INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

**Caracterização da composição química da matéria orgânica presente na lama
negra de Peruíbe**

LAYLA BADHIA SOUFIA

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear - Aplicações**

Orientador:
Prof. Dr. Paulo Sergio Cardoso da Silva

São Paulo
2019

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**Caracterização da composição química da matéria orgânica presente na
lama negra de Peruíbe**

Versão Corrigida

Versão Original disponível no IPEN

LAYLA BADHIA SOUFIA

**Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção de
grau de mestre em Tecnologia
Nuclear – Aplicações**

Orientador:

Dr. Paulo Sergio Cardoso da Silva

São Paulo

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho,
para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte

Como citar:

SOUFIA, L. B. ***Caracterização da composição química da matéria orgânica presente na lama negra de Peruíbe***. 2019. 88 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo.

Disponível em: (data de consulta no formato: dd/mm/aaaa)

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de geração automática da Biblioteca IPEN/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Soufia, Layla Badhia Caracterização da composição química da matéria orgânica presente na lama negra de Peruíbe / Layla Badhia Soufia; orientador Paulo Sergio Cardoso da Silva. -- São Paulo, 2019. 88 p.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear (Aplicações) -- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2019.

1. Lama Negra de Peruíbe. 2. Substâncias Húmicas. 3. Análise de Ativação Neutrônica Instrumental. 4. Ácido Húmico. 5. Ácido Fúlvico. I. Silva, Paulo Sergio Cardoso da, orient. II. Título.

À memória dos meus avós:

Badhia El Ghajar Soufia & Faouzi Soufia,

Iza Panzarini Rossini & Ricardo Rossini.

Suas memórias são meu maior tesouro!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço ao Prof. Dr. Paulo Sergio Cardoso da Silva, por ter acreditado em mim e por ter aceitado ser meu orientador. Agradeço, ainda, a sua paciência e tranquilidade, o trato simples, correto e amistoso. Agradeço-lhe também a sugestão do tema do trabalho, o qual me fez superar as dificuldades e evoluir profissionalmente. À ele a minha mais profunda e eterna gratidão.

Agradeço, em especial, ao meu pai William, à minha mãe Marli e ao meu irmão Willian Jr. que são o grande alicerce e a razão da minha vida.

Ao André, que me incentivou a continuar na trajetória, sem desistir.

Ao Lamário de Peruíbe e ao Dr. Paulo Flávio de Macedo Gouvêa pelo fornecimento das amostras.

Ao Prof.^o Dr. Marcelo José Pena Ferreira, do Instituto de Biociências/USP, pela paciência, auxílio e orientação para a realização da análise GC-MS.

Ao Prof.^o Dr. Marcos Scapim, pela gentileza na realização das análises de Fluorescência de Raio X.

À Prof.^a Cátia Saueia pela gentileza de ceder a estrutura do seu laboratório e o equipamento para a realização da análise de espectroscopia.

Aos amigos que encontrei no IPEN e Centro do Reator de Pesquisas - CRPq.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN.

Por fim, desejo expressar o meu sincero e profundo agradecimento a todos aqueles que, de alguma forma, permitiram que este estudo se concretizasse.

“Pois quando a gente entende que não entende coisa alguma é que a gente
está prestes a entender tudo.”

Jostein Gaarder

Caracterização da composição química da matéria orgânica presente na lama negra de Peruíbe.

Layla Badhia Soufia

RESUMO

A Lama Negra de Peruíbe, encontrada nas margens do Rio Preto, é conhecida por suas propriedades curativas e por possui poder anti-inflamatório, pode ser aplicado na recuperação de diferentes patologias dermatológicas, tais como: psoríase, dermatites periféricas e acne, e em tratamentos de artrites (obliterantes ou reumatóide), artropatias (crônicas e subcrônicas secundárias), reumatismo, mialgias, nevrites, entre outros. Rica em compostos químicos orgânicos e inorgânicos, apresenta em sua composição minerais como: argila-silítica, quartzo, halita, filossilicatos e argilominerais apresentando silício, sulfato, zinco chumbo, cromo, níquel e alumínio em sua composição química principal enquanto as análises microbiológicas revelaram a presença de microorganismos e material orgânico oriundo do processo biológico-metabólico, denominado de substâncias húmicas. Embora as argilas (ou os pelóides) sejam consideradas materiais naturais, elas não estão isentas de possíveis efeitos danosos à saúde quando utilizadas com fins terapêuticos. Essa situação destaca a importância da pesquisa científica na caracterização química da Lama Negra de Peruíbe, em primeiro lugar, para encontrar os substratos orgânicos e inorgânicos e suas propriedades terapêuticas. Com intuito de fornecer algum suporte para seu uso médico, e, em segundo lugar, certificar a sua qualidade para ser utilizado em tratamentos médicos. É necessário avaliar a composição química, em particular, da matéria orgânica, fortemente influenciada pela atividade microbiana e pela disponibilidade de componentes orgânicos. A caracterização da composição orgânica foi realizada pela extração e purificação de ácidos fúlvicos e ácidos húmicos, análise do teor de cinzas, determinação da acidez total, carboxílica e fenólica, análise da composição elementar (C, H, N e O), análise espectroscópica de absorção no ultravioleta/visível, e análise por ativação neutrônica associada à espectrometria gama.

Palavras chaves: Lama Negra de Peruíbe, matéria orgânica, ácido húmico.

Characterization of the chemical composition of the organic matter present in Peruíbe's Black Lama

Layla Badhia Soufia

ABSTRACT

Peruíbe's Black mud, found on the banks of Rio Preto, is known for its healing properties and its anti-inflammatory properties, and can be applied in the recovery of different dermatological conditions, such as psoriasis, peripheral dermatitis and acne. Treatments of arthritis (obliterans or rheumatoid), arthropathies (chronic and secondary subchronic), rheumatism, myalgias, nevrites, among others. Rich in organic and inorganic chemical compounds, it presents minerals such as: silica, quartz, halite, phyllosilicates and clay minerals with silicon, sulfate, lead zinc, chromium, nickel and aluminum in their main chemical composition, while microbiological analyzes revealed The presence of microorganisms and organic material from the biological-metabolic process, called humic substances. Although clays (or pellets) are considered natural materials, they are not exempt from possible harmful effects on health when used for therapeutic purposes. This situation highlights the importance of scientific research in the chemical characterization of Peruíbe's Black Lama, firstly to find the organic and inorganic substrates and their therapeutic properties. In order to provide some support for your medical use, and secondly, certify its quality for use in medical treatments. It is necessary to evaluate its chemical composition, in particular, the organic matter, strongly influenced by the microbial activity and the availability of organic components. The characterization of the organic composition was done by extracting and purifying fulvic acids and humic acids, analyzing the ash content, determining the total acidity, carboxylic and phenolic, analyzing the elemental composition (C, H, N and O), spectroscopic analysis of ultraviolet/visible absorption, and neutron activation analysis associated with gamma spectrometry.

Key words:Peruíbe's Black Mud, organic matter, humic acids.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	Uso terapêutico de minerais	10
1.2	Lama Negra de Peruíbe	11
1.3	Substâncias Húmicas	15
1.3.1	Formação das substâncias húmicas	16
1.3.2	Estrutura molecular das substâncias húmicas	18
1.3.3	Interação com íons metálicos	24
1.3.4	Efeitos terapêuticos das substâncias Húmicas	25
1.4	Técnicas aplicadas para a caracterização química da matéria orgânica da LNP	26
1.4.1	Teor de Umidade	26
1.4.2	Teor de cinzas	27
1.4.3	Perda ao fogo	27
1.4.4	Acidez total, carboxílica e fenólica	28
1.4.5	Análise elementar	30
1.4.6	Espectroscopia de absorção no ultravioleta/visível (razão E_4/E_6)	30
1.4.7	Análise por Ativação Neutrônica Instrumental associada à Espectrometria Gama	31
1.4.8	Fluorescência de raio X	35
2	OBJETIVOS	38
2.1	Objetivos gerais	38
2.2	Objetivos específicos	38
3	MATERIAIS & MÉTODOS	40
3.1	Amostragem	40
3.2	Teor de Umidade	42
3.3	Preparação das amostras para os demais procedimentos	43
3.4	Extração das substâncias húmicas	43
3.5	Teor de cinzas	45
3.6	Perda ao fogo	45
3.7	Acidez total, carboxílica e fenólica	46
3.7.1	Acidez Total	46
3.7.2	Acidez Carboxílica	47
3.7.3	Acidez Fenólica	47
3.8	Análise elementar	48
3.9	Espectroscopia de absorção no ultravioleta/visível (razão E_4/E_6)	48
3.10	Análise por Ativação Neutrônica Instrumental associada à Espectrometria Gama	48

3.11	Fluorescência de raio X.....	50
4	RESULTADOS.....	51
4.1	Teor de umidade.....	51
4.2	Extração e quantificação das substâncias húmicas.....	51
4.3	Teor de cinzas.....	51
4.4	Perda ao Fogo.....	52
4.5	Acidez total, carboxílica e fenólica.....	52
4.6	Análise Elementar.....	53
4.7	Espectroscopia de absorção no ultravioleta/visível (razão E_4/E_6).....	53
4.8	Análise por Ativação Neutrônica Instrumental associada à espectrometria gama....	53
5	ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	61
5.1	Teor de umidade.....	61
5.2	Extração e quantificação das substâncias húmicas.....	62
5.3	Teor de cinzas.....	63
5.4	Perda ao Fogo.....	64
5.5	Acidez total, carboxílica e fenólica.....	65
5.6	Análise Elementar.....	67
5.7	Espectroscopia de absorção no ultravioleta/visível (razão E_4/E_6).....	68
5.8	Análise por Ativação Neutrônica Instrumental associada à espectrometria gama....	69
5.9	Fluorescência de Raio X.....	76
6	CONCLUSÕES	80
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82

1 INTRODUÇÃO

1.1 Uso terapêutico de minerais

O uso de minerais com proposta terapêutica é uma prática milenar, particularmente no que diz respeito às argilas minerais (LÓPEZ-GALINDO & VISERAS, 2004; CARRETERO et al., 2006, CARRETERO et al., 2013).

