text{ mmol.g}^{-1}$ para a amostra da Aldrich e $2,0 \pm 0,1 \text{ mmol.g}^{-1}$ para Barra Bonita, ou seja, os valores de $^1C_c + ^2C_c$, para os íons Cu^{2+} , Cd^{2+} , e Zn^{2+} , são inferiores a estes, mostrando coerência nos resultados. Em relação ao Pb^{2+} , observou-se resultados de $^1C_c + ^2C_c$ mais elevados, o que permite inferir que esse cátion consegue deslocar prótons do ácido húmico, ainda que em $\text{pH} 6,0$. O método gráfico de Scatchard, utilizado no tratamento dos dados, apesar da subjetividade na escolha dos pontos para definir os segmentos de reta, permitiu obter resultados com baixos valores para as estimativas dos desvios padrões. Os valores obtidos são coerentes com a literatura, embora o número de trabalhos efetuados em condições similares não seja muito grande.

5.5 - O tratamento do sedimento de Barra Bonita com solução de $\text{HCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, e $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, mostrou uma grande diminuição na capacidade de adsorção por íons Cu^{2+} , presumivelmente pela remoção do material húmico e fases adsorventes como óxidos hidratados. O AH extraído do sedimento, apresenta ainda considerável quantidade de íons metálicos, os quais provavelmente fazem parte de sua estrutura. Uma etapa adicional, envolvendo adsorção do AH sobre o sedimento, seguido da adsorção com íons Cu^{2+} conforme exposto, poderia gerar informações mais consistentes sobre a importante participação do material húmico, nos efeitos de adsorção e complexação de íons metálicos.

6 - PROPOSTAS FUTURAS

Estudar propriedades de complexação, utilizando técnica voltamétrica ou polarográfica no sentido de avaliar a labilidade dos complexos formados.

Melhorar a forma de tratamento dos dados, através do emprego de isoterms de multisítios de Langmuir, com tratamento computacional dos dados experimentais.

Estudar propriedades de complexação e adsorção de íons metálicos e substâncias orgânicas, sobre suportes inorgânicos de baixo custo, como argilas, bem como tais suportes modificados por adsorção de substâncias húmicas. O objetivo deste tipo de estudo, estaria relacionado ao desenvolvimento de materiais para tratamento de efluentes de metais pesados [84] e/ou substâncias orgânicas tóxicas, como resíduos de pesticidas.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] - Stevenson, F.J.; Humus Chemistry; Genesis, Composition, Reaction; John Wiley & Sons, New York (1992);
- [2] - Paula, J.R.; Estudo da Influência das substâncias Húmicas na absorção de metais por plantas através de técnicas analíticas, Dissertação de Mestrado, Instituto de Física e Química de São Carlos, Universidade de São Paulo (1992);
- [3] - Barros, M.C.P.; Paula, J.R.; Rezende, M.O.O.; Química Nova **17-5** (1994) 376;
- [4] - Maillard, L.C.; Ann. Chim. Phys.; **5** (1916) 258; Apud: Stevenson [1];
- [5] - Steelink, C.; Journal of Chemical Education; **40** (1963) 379;
- [6] - Kononova, M.M.; Soil Organic Matter; Pergamon Press, Oxford (1966); Apud: Stevenson [1];
- [7] - Fuchs, W.; Kolloid Ztschr.; **52** (1930) 124; Apud: Stenvenson;
- [8] - Fuchs, W.; Die Chemie der Kohle, Springer, Berlin (1931); Apud: Stevenson [1];
- [9] - Hobson, R.P.; Page, H.J.; J. Agr. Sci.; **22** (1932) 297, 497, 516; Apud: Stevenson [1];
- [10] - Waksman, S.A.; Humus; Williams and Wilkins, Baltimore (1936); Apud: Stevenson [1];
- [11] - Wilson, M.A.; Jones, A.J.; and Williamson, B.; Nature; **276** (1978) 487; Apud: Buffle [13];
- [12] - Merian, E.; Metals and Their Compounds in the Environment, VHC, Weinheim, (1991);
- [13] - Buffle, J.; Complexation Reactions in Aquatic Systems; An Analytical Approach; Ellis Horwood Series in Analytical Chemistry, New York, (1990);
- [14] - Thurman, E.M.; Organic Geochemistry of Natural Waters, Developments in Biogeochemistry, Martinus Nijhoff Dr. W. Junk Publishers, (1985);
- [15] - Hutzinger, O.; The Natural Environment and the Biogeochemical Cycles, vol.1, part A, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, (1980);