Por um longo tempo, a argila era usada na cicatrização de feridas, para aliviar irritações na pele, com finalidade anti-inflamatória e para tratar desordens gastrointestinais. Atualmente, tem se destacado seu uso na indústria farmacêutica como princípio ativo, devido à sua alta capacidade de adsorção, como excipiente, influenciando os processos de liberação de medicamentos quando administrada oralmente. Além disso, pode ser usada como cosmético, pela sua característica de absorver substâncias como gorduras e toxinas (CHURCHMAN et al., 2006). O alto número de aplicações desse material se deve à grande variedade mineral na sua composição, frequência de ocorrência e propriedades particulares (LÓPEZ-GALINDO & VISERAS, 2004). Neste contexto, os tratamentos terapêuticos que utilizam argilas têm adquirido grande importância econômica.

No tratamento terapêutico envolvendo argilas, um de seus usos é em sua forma de lama, composta por uma mistura de materiais orgânicos, inorgânicos e água. Esse material permanece em contato com água (minero-medicinal, marinha ou de lagos salgados) num processo chamado de maturação e a mistura pastosa obtida é chamada de pelóide (VENIALE et al., 2004; GOMES et al., 2013).

Durante o processo de maturação as lamas são progressivamente colonizadas por micro-organismos termofílicos, os quais contribuem para a potencialização dos efeitos dos pelóides e pelo enriquecimento destes em substâncias orgânicas. Alguns estudos apontam as diatomáceas, um organismo unicelular encontrado em águas marinhas, como sendo os principais agentes das lamas termais, capazes de produzir sulfoglicolipídeos anti-inflamatórios, os quais tornam as lamas adequadas para o uso terapêutico (QUINTELA et al. 2012).

1.2 Lama Negra de Peruíbe

No sudeste brasileiro, a Lama Negra de Peruíbe (LNP), encontrada na cidade de Peruíbe, município do litoral sul do estado de São Paulo (Figura 1), tem sido extensivamente usada para tratamentos terapêuticos. O material ocorre na planície da cidade de Peruíbe, acumulando-se nos diques adjacentes ao Rio Preto (Figura 2), durante eventos de transbordamentos, originando um depósito contendo, aproximadamente, 83 mil toneladas do material numa profundidade de 75 metros. O que leva à cidade a maior jazida natural contínua do mundo, transformando o município em um ponto de destaque turístico com grande potencial econômico (BRITSCHKA, 2006).

Figura 1 – Localização da cidade de Peruíbe no Estado de São Paulo

Fonte: g1.globo.com, 2019.

Figura 2 – Localização do depósito de LNP na cidade de Peruíbe

Fonte: Google Maps, 2019.

Importante ressaltar que o solo característico dessa região é o mangue. O solo dos manguezais caracteriza-se por ser úmido, salgado, lodoso, pobre em oxigênio e muito rico em nutrientes. Por possuir grande quantidade de matéria orgânica em decomposição, por vezes apresenta odor característico. De uma maneira geral, ocorrem nas várzeas da baixada litorânea, como parte dos estuários de rios, próximo às lagoas e pequenas depressões da faixa litorânea, sob vegetação de mangues com influência das marés.

O tratamento com a LNP é realizado no ‘Complexo Thermal da Lama Negra de Peruíbe’ (Figura 3), comumente chamado de “Lamário”, funcionando como uma unidade ligada à rede municipal de saúde e, conseqüentemente, ao Sistema Único de Saúde - SUS. Trata-se do único Centro de Termalismo Social do Programa de Práticas Complementares e Integrativas do Ministério da Saúde instituído pela Portaria MS nº: 971, de 3 de maio de 2006.

Figura 3 – Complexo Thermal da Lama Negra de Peruíbe (à esquerda) e Lamário (à direita).

Fonte: Prefeitura Municipal da Estância Balneária de Peruíbe, 2018.

No “Lamário”, antes de ser maturada, a LNP coletada é submetida à tamisação, com peneira de abertura de 2 mm, com a finalidade de separar pedras e pedaços de galhos. A maturação é feita, mantendo a LNP em contato com a água do mar por 6 meses. Durante esse período a água é trocada 2 vezes ao mês. Não é empregada agitação durante o processo de maturação (SILVA et al., 2015).

A LNP é comumente usada para o tratamento de psoríase, dermatite periférica, acne e seborreia, mialgia, artrites e processos reumáticos não articulares. A atividade terapêutica e eficácia anti-inflamatória da LNP já foi

testada e descrita por BRITSCHKA et al. (2007). De acordo com esta autora, a LNP

apresentou efeito anti-inflamatório nos modelos experimentais de artrite induzida por zymosan (AIZ) e osteoartrite (OA) e também reduziu a degradação da cartilagem. Conforme a recomendação desta autora, a utilização da LNP para tratamento de doenças crônicas articulares é indicada como terapia complementar.

Contudo, quando usada com propostas terapêuticas, um pelóide não está isento, à princípio, da possibilidade de causar efeitos adversos à saúde. (CARA et al. 2000; VRECA & DOLENEC, 2005; PLUMLEE et al., 2006; LÓPEZ-GALINDO et al., 2007; CANTALUPPI et al., 2014).

Estudos já realizados na LNP determinaram que é um material diferenciado por possuir alto teor de matéria orgânica, contudo não existem pesquisas que a caracterizam. Essa situação destaca que é necessário avaliar a composição química da matéria orgânica, fortemente influenciada pela atividade microbiana e pela disponibilidade de componentes orgânicos, com intuito de fornecer alguns dados fundamentais, que são úteis para compreender os seus efeitos terapêuticos.

Uma caracterização química e mineralógica da LNP foi feita por TORRECILHA (2014) que determinou a seguinte composição:

- granulometria característica de material silto-argiloso (22% de argila e 39% de silte) e areia (33% total de areia grossa e fina) sendo o restante (6%) provavelmente composto por matéria orgânica;
- pH aproximadamente neutro para amostras *in natura* e maturadas;
- o teste do grau de inchamento realizado com água e hexano, mostrou que a LNP tem pouca interação tanto com o solvente polar quanto com solvente apolar, característico da presença da sílica;
- quanto a composição mineralógica foi determinado que a LNP maturada apresenta como componente majoritário o quartzo com pequenas quantidades de ilita, gypso, caulinita, feldspato e halita;
- a capacidade de troca catiônica, um importante parâmetro para as lamelas de uso medicinal, foi de 26 a 36 meq/100g, determinado em quatro amostras (duas *in natura* e duas maturadas);

- quanto à composição química foi verificado que a LNP maturada apresenta teores ligeiramente superiores de Ca, Cl, Fe, K, Mg, P

e Ti, em relação à LNP *in natura*. Este enriquecimento provavelmente ocorre em função de processos de precipitação que ocorrem pela adição de água do mar durante o processo de maturação;

- com relação aos elementos menores e traço foi verificado que a LNP é enriquecida nos elementos As, Br, Cr, Sb, Se e Zn e empobrecida nos elementos Ca, Rb e Ta quando comparada com os valores da crosta continental superior.

TORRECILHA (2014) também verificou a disponibilidade dos elementos químicos presentes na LNP que podem eventualmente ser trocados e absorvidos pela pele durante a sua aplicação, por meio de extração sequencial e extração simples com suor artificial. Foi verificado que entre os elementos analisados, Ca, Mg, Mn e Na estão mais disponíveis na fração mais facilmente trocável da extração sequencial. Na extração com suor artificial verificou-se que os elementos extraídos em maior quantidade foram Ca, K, Mg e Na.

No estudo realizado por SILVA et al. (2015) foi realizada uma caracterização química e radiológica da LNP onde foi constatado que o conteúdo de matéria orgânica varia de 5,2% a 20% para amostras após o processo de maturação. Foi determinado que a LNP é um tipo de material principalmente composto por lodo argiloso e partículas de tamanho fino. Quartzo é o principal constituinte mineral, apresentando pequenas quantidades de moscovita, feldspato, gipsita, caulinita, pirita, halita e esmectita: esse material é caracterizado por seu baixo conteúdo de carbonato. A LNP maturada, após o tratamento com água do mar, mostra um enriquecimento em gipsita e halita. Resultados reportam que a maior parte da sílica presente é inerte. Elementos como Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, La, Lu, Nd, Sc, Sm, Th, U e Yb estão provavelmente associados à estrutura mineral por meio da interação eletrostática, ligados aos oxi-hidróxidos de ferro e manganês amorfos ou à matéria orgânica. Considerando a quantidade de elementos potencialmente tóxicos que podem ser trocados com a pele durante o tratamento, qualquer dano que poderia ocorrer ao paciente é altamente improvável. A concentração da atividade de radionuclídeos foi determinada indicando que as amostras da LNP apresentam, geralmente, valores de membros da série de decaimento mais baixos para ^{238}U e ^{232}Th . E a dose efetiva mais alta medida foi da ordem de 4 μSv por ano, considerando um cenário de exposição conservadora,

indicando que o uso terapêutico da LNP não possui risco radiológico para indivíduos que se encontram em tratamento.

Em resumo, este material caracteriza-se por possuir grande quantidade de partículas finas (especialmente coloidais), alto teor de matéria orgânica, alto teor de bactérias redutoras de sulfito e, conseqüente, alto potencial de redução. A quantidade de matéria orgânica, de origem oceânica e continental, diferencia o produto dos materiais comuns, como a argila. Conta também com bactérias e microalgas que dão origem a processos bioquímicos, resultando assim o aumento do teor de matéria orgânica na LNP. Como resultado de suas características físico-químicas, bem como sua gama de utilizações terapêuticas, a LNP tem sido comparada à lama negra do Mar Morto, salvo a quantidade e variedade de sais.

Segundo STEVENSON (1994), a matéria orgânica consiste em uma mistura de compostos em vários estágios de decomposição, que resultam da degradação biológica de resíduos de plantas e animais, e da atividade sintética de microrganismos. Pode ser agrupada em substâncias húmicas e não húmicas. As substâncias não húmicas são compostas por substâncias com características químicas definidas, tais como, polissacarídeos, aminoácidos, açúcares, proteínas e ácidos orgânicos de baixa massa molar. As substâncias húmicas não apresentam características químicas e físicas bem definidas, e se dividem em ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina, com base nas suas características de solubilidade. Por serem carregados negativamente, estes ácidos são forte agentes fixadores de diversos cátions, dessa forma, moléculas ou cátions que estão adsorvidos se tornam indisponíveis para o processo de assimilação biológica.

1.3 Substâncias Húmicas

As substâncias húmicas, originam-se da oxidação e subsequente polimerização da matéria orgânica. Esse último grupo apresenta-se como uma mistura heterogênea e com elevadas massas moleculares e grupos funcionais distintos, sendo responsáveis por inúmeros processos naturais (STEVENSON, 1994).

Com base nas suas solubilidades em meio aquosos, as substâncias húmicas são usualmente divididas em ácidos fúlvicos (fração solúvel em qualquer

condição de pH), ácidos húmicos (fração solúvel em meio alcalino e insolúvel em pH ácido, $\text{pH} < 2$) e humina (fração insolúvel em qualquer condição de pH).

A solubilidade diferencial em diferentes condições de pH entre as frações húmicas (PICCOLO e STEVENSON, 1982), de certo modo, depende do tamanho e massas de suas moléculas: ácidos fúlvicos, de 640 a 5000 daltons, ácidos húmicos, de 10000 a 100000 daltons, e humina, maior de 100000 daltons (BENITES et al., 2003).

As substâncias húmicas desempenham papel importante por diversas razões. Nos sedimentos, por exemplo, elas contribuem para a retenção de calor (devido à sua coloração escura). Além disso, as substâncias húmicas formam agregados oriundos da combinação com argilas e estes possuem alta capacidade de retenção de água. Em ambientes aquáticos, as substâncias húmicas governam a produtividade primária, estimulando o crescimento do fitoplâncton, além de participarem das reações fotoquímicas em águas superficiais. A presença dos grupos funcionais distintos, tais como carboxilas, hidroxilas fenólicas e carbonilas, faz com que as substâncias húmicas assumam um comportamento polieletrólítico e atuam como agentes complexantes de vários íons metálicos (ROCHA & ROSA, 2003).

1.3.1 Formação das substâncias húmicas

As substâncias húmicas são formadas a partir do processo denominado humificação. Os estudos sobre a sua formação não são recentes. Ao final do séc. XIX, já se considerava que elas possuíam natureza principalmente coloidal e com propriedades fracamente ácidas. Havia também informações a respeito de sua interação com outros componentes do solo e a noção de que os ácidos húmicos seriam essencialmente a lignina modificada. No início da década de 30, sabia-se que os ácidos húmicos eram os constituintes mais característicos das substâncias húmicas. Inferia-se que havia grupos carboxílicos e os ácidos húmicos eram formados principalmente por compostos nitrogenados (proteínas) e anéis aromáticos derivados da lignina (STEVENSON, 1994).

A via de insolubilização refere-se à humificação dos compostos fenólicos solúveis, a partir da sua oxidação, a quinona, e polimerização, formando inicialmente dímeros e trímeros que compõem a maior parte da policondensação dos núcleos

aromáticos. A partir da policondensação dos núcleos aromáticos destes compostos (dímeros e trímeros) são formados os ácidos fúlvicos, os quais se condensam, formando os ácidos húmicos castanhos que, por sua vez, formam os ácidos húmicos cinzentos (SANTOS, 1984).

A grande variação no grau de polimerização e no número de cadeias laterais e radicais que podem ser encontradas nas substâncias húmicas faz com que não existam similaridade entre duas moléculas húmicas. Conforme argumento apresentado por STEVERSON (1994) as substâncias húmicas são quimicamente muito parecidas, mas as frações podem ser diferenciadas umas das outras pela cor, massa molecular, presença de grupos funcionais, grau de polimerização e teores de C, O, H, N e S.

Quanto à origem e formação das substâncias húmicas, segundo STEVENSON (1994), existem pelo menos quatro vias principais pelas quais as substâncias húmicas podem ser formadas durante a decomposição da matéria orgânica demonstradas na Figura 4.

Figura 4 – Mecanismos de formação das substâncias húmicas

Fonte: STEVENSON, 1994 (adaptação).

SIMPSON (2002) afirmou que é possível identificar várias classes de compostos nos agregados do solo e, demonstrou que as substâncias húmicas são, na realidade, associações ou agregações de moléculas de menores massas moleculares que podem ser rompidas pela ação de ácido.

Estudos têm demonstrado que as substâncias húmicas resultam da agregação de várias classes de compostos orgânicos como açúcares, aminoácidos, ésteres e éteres alifáticos e aromáticos (PICCOLO et al, 2003). Por apresentarem alta complexidade química e forte interação com a fração coloidal inorgânica do solo, essas substâncias decompõem-se lentamente e acumulam-se nos solos. Dentre as várias possibilidades, encontra-se desde a clássica teoria que considera que são formadas a partir da lignina modificada até a teoria mais aceita na atualidade, a chamada de rota dos polifenóis. As rotas que envolvem a síntese das substâncias húmicas a partir da condensação de polifenóis e compostos aminados são as mais aceitas atualmente (SILVA et al, 2007).

1.3.2 Estrutura molecular das substâncias húmicas

Em 1931, FUCHS (1931) propôs uma estrutura muito popular das substâncias húmicas (Figura 5).

Figura 5 – Estrutura proposta para os ácidos húmicos por FUCHS, em 1931.

Fonte: Extraído ALES, 2014.

Já a estrutura proposta por DRAGUNOV (1948) era constituída por anéis aromáticos substituídos por grupos hidroxililas e quininas, sendo os anéis aromáticos ligados por grupos $-CH_2O-$ e $-CN-$. Carboidratos e peptídeos estariam ligados aos C que uniam os anéis aromáticos e a grupos CH_2 ligados diretamente aos anéis (Figura 6).

Figura 6 – Modelo para os ácidos húmicos proposto por DRAGUNOV, em 1948.

Fonte: Extraído de ALES, 2014 (adaptação)

O modelo de FLAIG de 1964, em que a estrutura apresentava anéis aromáticos e quinonas que eram substituídas por grupos hidroxilas, carbonilas e metoxilas (Figura 7).

Figura 7 – Modelo para os ácidos húmicos proposto por FLAIG, em 1964

Fonte: Extraído de NOVOTNY (2002)

Em 1970, no modelo proposto por KLEINHEMPEL, os núcleos aromáticos seriam conectados por átomos de oxigênio, nitrogênio e outras “pontes”, enquanto polissacarídeos e peptídeos estariam presentes como estruturas lineares. Nesse modelo, mostrou-se o papel de cátions polivalentes, como Fe^{2+} , na associação entre substâncias húmicas e a porção mineral do solo (Figura 8).

Figura 8 – Modelo proposto por KLEINHEMPEL para as substâncias húmicas, em 1970.

Fonte: Extraído de NOVOTNY (2002)

O modelo de BUFFLE et al. (1977) consiste em um grupo naftaleno substituído por hidroxilas, carboxilas e cadeias alifáticas curtas contendo grupos alcoólicos, metilas, carboxílicas e carbonilas. Uma certa evolução foi o modelo de SCHNITZER & KHAN (1978) que era composto por fenóis e ácido benzoico unidos por ligações de hidrogênio (Figura 9).

Figura 9 – Modelo de SCHNITZER e KHAN, em 1978

Fonte:

SCHNITZER e KHAN, 1978.

A estrutura proposta por STEVENSON (1982) demonstra a presença de ligações de hidrogênio com estruturas do tipo quinona, além de indicar a ocorrência de resíduos de carboidratos e proteínas (Figura 10) e foi discutida estudo feito por NOVOTNY (2002).

Figura 10 - Modelo para os ácidos húmicos proposto por STEVENSON, em 1982.

Fonte: Extraído de NOVOTNY (2002).

Graças aos dados obtidos, principalmente, por espectroscopia de RMN, verificou-se que o grau de aromaticidade seria muito menor do que o esperado, sendo assim, SCHULTEN & SCHNITZER (1993) propuseram uma estrutura que continha grandes porções alifáticas (Figura 11).

Figura 11 – Modelo dos ácidos húmicos proposto por SCHULTEN e SCHNITZER, em 1993.

Fonte: SCHULTEN e SCHNITZER, 1993.

Nos estudos de FILHO e SILVA (2002), NOVOTNY (2002) e COLOMBO (2005) foi relatado o modelo que SCHULTEN & SCHNITZER apresentaram em 1995, que é uma estrutura tridimensional do modelo que foi proposto em 1993; foi constatado que, otimizando essas moléculas por meio de cálculos matemáticos, esse modelo apresentava uma série de espaços vazios de diferentes tamanhos, em que compostos orgânicos, hidrofílicos ou hidrofóbicos, poderiam se alojar. As letras A, B e C representam os espaços por onde a molécula interage com outros compostos e os átomos em azul (carbono), em branco (hidrogênio), em vermelho (oxigênio) e em azul escuro (nitrogênio) (Figura 12). Conforme pode ser observado, no modelo mais recentes, a estrutura dos ácidos húmicos conteria espaços vazios de diferentes tamanhos no interior da molécula que poderiam alojar outros compostos orgânicos, hidrofílicos ou hidrofóbicos, tais como: carboidratos e materiais proteicos, lipídios, argilas e óxidos-hidróxidos. (SCHULTEN & SCHNITZER, 1997)

Figura 12 - Estrutura para os ácidos húmicos proposta por SCHULTEN e SCHNITZER (1995).

Fonte: Extraído de NOVOTNY (2002)

Por fim, diferentemente dos modelos que consideram as substâncias húmicas como grande compostos macromoleculares, de massa molar variável e comportamento conformacional semelhante ao da proteína, há a proposta de estrutura supramoleculares (PICCOLO, 1988) nas quais as substâncias húmicas em solução formariam agregados mistos ou micelas sendo que estes agregados húmicos seriam mantidos por ligações fracas tais como ligações de H e interações hidrofóbicas (BARAK & CHEN, 1992; CONTE et al., 1997; PICCOLO, 2001).