- [16] - Bernhard, J.P.; Buffle, J.; Parthasarthy, N.; *Analytica Chimica Acta*; **200** (1987) 191;
- [17] - Pinheiro J.P.; Mota, A.M.; Gonçalves, M.L.S.; *Analytica Chimica Acta*; **284** (1994) 525;
- [18] - Saar, R.A.; Weber, J.H.; *Canadian Journal of Chemistry*; **57** (1979) 1263;
- [19] - Achard, F.K.; *Crell's Chem. Ann.*; **2** (1786) 391; Apud: Stevenson [1];
- [20] - Cheschire, M.V.; *Nature and Origin of Carbohydrate in Soils*, Academic Press, London, (1979); Apud: Buffle [13];
- [21] - Yoshida, M.; Sakagami, K.; Hamada, R; Kurobe, T. ; *Soil Sci. Plant Nutr.*; **25** (1979) 217; Apud: Buffle [13];
- [22] - Llaguno, E.C.; Beckett, V.V.; Wershaw, R.L.; Pinckney, D.J.; *Analytica Chimica Acta*; **232** (1990) 31;
- [23] - Kim, J.I.; Buckau, G.; Li, G.H.; Duscher, H.; Psarros, N.; *Fresenius J. Anal. Chem.*; **338** (1990) 245;
- [24] - Schnitzer, M.; *Agrochimica*; **22** (1978) 216;
- [25] - Schnitzer, M.; in *Soil Organic Matter*; Schintzer, and Khan, S.U.; (eds.) Chap. 1 Elsevier, Amsterdam, (1978); Apud: Buffle [13];
- [26] - Dragunov, S.S.; Zhelokhovtseva, N.J.; Strelkova, E.I.; *Pochvovedenie*; 407 (1948); Apud: Buffle [13];
- [27] - Kleinhempel, D.; *Albrecht Thaer Arch.*; **14** (1970) 3; Apud: Buffle [13];
- [28] - Freudenberg, K.; Neish, A.C.; *Constitution and Biosynthesis of Lignin*; Springer-Verlag, Berlin, (1968); Apud: Buffle [13];
- [29] - Schnitzer, M.; *Chemical Spectroscopic, and Thermal Methods for the classification and Characterization of Humic Substances*, in *Proc. Intern. Meetings on Humic Substances*, Pudoc, Wageningen, (1972), pág. 293-310; Apud: Stevenson [1];
- [30] - Masini, J.C.; *Analytica Chimica Acta*; **283** (1993) 803;
- [31] - Aleixo, L.M.; Godinho, O.E.S.; Costa, W.F.; *Analytica Chimica Acta*; **257** (1992) 35;
- [32] - Masini, J.C.; *Talanta*; **41** (1994) 1383;