Tal modelo de substâncias húmicas pode levar a reconsideração da definição clássica das frações ácidos húmicos e ácidos fúlvicos da matéria orgânica humificada. Os ácidos fúlvicos seriam formados por pequenas micelas estáveis que permaneceriam dispersas pela repulsão das cargas negativas originadas da dissociação da grande quantidade de grupos ácidos presentes na estrutura. As micelas de ácidos húmicos, por outro lado, por apresentarem uma maior quantidade de grupos funcionais ácidos poderiam aproximar-se o suficiente para formar agregados de aparente maior massa molecular (PICCOLO et al., 1996).

A solubilização dos ácidos húmicos em meio alcalino se deve à conversão dos grupos ácidos (principalmente carboxílicos e fenólicos) em íons. A repulsão eletrostática entre os íons formados e as argilas (também carregadas negativamente) e a repulsão intramolecular, que leva a uma conformação menos “enovelada” dos ácidos húmicos, facilitando a sua hidratação.

1.3.3 Interação das substâncias húmicas com íons metálicos

Uma das propriedades importantes da matéria orgânica do solo é a capacidade desta de formar complexos e quelatos com íons metálicos. De modo geral, em solos minerais pode-se esperar que mais de 50% do total dos elementos traços esteja associado a matéria orgânica (KABATA-PENDIAS & PENDIAS, 1985). O alto conteúdo de matéria orgânica nos solos e sedimentos, gera uma complexa influência no comportamento dos elementos traços podendo tanto fixá-los quanto mobilizá-los pela formação de complexos organo-metálicos solúveis de baixa massa molecular, pois ácidos orgânicos oriundos da liteira (quantidade de material vegetal que se deposita no solo ou sedimento) são conhecidos por mobilizar metais pesados (KABATA-PENDIAS & PENDIAS, 1985; POHLMAN e McCOLL, 1988)

Praticamente todos os aspectos da química e da reatividade de elementos traços estão relacionados à formação de complexos estáveis com substâncias orgânicas. Enquanto cátions monovalentes (Na^+ , K^+ , etc) são mantidos principalmente pela simples formação de sais por reações de troca de cátions envolvendo grupos, tais como: carboxílicos e fenólicos. Cátions

polivalentes (Cu^{2+} , Fe^{3+} e outros) podem formar ligações coordenadas com moléculas orgânicas. Na Figura 13, são mostradas duas propostas de ligação com o cobre, na primeira como ligante e na segunda com ligantes oxigenados(MARTIN-NETO et al., 1990).

Figura 13 – Exemplos de complexos organo-metálicos.

Fonte: NOVOTNY, 2004.

1.3.4 Efeitos terapêuticos das substâncias Húmicas

Segundo RAPOSO et al. (2016), mesmo concebendo que não é possível detalhar com precisão a estrutura de uma substância húmica típica, é amplamente aceito que estas apresentam uma grande capacidade de complexação com elementos metálicos, principalmente os elementos traços. Essa propriedade é atribuída aos diferentes grupos funcionais que contêm oxigênio, como os grupos carboxílico, fenólico e carbonilas, que podem solubilizar os íons metálicos dos sedimentos e, portanto, afetar sua mobilização. Nesse sentido, substâncias húmicas podem ser geralmente descritas como naturalmente precursoras de substâncias orgânicas altamente decompostas, oxidadas e polimerizadas com estruturas muito complexas.

Os ácidos húmicos estimulam a reação de defesa dos macrófagos, promove a regeneração do tecido nervoso, estimula a reparação tecidual e podem ter efeito anti-inflamatório em queimaduras de tecidos e doenças da córnea (DEGTYARENKO & MOKULKIN, 1997). Além disso, os ácidos húmicos formam complexos com metais, o que poderia explicar alguns dos efeitos que ocorrem nos tecidos, incluindo a eliminação de metais, efeitos desmutagênicos, atividade antioxidante e anticoagulante.

1.4 Técnicas aplicadas para a caracterização química da matéria orgânica da LNP

1.4.1 Teor de Umidade

A água desempenha papel importante no comportamento dos sedimentos, especialmente nos de granulação fina. Convencionou-se denominar "teor de umidade" a relação, expressa em percentagem, entre a massa da água existente numa certa massa de solo e a massa das partículas secas.

A principal dificuldade na determinação prática da umidade reside na definição da massa seca, pois a presença da água pode acontecer conforme várias modalidades, a saber:

- **Água gravitacional:** Não está retida pelos grãos sólidos, flui livremente entre eles. Pode estar em equilíbrio hidrostático ou ser drenada pela ação da gravidade. Representa a maior parcela da água existente nos sedimentos, podendo, em alguns casos, exceder a massa das partículas sólidas;
- **Água capilar:** Retida através das forças da tensão superficial e preenche os pequenos espaços vazios existentes entre as partículas, denominados capilares. Assim com a água gravitacional, a água capilar pode se movimentar através das partículas sólidas na forma líquida;
- **Água higroscópica:** Está quimicamente ligada às superfícies das partículas sólidas, movimentam-se apenas no estado de vapor, forma uma camada muito fina que fica muito aderida ao grão. Para sua retirada é necessário temperaturas superiores a 100°C.

A Figura 14 representa de forma ilustrativa as três modalidades nas quais a água pode ocorrer entre os grãos do solo ou sedimento.

Figura 14 – modalidades nas quais podem ocorrer a presença da água.

Fonte: Top Crop Manager (site), 2019

A massa seca é o que se obtém, secando-se o material em estufa, com temperaturas de 105° C a 110° C, durante um período suficiente, para chegar-se a uma massa constante (ABNT NBR 6457:2016 versão corrigida: 2016). Em geral, são necessárias 15 a 16 horas de estufa para obter-se uma amostra seca.

Na realidade, mesmo após a secagem, o solo ainda pode conter certa quantidade de água higroscópica. Neste caso, considera-se a água remanescente como parte da estrutura sólida.

1.4.2 Teor de cinzas

Cinzas é o nome dado ao resíduo mineral que permanece após a queima total da matéria orgânica em mufla, pois minerais não são destruídos com a exposição ao calor. A matéria orgânica incinerada é transformada, principalmente, em: $\text{CO}_{2(g)}$, $\text{CO}_{(g)}$, $\text{H}_2\text{O}_{(g)}$ e $\text{NO}_{2(g)}$. Assim sendo, a determinação do conteúdo inorgânico de um material é o ponto de partida para a quantificação dos minerais presentes na amostra.

1.4.3 Perda ao fogo

A análise de perda ao fogo (PF), determina a porcentagem de massa da amostra perdida ou decomposta quando a mesma é submetida a um ciclo térmico de aquecimento em mufla.

É expressa em porcentagem e obtida a partir da massa dos corpos de prova após a secagem e após a queima. Esta perda está relacionada às águas intercaladas e de coordenação, de hidroxilas dos argilominerais e hidróxidos, como $\text{Al}(\text{OH})_3$ e $\text{Fe}(\text{OH})_3$, bem como o alto teor de sulfetos, sulfatos voláteis, e carbonatos existentes nas amostras (MARTINS et al., 2013). Os baixos teores de perda ao fogo observados indicam que a LNP deve ser empobrecida em tais componentes.

1.4.4 Acidez total, carboxílica e fenólica

Um dos aspectos mais estudados sobre os ácidos húmicos é a sua capacidade de complexação com metais. A excepcional capacidade de complexação com metais ocorre devido ao número elevados de grupos funcionais oxigenados presentes na estrutura molecular, na forma de grupos ácidos: carboxílicos e fenólicos. A determinação correta da acidez é de grande relevância, pois está diretamente ligada à reatividade dos ácidos húmicos.

O método mais utilizado, atualmente, para a determinação da acidez carboxílica das substâncias húmicas foi desenvolvido por SCHNITZER & GRUPTA (1965). Por este método observa-se duas reações distintas, sendo uma para a determinação da acidez carboxílica e outra para a determinação da acidez total. A acidez fenólica é obtida pela diferença entre a acidez total e a acidez carboxílica.

A acidez total (AT) das substâncias húmicas é normalmente determinada indiretamente fazendo-se reagir uma amostra de substância húmica com excesso de hidróxido de bário a pH próximo de 13 de modo a permitir a dissociação de todas as funções químicas, mesmo as mais fracas, fazendo precipitar o sal húmico de bário. O excesso de base que não participa da reação é titulado com HCl até $\text{pH} = 8,4$. A Figura 15 mostra uma estrutura hipotética dos ácidos húmicos, enfatizando os grupos carboxílicos e fenólicos e a sua reação com hidróxido de bário. Com a diferença obtida com a titulação de uma amostra em branco ($\text{Ba}(\text{OH})_2$, sem amostra de substância húmica), é determinada a acidez total. A reação segue a seguinte estequiometria, demonstrada na Equação 1:

Equação 1

Figura 15 – Esquema hipotético dos ácidos húmicos com ênfase aos grupos carboxílicos e fenólicos e sua reação com hidróxido de bário.

Fonte: PRADO, 1999.

O grupo $-\text{COOH}$ é o determinante da acidez das substâncias húmicas na acidez carboxílica e, geralmente, é estimado através do método do acetato de cálcio, que reage com H^+ trocável da molécula húmica, de acordo com a Equação 2:

Equação 2

O ácido acético liberado durante a reação é titulado com uma base (NaOH) até $\text{pH} = 9,8$. O acetato de cálcio $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Ca}$ - reage com grupos OH ácidos superestimando a acidez e o número de grupos COOH . Além disso, a formação de um agregado húmico, através de pontes de cálcio intermoleculares, pode representar um “imbróglio” estérico para a troca de cálcio e o H^+ do grupo carboxílico (mesmo estando facilmente disponível) fazendo, assim, uma subestimação do teor de COOH . A Figura 16 mostra uma estrutura hipotética do ácido húmico, enfatizando os grupos carboxílicos e a sua reação com o acetato de cálcio.

Figura 16 – Esquema hipotético da ácido húmico com ênfase aos grupos carboxílicos e sua reação com acetato de cálcio.

Fonte: PRADO, 1999.

1.4.5 Análise elementar

A análise elementar é uma técnica para determinação para a determinação das porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio presentes em uma amostra.

As amostras são submetidas à combustão em uma atmosfera de oxigênio gasoso puro e os gases resultantes são segregados em uma coluna cromatográfica e, posteriormente, quantificados em um detector TCD (detector de condutividade térmica).

1.4.6 Espectroscopia de absorção no ultravioleta/visível (razão E_4/E_6)

No estudo das substâncias húmicas, a razão entre as absorbâncias, medidas por espectroscopia, nos comprimentos de onda iguais a 465nm (E_4) e 665nm (E_6), representada por E_4/E_6 , é usada para avaliar o grau de humificação da matéria orgânica do solo.

De acordo com KONONOVA (1982), a baixa relação E_4/E_6 indica massa molecular relativamente mais elevada, presença de estruturas mais condensadas e, conseqüentemente, maior grau de humificação. Valores mais elevados estão correlacionados com estruturas mais abertas e de menor complexidade.

CHEN et al. (1977) verificaram que a relação E_4/E_6 é governada, principalmente, pela massa molecular, uma vez que o fenômeno do espalhamento

da luz no comprimento de onda do visível é fortemente influenciado pela massa molecular. O decréscimo da razão E_4/E_6 está diretamente relacionado com o aumento da massa molecular e a condensação dos carbonos aromáticos, e a aromaticidade é inversamente relacionada à quantidade de grupos alifáticos. A relação E_4/E_6 é principalmente controlada pelo tamanho das substâncias húmicas.

A razão E_4/E_6 é associada ao grau de humificação das substâncias húmicas. Uma baixa razão E_4/E_6 significa constituintes aromáticos mais humificados, uma alta razão E_4/E_6 indica estruturas alifáticas menos humificadas. Isto é, quanto menor E_4/E_6 maior grau de condensação da amostra. O uso desta razão E_4/E_6 na inferência de propriedades estruturais de substâncias húmicas está baseado no fato de que a queda da absorbância, com o aumento do comprimento de onda, seria proporcional à diminuição de conjugação nos diferentes sistemas orgânicos. A relação E_4/E_6 é uma medida da inclinação da reta, formada entre a absorbância em 465 nm e em 665 nm. Sistemas com conjugação mais estendida apresentam maior absorção no azul (465nm) (CANELLAS & SANTOS, 2005).

1.4.7 Análise por Ativação Neutrônica Instrumental associada à Espectrometria Gama

Análise por ativação neutrônica instrumental (INAA) é uma das técnicas mais simples para análise de elementos traço. Nas últimas décadas, a INAA tem sido amplamente utilizada na determinação de elementos em níveis menores e traço em vários tipos de matrizes, sendo um método de análise multielementar não destrutivo. Esta técnica apresenta alta sensibilidade para níveis de concentração da ordem de $\mu\text{g.g}^{-1}$ e mg.kg^{-1} , alta especificidade e alta seletividade (SILVA, 2004; MOREIRA et al., 2007; FEI et al., 2010).

A INAA consiste no bombardeamento de um dado material, por nêutrons, seguido da medida da radioatividade induzida. O método baseia-se em uma reação nuclear resultante da interação de um nêutron com um núcleo alvo produzindo um núcleo composto, em estado excitado (Figura 17), que irá decair, de acordo com a sua meia vida e liberando raios gamas com energia específica do radioisótopo formado (Tabela 1).

Figura 17 – Ilustração da sequência de eventos para uma reação e formação de um radionuclídeo artificial empregado na técnica de INAA.

Fonte: IPEN (site), 2019

Tabela 1-Elementos determinados por ativação neutrônica, radioisótopo formado na ativação, energia dos raios gama utilizados na espectrometria gama, meias-vidas e tempo de decaimento.

Elemento	Radioisótopo	E (keV)	Meia-vida	Tempo de decaimento
As	⁷⁶ As	559	26,32 horas	7 dias
Ba	¹³¹ Ba	496	11,8 dias	15 dias
Br	⁸² Br	554 e 776	35,3 horas	7 dias
Ca	⁴⁷ Sc	158	3,35 dias	15 dias
Ce	¹⁴¹ Ce	145	32,5 dias	15 dias
Co	⁶⁰ Co	1173 a 1332	5,72 anos	15 dias
Cr	⁵⁷ Cr	320	27,7 dias	15 dias
Cs	¹³⁴ Cs	795,85	2,06 anos	15 dias
Eu	¹⁵² Eu	121 e 1408	13,33 anos	15 dias
Fe	⁵⁹ Fe	1009 e 1291,6	44,5 dias	15 dias
Hf	¹⁸¹ Hf	482,18	742,39 dias	15 dias
K	⁴² K	1524,58	12,36 horas	7 dias
La	¹⁴⁰ La	328 e 1596,21	40,27 horas	7 dias
Lu	¹⁷⁷ Lu	208,26	6,71 dias	15 dias
Na	²⁴ Na	1368,68	14,96 horas	7 dias
Nd	¹⁷⁴ Nd	91,1 e 531,01	10,98 dias	15 dias
Rb	⁸⁶ Rb	1076	18,66 dias	15 dias
Sb	¹²² Sb	564	2,7 dias	7 dias
Sc	⁴⁵ Sc	889	83,81 dias	15 dias
Se	⁷⁵ Se	264	119,77 dias	15 dias
Sm	¹⁵³ Sm	103,18	46,27 horas	7 dias
Ta	¹⁸² Ta	1221 e 1231	114,5 dias	15 dias
Tb	¹⁶⁰ Tb	879,38	72,3 dias	7 dias
Th	²³³ Pa	312,01	27 dias	15 dias
U	²³⁹ Np	228,18 e 277,6	2,36 dias	7 dias
Yb	¹⁶⁹ Yb	177,21 e 197,98	32,02 dias	7 dias
Zn	⁶⁵ Zn	1115,6	243,9 dias	15 dias
Zr	⁹⁵ Zr	724,2 e 756,7	64,02 dias	15 dias

O método de espectrometria gama é utilizado para detectar a radiação gama emitida pelos núclídeos presentes na amostra, após esta sofrer a irradiação neutrônica em reator nuclear. As atividades induzidas são determinadas por meio de detectores semicondutores que possuem grande capacidade para medir e discriminar as energias dos raios gama emitidos pelos núcleos excitados (MEYERS, 2000). O fóton emitido pela amostra interage com o detector (cristal de germânio hiper puro) para produzir um pulso. Cada pulso é amplificado, analisado e distribuído de acordo com a sua altura, produzindo um histograma de contagens por unidade de energia dos fótons incidentes. Este histograma constitui o espectro da amostra e à medida que as contagens vão se acumulando os, picos podem ser identificados por sua energia e, desta forma, os núclídeos também são identificados e quantificados, uma vez que o sistema tenha sido calibrado (GILMORE & HEMINGWAY, 1995).

A intensidade da radiação emitida é proporcional à concentração do elemento na amostra e, uma vez que, cada radioisótopo, produzido no processo de ativação, possui características próprias de emissão, é possível efetuar determinações por meio de comparação com a atividade medida em materiais de referência certificados e padrões sintéticos pipetados (MOREIRA et al., 2007; FEI et al., 2010).

Na irradiação longa, as amostras são levadas ao reator e expostas ao fluxo de nêutrons por períodos que variam de horas a dias. Para o procedimento de irradiação, as amostras são acondicionadas em cápsulas de alumínio, denominadas de “coelhos”.

Os espectros de raios gama emitidos pelas amostras, depois de serem irradiadas, são obtidos em detectores de germânio hiper puro após um tempo de resfriamento (decaimento) necessário para diminuir a sua atividade a níveis que permitam sua manipulação e contagem (MEYERS, 2000).

Quando são realizadas medições é importante saber qual o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado pelo método. O limite de detecção (LD) é considerado como a menor concentração do analito que um procedimento analítico específico pode detectar com segurança. O limite de detecção para a técnica analítica INAA foi estabelecido através da raiz quadrada da média da radiação de fundo de seis análises (TORRECILHA, 2014).

Na Tabela 2 são apresentados os valores obtidos para o de limite de detecção dos elementos determinados.

Tabela 2 -Valores de limite de detecção da técnica de INAA (mg.kg⁻¹)

Elemento	Limite de detecção (mg.kg⁻¹)
As	0,4
Ba	33
Br	0,3
Ce	0,5
Co	0,11
Cr	0,9
Cs	0,23
Eu	0,03
Fe	80
Hf	0,11
K	3200
La	0,11
Lu	0,007
Na	32
Nd	3,1
Rb	4
Sb	0,04
Sc	0,02
Se	0,26
Sm	0,01
Ta	0,19
Tb	0,11
Th	0,11
U	0,26
Yb	0,2
Zn	3,8

Fonte: TORRECILHA, 2014

1.4.8 Fluorescência de raio X

A fluorescência de raio X (XRF) é uma técnica não destrutiva, multielementar, que permite a determinação de vários elementos em uma ampla faixa de números atômicos, além de ser rápida e de baixo custo.

Os princípios físicos da XRF são simples e bem conhecidos (JENKINS et al, 1995): é possível induzir transições eletrônicas entre os orbitais mais internos dos átomos utilizando radiações eletromagnéticas de energia adequada (raios X e raios gama). Essas transições podem resultar na emissão de radiações X de energia característica que permitem a identificação da espécie atômica envolvida na transição e a mensuração da sua abundância (Figura 18). Mais especificamente, neste processo a energia da radiação de fluorescência identifica o elemento, enquanto sua intensidade permite que seja medida sua concentração na amostra analisada mediante uma prévia calibração.

Figura 18 – Representação esquemática do princípio utilizado na análise de fluorescência de raio X.

Fonte: Helmut-Fischer (site), 2019

Destaca-se que a baixa penetração dos raios X de fluorescência na matéria, da ordem dezenas de micrômetros, em função do elemento fluorescente e da matriz, limita a informação analítica aos estratos mais superficiais do material estudado, o que constitui uma das limitações desta técnica.