- [33] - Masini, J.C.; Abate, G.; Lima, E.C.; Hahn, L.C.; Nakamura, M.S.; Lichtig, J.; Nagatomo, H.R.; *Analytica Chimica Acta*; **364** (1998) 223;
- [34] - Dzombak, D.A.; Fish, W.; Morel, F.M.M.; *Environ. Sci. Technol.* **20** (1986) 669.
- [35] - Fish, W.; Dzombak, D.A.; Morel, F.M.M.; *Environ. Sci. Technol.*; **20** (1986) 676;
- [36] - Wilson, D.E.; Kinney, P.; *Limnol. Oceanogr.* **22** (1977) 281;
- [37] - Wit, J.C.M.; Van Riemsdijk, W. H.; Koopal, L.; *Environ. Sci. Technol.* **27** (1993) 2015;
- [38] - Tipping, E.; Hurley, M.A.; *Geochim. Cosmochim. Acta* **56** (1992) 3627;
- [39] - Fukushima, M.; Tanaka, S.; Hasebe, K.; Taga, M.; Nakamura, H.; *Anal. Chim. Acta* **302** (1995) 365;
- [40] - Ephraim, J.; Alegret, S.; Mathutlu A.; Bicking, M.; Malcolm, R.L.; Marinsky, J.A.; *Environ. Sci. Technol.* **20** (1986) 354;
- [41] - Van Den Hoop, M.A.G.T.; Van Leeuwen, H.P.; *Analytica Chimica Acta*; **232** (1990) 141;
- [42] - Taga, M.; Tanaka, S.; Fukushima, M.; *Analytica Chimica Acta*; **244** (1991) 281;
- [43] - Belzile, N.; Joly, H.A.; Li, H.; *Can. J. Chem.* **75** (1997) 14;
- [44] - Tu, Q.; Shan, X.; Ni, Z.; *Fresenius J. Anal. Chem.*; **347** (1993) 330;
- [45] - Tegelaar, E.W.; Leeuw, J.W.; Saiz-Jimenes, C.; *Sci. Total Environ.*; **81/82** (1989) 1;
- [46] - Chiavari, G.; Torsi, G.; Fabbri, D.; Galletti, G.C.; *Analyst*, **119** (1994) 1141;
- [47] - McLaren, A.D.; Skujinš, J.; *Soil Biochemistry*, Marcel Dekker, Inc., New York, (1971);
- [48] - Wershaw, R.L.; Pinckney, D.J.; *Science* **199** (1978) 24;
- [49] - Mantoura, R.F.C.. Riley, J.P.; *Analytica Chimica Acta*, **78** (1975) 193;
- [50] - Tuschall, J.R.. Brezonik, P.L.; *Analytica Chimica Acta*, **149** (1983) 47;
- [51] - Guy, R.D.; Chakrabarti, C.L.; *Can.J.Chem.*; **54** (1976) 2600;
- [52] - Buffle, J.; Greter, F.L.; Haerdi, W.; *Analytical Chemistry*; **49** (1977) 216;

- [53] - Buffle, J.; Deladoey, P.; Greter, F.L.; Haerdi, W.; *Analytica Chimica Acta*; **116** (1980) 255;
- [54] - Gamble, D.S.; Underdown, A.W.; Langford, C.H.; *Anal. Chem.* **52** (1980) 1901;
- [55] - Marinsky, J.A.; Gupta, S.; Schindler, P.; *Journal of Colloid and Interface Science*; **89** (1982) 412;
- [56] - Jardim, W.F.; Allen, H.E.; in *Complexation of Trace Metals in Natural Waters*; Kramer, C.J.M.; Duinker, J.C.; Ed. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers; The Hague/ Boston/ Lancaster; p.1, (1984);
- [57] - Buffle, J.; Bernhard, J.P.; Tercier, M.L.; *J. Electroanal. Chem.*; **236** (1987) 67;
- [58] - Buffle, J.; Pelletier, M.; Monier, D.; *Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*; **43** (1973) 185;
- [59] - Buffle, J.; Altmann, R.S.; Filella, M.; Tessier, A.; *Geochim. Cosmochim. Acta*; **54** (1990) 1535;
- [60] - Zunino, H.; Martin, J.P.; *Soil Science*; **123** (1977) 188;
- [61] - Kinniburgh, D.G.; *Environ. Sci. Technol.*; **20** (1986) 895;
- [62] - Scatchard, G.; *Ann. N.Y. Acad. Sci.*; **51** (1949) 660;
- [63] - Klotz, I.M.; Hunston, D.L.; *Biochemistry*; **10** (1971) 3065;
- [64] - Serrano, S.; *Construção e Avaliação de Eletrodos de Membrana Sólida Cristalina Seletivos à Cobre e Prata*, Tese de Doutorado, Instituto de Química da USP, São Paulo, (1988);
- [65] - Evans, A.; *Potentiometry and ion selective electrodes*; John Wiley & Sons, Editor - Arthur M. James (1995);
- [66] - Angnes L.; *Estudos de Adsorção e Equilíbrio nos sistemas Cd(II)/SCN⁻/C₆H₁₂N₄ e Cd(II)/I⁻/SCN⁻. Aperfeiçoamento de Métodos e Eletrodo* - Tese de Doutorado, Instituto de Química da USP, São Paulo, (1987);
- [67] - Schorsch, G.; Ingri, N.; *Acta Chem. Scand.*; **21** (1967) 10;
- [68] - Ohtaki, H.; Tsurumi, M.; Kawai, Takayoshi; *Anal. Chem.*; **49** (1977) 190;
- [69] - Luts, P.; Vanhees, L.C.; Yperman, J.H.E.; Mullens, J.M.A.; Poucke, L.C.V.; *Talanta*; **37** (1990) 455;