Existem duas variantes para a técnica, por dispersão de comprimento de onda e por dispersão de energia: a segunda apresenta menos sensibilidade analítica e maior interferência espectral, mas tem sido muito usada devido ao custo reduzido em relação à primeira. Em espectrômetros de comprimento de onda dispersiva, o feixe de raios policromáticos de comprimentos de ondas

característicos provenientes da amostra é disperso por um cristal com espaçamento interplanar conhecido. No espectrômetro por energia dispersiva, os comprimentos de onda da radiação emitida pela amostra são separados com base em suas energias (MARTINS, 2010).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

O trabalho proposto tem por objetivo caracterizar quimicamente as substâncias húmicas presentes na matéria orgânica da LNP que é utilizada com finalidades terapêuticas e curativas.

2.2 Objetivos específicos

- Extrair e quantificar os ácidos fúlvicos e ácidos húmicos presentes na LNP;
- Analisar o teor de umidade, para determinar a quantidade de água higroscópica na estrutura das partículas sólidas da LNP;
- Analisar o teor de cinzas, para determinar a quantidade de matéria inorgânica presentes nas substâncias húmicas;
- Analisar o teor de perda ao fogo, a fim de determinar a porcentagem de massa perdida pela amostra quando submetida a um ciclo térmico de aquecimento em mufla.
- Determinar a acidez total, carboxílica e fenólica para se obter o número de grupos ácidos (essencialmente carboxílicos e fenólicos) presentes nas substâncias húmicas através de titulação potenciométrica;
- Determinar a composição elementar (C, H e N) das substâncias húmicas;
- Determinar a proporção de grupos aromáticos utilizando-se a espectroscopia de absorção no ultravioleta/visível através da razão E_4/E_6 (razão entre absorbâncias a 465 e a 665nm);
- Determinar a presença dos elementos As, Ba, Br, Ca, Ce Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, K, La, Lu, Na, Nd, Rb, Sb, Sc, Se, Sm, Ta, Tb, Th, U, Yb, Zn e Zr nas substâncias húmicas através de análise por ativação neutrônica instrumental;
- Determinação dos elementos (em sua forma de óxido): SiO_2 , Al_2O_3 , SO_2 , Na_2O , Fe_2O_3 , K_2O , Cl, MgO, TiO_2 , CaO, P_2O_5 , MnO através de fluorescência de raio X;

- Fazer um comparativo entre os valores encontrados com as legislações vigentes.

3 MATERIAIS & MÉTODOS

3.1 Amostragem

A LNP é extraída de sua jazida de forma manual, em conformidade com os alvarás de lavra concedidos pelo Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM) e Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB). A extração é feita em áreas de 10 x 10 metros, denominadas de cavas principais, que por sua vez são divididas em 16 cavas menores de 2,5 metros quadrados cada uma (Figuras 20 e 21).

Figura 20 - Cava de extração da LNP

Fonte: GOUVÊA, 2018

Figura 21 - Cava autorizada para a coleta da LNP *in natura* na jazida de Peruíbe.

Fonte: TORRECILHA, 2014

Depois de retirada da cava, a LNP é armazenada em recipientes plásticos de volume de 50 litros e transportada para o 'Complexo Thermal da Lama Negra de Peruíbe', onde será acondicionada em cochos, nos quais se iniciará o processo de descontaminação e maturação do pelóide (Figura 22).

Figura 22 - Barril utilizado para armazenar a LNP *in natura* após a retirada da jazida (esquerda) e cocho utilizado para maturar e armazenar a LNP (direita).

Fonte: TORRECILHA, 2014

A primeira etapa do tratamento é a adição de água marinha à LNP, na proporção de 1:1. Esta água é coletada a dois mil metros da costa, na tentativa de garantir uma coleta de água descontaminada. Após esta adição de água, o material é peneirado para separar as impurezas maiores, como por exemplo, resíduos animais e vegetais, e em seguida o material é depositado em um coxo para que ocorra a decantação do pelóide. Após a decantação, a água marinha sobrenadante, bastante turva, é aspirada para fora do coxo e desprezada. Uma nova quantidade de água, em volume idêntico ao primeiro, é então adicionada ao coxo e o processo é repetido quantas vezes forem necessárias até que após a decantação da LNP a água permaneça tão límpida quanto estava antes de ser misturada. Neste momento termina a primeira etapa do beneficiamento e tem início a maturação. O pelóide permanece então em repouso, dentro do coxo e submerso em água marinha por um período de um mês, conforme proposto em literatura (ESPEJO- ANTÚNEZ et al.,2013), ou até que apresente um potencial redox menor que -150 mV.

Após a aplicação, o material já utilizado retorna à jazida para o preenchimento das cavas já esgotadas e este procedimento tem como objetivo a

recomposição da área da jazida e talvez possibilitar um novo uso desse material dentro de alguns anos.

As amostras de LNP maturadas foram coletas diretamente dos cochos de maturação no Complexo Thermal e foram selecionados, aleatoriamente, galões entre aqueles que destinados ao uso terapêutico por pacientes.

3.2 Teor de umidade

A determinação do teor de umidade foi realizada com a LNP na forma com a qual é disponibilizada no Lamário, localizado na cidade Peruíbe-SP, para o tratamento terapêutico de pacientes.

Primeiramente, foi feita a retirada da água gravitacional (excesso de água), cerca de 100g do material foram colocados em um coador de malha permanecendo neste até que o gotejamento cessasse por completo, obtendo-se uma substância de consistência pastosa.

Em seguida, com a finalidade de extrair a água capilar, a pasta obtida na etapa anterior, foi espalhada em um vidro de relógio, de forma a se obter a maior superfície de contato possível com o ar atmosférico e, em seguida, foi deixada em repouso em temperatura ambiente até que a massa do material se estabilizasse, obtendo-se uma substância sólida de aspecto arenoso.

O material obtido na etapa anterior foi triturado com auxílio de um almofariz e em seguida foi passado em peneira de 115 mesh (125 μ m), para que se obtivesse uma amostra na forma de um pó homogêneo de baixa granulometria.

Por fim, para a determinação da quantidade de água higroscópica, um vidro de relógio foi previamente pesado e sua massa anotada, em seguida pesou-se cerca de 3 gramas de amostra resultante da etapa anterior e o conjunto, vidro de relógio e a amostra, foi colocado em estufa a 105°C por 24 horas. Ao retirá-lo da estufa, aguardou-se o resfriamento até temperatura ambiente e, por fim, foi pesado e a massa anotada.

O teor de umidade (higroscópica) foi calculado utilizando-se a Equação 3:

$$U = \frac{m_i - m_f}{m_f} \cdot 100 \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

U= Teor de Umidade (%).

m_i = Massa inicial, antes da secagem (g).

m_f = Massa final, após a secagem (g).

3.3 Preparação da amostra para os demais procedimentos

Antes de ser submetida às demais análises, a LNP foi seca em estufa, à temperatura de 40°C por 48 horas. Em seguida, foi triturada em almofariz e passada, previamente, em peneiras de 2 mm. Após esse processo, foi submetida à moagem até que passasse em peneira de 115 mesh (125µm). A amostra ficou com aspecto homogêneo na forma sólida de baixa granulometria.

3.4 Extração das substâncias húmicas

A extração dos ácidos fúlvicos (AF) e ácidos húmicos (AH) foi feita de acordo com a metodologia convencional sugerida pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS).

Adicionou-se a 100g de amostra, previamente preparada de LNP, em 1000mL de solução de HCl 0,1 mol.L⁻¹. Após 12 horas de agitação branda, o material ficou em repouso por 24 horas, à temperatura de ambiente. O sobrenadante proveniente dessa 1ª etapa (AF) foi separado do resíduo sólido através de uma sifonação e foi reservado.

Ao resíduo sólido, foi adicionado 1000 mL de NaOH 0,1 mol.L⁻¹, essa mistura foi agitada brandamente por 4 horas, sob atmosfera de N₂, seguidas de 12 horas de repouso à temperatura ambiente. Feito isso, a mistura foi

centrifugada a 1200 rpm por 20 minutos. O sobrenadante (AH) foi separado do resíduo (argilas e humina) através de uma sifonação.

O sobrenadante (AH) foi acidificado até $\text{pH}=1,0$, por gotejamento de uma solução aquosa de $\text{HCl } 6 \text{ mol.L}^{-1}$ e foi reservado para que ocorresse a floculação dos ácidos húmicos.

Após 18 horas de descanso, o material solidificado (ácidos húmicos) foi separado do sobrenadante (AF residual) através de uma centrifugação a 1200 rpm por 20 minutos.

Os ácidos húmicos precipitados foram ressolubilizados em 1000 mL de solução de $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sob atmosfera de N_2 , para a eliminação de argilas e humina residuais. Essa mistura foi agitada brandamente por 4 horas, seguidas de 12 horas de repouso à temperatura ambiente. Feito isso, a mistura foi centrifugada a 1200 rpm por 20 minutos para separar o material insolúvel (humina e argila residual) do sobrenadante. Em seguida, o sobrenadante foi acidificado até $\text{pH}=1,0$, por gotejamento de uma solução aquosa de $\text{HCl } 6 \text{ mol.L}^{-1}$ e foi reservado para que ocorresse a refloculação dos ácidos húmicos. Após 18 horas de descanso, o material solidificado (AH) foi separado através de uma centrifugação a 1200 rpm por 20 minutos, o sobrenadante foi descartado.

Para a solidificação dos ácidos fúlvicos dissolvidos em solução aquosa, foi usada a técnica de evaporação. Esta foi realizada utilizando-se uma chapa aquecedora à temperatura de 40°C por 48 horas. Em seguida, a substância foi submetida a liofilização e o resíduo sólido resultante foi mantido em dessecador.

Na Figura 23 é mostrado, de forma simplificada, o processo de extração e separação das substâncias húmicas.

Figura 23 – Síntese do processo de extração das substâncias húmicas da LNP.

3.5 Teor de cinzas

Primeiramente, pesou-se e anotou-se a massa de um cadinho de porcelana vazio. Em seguida, cerca de 50 mg de amostra foram pesadas e colocadas no cadinho de porcelana e o conjunto, cadinho com a amostra, foi colocado em uma mufla a 750°C por 4 horas (CASTILHOS et al., 2008). Após a calcinação, aguardou-se o resfriamento até temperatura ambiente e em seguida o cadinho contendo a amostra calcinada foi pesado e sua massa anotada

O teor de cinzas foi calculado através da Equação 4:

$$C = \frac{m_i - m_f}{m_f} \cdot 100 \quad \text{Equação 4}$$

Onde:

C= Teor de Cinzas (%).

m_i = Massa inicial, antes da calcinação (mg).

m_f = Massa final, após a calcinação (mg).

3.6 Teste de Perda ao Fogo

Primeiramente, pesou-se e anotou-se a massa de um cadinho de porcelana vazio. Em seguida, cerca de 50 mg de amostra foram pesadas e colocadas no cadinho de porcelana e o conjunto, cadinho com a amostra, foi colocado em uma mufla a 1000°C por 2 horas. Após a calcinação, aguardou-se o resfriamento até temperatura ambiente e em seguida o cadinho contendo a amostra calcinada foi pesado e sua massa anotada. O teor de perda ao fogo foi calculado através da Equação 5:

$$C = \frac{m_i(ac) - m_f}{m_f} \cdot 100 \quad \text{Equação 5}$$

Onde:

C= Teor de Cinzas (%).

$m_i(ac)$ = Massa inicial de amostra, após a calcinação a 750°C (mg).

m_f = Massa final, após a calcinação a 1000°C (mg).

3.7 Acidez total, carboxílica e fenólica

3.7.1 Acidez Total

Inicialmente, foi feita a titulação do branco, em que 20 mL de solução 0,125 mol.L⁻¹ de Ba(OH)₂ foi titulada com solução de HCl 0,05 mol.L⁻¹, sob atmosfera inerte. A variação do pH foi acompanhada com auxílio de um pHmetro, até pH=8,4.

Em seguida, cerca de 50 mg de amostra foram colocados em um erlenmeyer juntamente com 20 mL de solução 0,125 mol.L⁻¹ de Ba(OH)₂. A solução ficou em agitação por 24 horas. A suspensão foi filtrada, o resíduo sólido foi lavado com água purificada, livre de CO₂. O filtrado foi titulado com solução de HCl 0,05 mol.L⁻¹, sob atmosfera inerte. A variação do pH foi acompanhada com auxílio de um pHmetro, até pH=8,4.

Importante ressaltar que para preparar a solução de Ba(OH)₂, a água foi previamente fervida para a eliminação do CO₂ que encontrava-se dissolvido, pois este atua como interferente na titulação.

Para calcular a acidez total foi utilizada a Equação 6:

$$AT = \frac{(V_{AA} - V_{AB}) \times C_A}{m_A} \times 100000 \quad \text{Equação 6}$$

Sendo que:

AT representa a acidez total, em cmol/kg de H⁺ na amostra.

V_{AA} representa o volume, em litro, de solução de HCl para a titulação da amostra.

V_{AB} representa o volume, em litro, de solução de HCl 0,05 mol.L⁻¹ para a titulação do branco.

C_A concentração da solução de HCl (mol/L).

m_{AH} massa (g) da amostra.

3.7.2 Acidez Carboxílica

Inicialmente, foi feita a titulação do branco, em que 50 mL de solução $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ de $\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$ foi titulada com solução de NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. A variação do pH foi acompanhada com auxílio de um peagômetro, até pH=9,8.

Em seguida, cerca de 50 mg de amostra foram colocados em um erlenmeyer juntamente com 50 mL de solução $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ de $\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$. A solução ficou em agitação por 24 horas. A suspensão foi filtrada, o resíduo foi lavado com água purificada, livre de CO_2 . O filtrado foi titulado com solução de NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. A variação do pH foi acompanhada com auxílio de um peagômetro, até pH=9,8.

Importante ressaltar que para preparar a solução de $\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$, a água foi previamente fervida para a eliminação do CO_2 dissolvido, pois este atua como interferente na titulação.

Para calcular a acidez carboxílica foi utilizada a Equação 7:

$$AC = \frac{(VBA - VBB) \times C_B}{m_A} \times 100000 \quad \text{Equação 7}$$

Sendo que:

AC representa a acidez carboxílica, em cmol/kg de H^+ na amostra.

VBB representa o volume, em litros, da solução de NaOH usada para a titulação do branco.

VBA representa o volume, em litros, da solução de NaOH usada para a titulação da amostra.

C_B é a concentração da solução de NaOH (mol/L).

m_A representa a massa da amostra (g).

3.7.3 Acidez Fenólica

A acidez fenólica foi calculada fazendo-se a diferença entre os valores obtidos para a acidez total e a acidez carboxílica.

3.8 Análise Elementar

Para a realização da técnica, utilizou-se cerca de 2mg de amostra de cada fração húmica presente na LNP.

A análise elementar foi realizada utilizando o equipamento CHNS/O, analisador elementar-Perkin Elmer 2400 series II, na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP). Foi aplicado o método de Pregl-Dumas, em que as amostras são sujeitas à combustão em uma atmosfera de oxigênio puro, e os gases resultantes dessa combustão são quantificados em um detector TCD (detector de condutividade térmica).

3.9 Espectroscopia UV-Vis

As absorbâncias em 465nm e em 665nm foram obtidas num espectrofotômetro UV-Vis. Foram registradas a 25°C com o caminho ótico constante de 1 cm. Tomaram-se 20 mg de amostra e as dissolveram-se em 10 mL de solução de NaHCO_3 0,05 mol.L⁻¹ e fizeram-se leituras em casa comprimento de onda 465nm (faixa da luz visível azul) pela obtida em 665nm (faixa da luz visível vermelha), obtendo-se a relação E_4/E_6 (SAAB & MARTIN-NETO, 2007).

Para determinar o coeficiente E_4/E_6 , dividiu-se a absorbância em 465nm pela obtida em 665nm.

3.10 Análise por Ativação Neutrônica Instrumental associada à espectrometria gama

O procedimento adotado para a análise deste material foi a irradiação longa. Aproximadamente 150 mg de amostra foram empacotados em saquinhos de polietileno. Em seguida, amostras e materiais de referência certificados, que foram empacotados da mesma forma, foram acondicionados em cápsulas de alumínio (coelhos) que foram completamente vedadas e encaminhadas para irradiação no reator nuclear IEA-R1, por períodos de 8 horas.

Os materiais de referência certificados utilizados foram *Estuarine Sediment*, SRM 1646a do “*National Institute of Standards and Technology*” (NIST), *Syenite Table Mountain*, STM-2, do “*United States Geological Survey*” (USGS), e soluções padrão (SPEX Certiprep) pipetados em folhas de papel de filtro.

Nas irradiações longas são realizadas duas séries de contagem. A primeira é feita após sete dias e a segunda, é feita após quinze dias de decaimento.

A contagem da atividade gama induzida nas amostras e materiais de referência foi feita utilizando um detector de germânio-hiperpuro, EG&G Ortec com resolução de 0,88 keV e 1,90 keV para os picos de 122 keV e 1332 keV para o ^{57}Co e ^{60}Co , respectivamente, e equipamentos eletrônicos associados.

O tempo de contagem das amostras e materiais de referência foi de 2 horas para cada um deles. Todas as amostras foram irradiadas no reator de pesquisa IEA-R1 do IPEN, sob um fluxo de nêutrons de $10^{12} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Neste trabalho, a INAA foi empregada para determinar as concentrações dos elementos: As, Ba, Br, Ca, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, K, La, Lu, Na, Nd, Rb, Sb, Sc, Se, Sm, Ta, Tb, Th, U, Yb, Zn e Zr.

No método comparativo (SILVA, 2004; BOSTELMANN, 2006; MOREIRA, 2010) que foi utilizado neste trabalho, a concentração é determinada pela comparação das áreas dos picos, obtidos no espectro gama da amostra irradiada com as áreas dos picos dos mesmos elementos nos espectros dos materiais de referência, que foram irradiados juntamente com as amostras, utilizando-se para o cálculo a Equação 8.

$$C_a = \frac{(A_a m_p C_p) e^{\lambda(t_a - t_p)}}{A_p m_a}$$

Equação 8

Sendo:

C_a : concentração do elemento na amostra (mg kg^{-1}).

C_p : Concentração do elemento no padrão (mg kg^{-1}).

A_a : Atividade do elemento na amostra (cps).

A_p : Atividade do elemento no padrão (cps).

m_a e m_p : massas da amostra e do padrão, respectivamente (g).

λ : Constante de decaimento do radioisótopo (t^{-1}).

$t_a - t_p$: diferença de tempo, em minutos, entre as contagens da amostra e padrão.

Os cálculos para a determinação das concentrações dos elementos analisados foram feitos em planilha eletrônica.

3.11 Fluorescência de raio X

Para determinação dos elementos maiores por FRX foi utilizado um espectrômetro por dispersão de comprimento de onda, marca Rigaku Co, modelo RIX 3000 com tubo de anodo de Rh, janela de Be de 75 μm , voltagem máxima de aceleração de 60kV, detector cintilador de NaI(Tl) com contador de fluxo proporcional. Para a realização das medidas, a 1,8 g de amostra foram adicionados 0,2 g de cera em pó (de grau analítico, marca HOECHST). Esta mistura foi homogeneizada em um moinho e prensada na forma de pastilha com auxílio de uma prensa hidráulica. Os parâmetros fundamentais do método foram avaliados e aplicados para a correção dos efeitos de absorção/excitação. A metodologia foi avaliada usando os materiais de referência certificados SEM 2709 - San Joaquin Soil e SEM 2711 - Montana Soil, ambos provenientes do NIST (National Institute of Standards & Technology) (SILVA et al., 2016).

As análises por fluorescência de raios X nas amostras de LNP foram realizadas no Centro de Química e Meio Ambiente do IPEN (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares), utilizando-se a técnica de fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (WDXRF) pelo método semi-quantitativo.

4 RESULTADOS

4.1 Teor de umidade

Os valores obtidos para o teor de umidade são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Teor de umidade (higroscópica), em %, da LNP (maturada), n=3.