- [70] - Vogel, A.I.; *Análise Inorgânica Quantitativa*, Guanabara, Rio de Janeiro, 4^o edição, (1981);
- [71] - Bevilacqua, J.E.; Estudos sobre a caracterização e a estabilidade de amostras de sedimentos do Rio Tietê, Tese de Doutorado, Instituto de Química da USP, São Paulo, (1996);
- [72] - Pehrson, L.; Ingman, F.; Johansson, A.; *Talanta* **23** (1976) 769;
- [73] - Gran, G.; *The Analyst*; **77** (1952) 661;
- [74] - Seymour, M.D.; Clayton, J.N.; Fernando, Q.; *Anal. Chem.*; **49** (1977) 1429;
- [75] - Masini, J.C.; *Aperfeiçoamento na Metodologia de Titulações Potenciométricas de Polieletrólitos com Ênfase a Proteínas Nativas e Desnaturadas*, Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas (1990);
- [76] - Aleixo, L.M.; Godinho, O.E.S.; *Química Nova*, **10-2** (1987) 83;
- [77] - Wang J.; *Stripping Analysis; Principles Instrumentation and Applications*; VHC Publishers, Deerfield Beach, USA (1985);
- [78] - Gulmini, M.; Zelano, V.; Daniele, P.G.; Prenesti, E.; Ostacoli, G.; *Analytica Chimica Acta*; **329** (1996) 33;
- [79] - Gulmini, M.; Zelano, V.; Daniele, P.G.; Ostacoli, G.; *Analytica Chimica Acta*; **358** (1998) 195;
- [80] - Fiedler, H.D.L.; *Método Común de Extracciones Secuenciales de Metales en Sedimentos: Estudio sobre la Preparación de un Material de Referencia Certificado*, Programa de Doctorado, Universitat de Barcelona, (1995);
- [81] - Thompson, M.; Wood, S.J.; *Atomic Absorption methods in Applied Geochemistry, Atomic Absorption Spectrometry*, vol. 5, Ed. John Edward Cattle, (1982);
- [82] - Neto, E.O.; A.B.M., *Associação Brasileira de Metais*, Ed. Édile;
- [83] - Eaton, A.D.; Clesceri, L. S.; Greenberg, A. E.; APHA, American Public Health Association - *Standard Methods for the examination of water and wastewater*; Joint Editorial Board; 19th; (1995);
- [84] - Queenie S.H.C.; *Contribuição ao Estudo da Vermiculita como Concentradora de Cátions*, Tese de Doutorado, Instituto de Química da USP, São Paulo, (1998).

8 - CURRICULUM VITAE

Nome: Gilberto Abate

Nascimento: São Paulo - SP em 23.11.1964

EDUCAÇÃO

Colégio: Sociedade Civil de Educação São Marcos, curso Técnico em Química.

Local: São Paulo - Capital, conclusão: 1982.

Graduação 1ª : Faculdades Oswaldo Cruz, curso de Química Industrial.

Local: São Paulo - Capital, conclusão: 1988.

Graduação 2ª : Faculdades Oswaldo Cruz, curso de Engenharia Química

Local: São Paulo - Capital, conclusão: 1992.

OCUPAÇÃO

Bolsista - Órgão financiador - CNPq

PUBLICAÇÕES

1 - Masini, J.C.; ABATE, G.; Lima, E.C.; Hahn, L.C.; Nakamura, M.S.; Lichtig, J.; Nagatomy, H.R.; "Comparison of methodologies for determination of carboxylic and phenolic groups in humic acids"; *Analytica Chimica Acta*; **364** (1998) 223;

2 - Trabalho aceito para publicação na revista Química Nova em novembro de 1998, ABATE, G. e Masini, J.C.; "Utilização de Eletrodos Potenciométricos de Amálgama em Estudos de Complexação de Substâncias Húmicas".

PARTICIPAÇÃO EM CONGRESSOS

1 - IX ENQA - Comparação de Metodologias para determinação de sítios ionizáveis em ácidos húmicos, e Influência da força iônica na caracterização de sítios ionizáveis em ácidos húmicos.

2 - 2º EBSH - Embrapa - Determinação de sítios ionizáveis em ácidos húmicos por titulação potenciométrica usando regressão não linear para tratamento dos dados.