Amostra	Teor de Umidade (%)	Média (%)	Desvio Padrão (%)
LNP1	4,48	4,15	$\pm 0,32$
LNP2	3,83		
LNP3	4,15		

4.2 Extração e quantificação das substâncias húmicas

Na Tabela 4 são mostradas as quantidades de substâncias húmicas extraídas da LNP.

Tabela 4 - Quantidade de substâncias húmicas extraídas da LNP, em %, n=4.

Amostra	Ácidos Húmicos	Ácidos Fúlvicos	Humina e Argila	Razão AH/AF
1	4,59	17,01	78,40	0,26
2	3,53	17,95	78,52	0,19
3	7,68	23,12	69,20	0,33
4	8,68	23,47	67,85	0,37
Média (desvio padrão)	6,12 ($\pm 2,45$)	20,39 ($\pm 3,38$)	73,49 ($\pm 5,76$)	0,29 ($\pm 0,08$)

4.3 Teor de cinzas

Na Tabela 5 são apresentados os resultados da análise de teor de cinzas.

Tabela 5 - Resultados da análise de teor de cinzas, em %, n=3.

Amostra	Média ($\pm$ desvio padrão)
AH	43,59 ($\pm 0,42$)
HUM+ARG	86,70 ($\pm 0,28$)
LNP	78,77 ($\pm 0,19$)
AF	11,70 ($\pm 2,94$)

4.4 Perda ao fogo

Na Tabela 6 são apresentados os resultados do teste de perda ao fogo.

Tabela 6 – Resultados do teste de perda ao fogo, em %, n=1.

Amostra	% de Perda ao fogo
AH	5,42
HUM	2,01
LNP	2,23
AF	0,70

4.5 Acidez total, carboxílica e fenólica

Os resultados encontrados para a acidez carboxílica, fenólica e total são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Resultados da acidez carboxílica, fenólica e total, em cmol.kg^{-1} de H^+

		Valor		Média	Desvio Padrão
		Mínimo	Máximo		
AH	Acidez Total (n=4)	651	1715	854	± 206
	Acidez Carboxílica (n=6)	120	200	167	± 27
	Acidez Fenólica	531	1515	1023	± 696
AF	Acidez Total (n=2)	877	1388	1133	± 361
	Acidez Carboxílica (n=2)	82	98	90	± 11
	Acidez Fenólica	795	1290	1042	± 350
HUM	Acidez Total (n=3)	750	1000	881	± 125
	Acidez Carboxílica (n=2)	10,0	10,4	10,2	$\pm 0,3$
	Acidez Fenólica	740	989	865	± 176
LNP	Acidez Total (n=3)	750	1064	945	± 170
	Acidez Carboxílica (n=6)	20	60	34	± 15
	Acidez Fenólica	730	1004	867	± 194

4.6 Análise elementar

Os valores observados para carbono, hidrogênio e nitrogênio total nas amostras de analisadas são apresentados na Tabela 8, juntamente com as razões C/N e H/C.

Tabela 8 - Porcentagem de carbono, hidrogênio e nitrogênio observadas nas amostras das frações da matéria orgânica da LNP e suas razões elementares.

	Carbono	Hidrogênio	Nitrogênio	C/N	H/C
AH	14,50	3,40	1,10	13,18	0,23
AF	1,10	1,63	0,10	11,00	1,48
HUM+ARG	3,95	1,01	0,25	15,80	0,25

4.7 Espectroscopia de absorção no ultravioleta/visível (razão E_4/E_6)

Na Tabela 9, pode-se observar os resultados obtidos para as absorbâncias com $\lambda = 465\text{nm}$ e $\lambda = 665\text{nm}$ e razão E_4/E_6 , para diferentes frações da LNP.

Tabela 9 – Leitura das absorbâncias com $\lambda = 465\text{nm}$ e $\lambda = 665\text{nm}$ e razão E_4/E_6 .

	Absorbância		Razão E_4/E_6
	$\lambda = 465\text{ nm}$	$\lambda = 665\text{ nm}$	
AH	0,507	0,123	4,12
AF	0,616	0,077	8,00

4.8 Análise por Ativação Neutrônica Instrumental associada à espectrometria gama

Os resultados obtidos na determinação das concentrações de elementos da LNP e suas frações através da análise por ativação neutrônica instrumental são apresentados nas Tabelas 10, 11, 12 e 13.

Tabela 10 - Concentração dos elementos na LNP, em mg kg⁻¹, exceto onde indicado %, junto as respectivas incertezas.

LNP	1		2		3		4		5		Valor	
											Mínimo	Máximo
As	5,2	±0,3	4,5	±0,2	3,3	±0,2	4,3	±0,2	3,8	±0,1	3,3	5,2
Ba	270	±29	266	±27	226	±22	252	±24	269	±27	226	270
Br	254	±2	353	±2	293	±1	33	±2	364	±2	33	364
Ca%	0,73	±0,05	0,8	±0,2	0,8	±0,1	1,3	±0,2	1,1	±0,1	0,73	1,30
Ce	38	±1	35	±1	31	±1,10	34	±1	37	±1	31	38
Co	6,0	±0,2	4,2	±0,1	3,7	±0,1	4,2	±0,1	4,5	±0,1	3,7	6,0
Cr	43	±2	32	±1	29	±1	33	±1	35	±1	29	43
Cs	3,7	±0,2	2,0	±0,1	2,7	±0,4	3,2	±0,5	3,1	±0,5	2,0	3,7
Eu	0,65	±0,03	0,59	±0,03	0,52	±0,02	0,57	±0,03	0,63	±0,03	0,52	0,65
Fe%	1,97	±0,02	1,91	±0,02	1,79	±0,02	1,87	±0,02	2,03	±0,02	1,79	2,03
Hf	4,07	±0,06	3,59	±0,05	3,15	±0,04	3,24	±0,04	1,65	±0,03	1,65	4,07
K%	0,8	±0,4	1,4	±0,3	0,7	±0,2	0,6	±0,2	<LD	-	<LD	1,4
La	21,8	±0,5	19,6	±0,4	18,4	±0,5	19,3	±0,4	21,3	±0,4	18,4	21,8
Lu	0,15	±0,01	0,14	±0,01	0,13	±0,01	0,17	±0,01	0,16	±0,01	0,13	0,17
Na%	0,004	±0,002	3,28	±0,08	2,76	±0,06	3,31	±0,08	3,24	±0,07	0,004	3,31
Nd	17,2	±0,6	11	±2	16	±1	14,7	±0,5	14	±1	11,4	17,2
Rb	51	±2	50	±2	48	±2	41	±2	65	±3	41	65
Sb	0,3	±0,1	0,15	±0,02	0,35	±0,03	0,43	±0,04	0,42	±0,04	0,15	0,43
Sc	6,32	±0,04	5,70	±0,04	5,32	±0,03	5,58	±0,03	6,11	±0,03	5,32	6,32
Se	0,6	±0,2	0,53	±0,09	0,13	±0,03	0,5	±0,2	0,30	±0,04	0,13	0,60
Sm	3,0	±0,1	2,3	±0,1	1,8	±0,1	2,3	±0,1	2,6	±0,1	1,8	3,0
Ta	0,34	±0,03	0,49	±0,04	0,49	±0,03	<LD	-	0,38	±0,03	<LD	0,49
Tb	0,66	±0,05	0,42	±0,08	0,24	±0,05	0,30	±0,08	0,24	±0,08	0,24	0,66
Th	6,3	±0,5	6,1	±0,3	5,8	±0,3	6,1	±0,3	6,7	±0,4	5,8	6,7
U	3,9	±0,3	1,9	±0,1	2,5	±0,1	3,3	±0,3	3,2	±0,1	1,9	3,9
Yb	0,9	±0,1	0,8	±0,1	0,82	±0,07	0,86	±0,08	0,76	±0,08	0,76	0,90
Zn	57	±2	47	±2	44	±2	41	±2	51	±2	41	57
Zr	278	±45	206	±40	205	±18	61	±11	120	±12	61	278

Tabela 11 - Concentração dos elementos no AH, em mg kg⁻¹, exceto onde indicado %, junto as respectivas incertezas.

AH	1	2	3	4	5	Valor	
						Mínimo	Máximo
As	13,8 ±0,5	6,4 ±0,2	5,9 ±0,2	7,5 ±0,2	7,5 ±0,3	5,9	13,8
Ba	107 ±28	49 ±18	40 ±23	51 ±18	<LD -	<LD	107
Br	195 ±1	157 ±1	162 ±1	173 ±1	175 ±1	157	195
Ca%	0,80 ±0,08	0,25 ±0,07	0,10 ±0,01	0,50 ±0,04	0,30 ±0,03	0,10	0,80
Ce	30 ±1	31 ±2	29 ±1	30 ±1	32 ±2	29	32
Co	8,9 ±0,1	7,3 ±0,2	7,4 ±0,2	7,1 ±0,2	7,8 ±0,2	7,1	8,9
Cr	101 ±3	70 ±3	71 ±3	69 ±2	77 ±3	69	101
Cs	5,6 ±0,2	3,5 ±0,7	3,1 ±0,6	3,2 ±0,6	3,3 ±0,7	3,1	5,6
Eu	0,62 ±0,04	0,12 ±0,01	0,12 ±0,01	0,12 ±0,01	0,13 ±0,01	0,12	0,62
Fe%	1,62 ±0,02	1,42 ±0,02	1,50 ±0,02	1,49 ±0,02	1,51 ±0,02	1,42	1,62
Hf	2,00 ±0,04	0,98 ±0,03	0,87 ±0,02	0,91 ±0,03	0,99 ±0,03	0,87	2,00
K%	<LD -	0,3 ±0,2	0,4 ±0,2	<LD -	<LD -	<LD	0,4
La	12,8 ±0,3	10,5 ±0,3	10,5 ±0,2	11,3 ±0,3	12,1 ±0,3	10,5	12,8
Lu	0,08 ±0,01	0,08 ±0,01	0,08 ±0,01	0,07 ±0,01	0,07 ±0,01	0,07	0,08
Na%	4,7 ±0,1	4,1 ±0,1	3,5 ±0,1	4,1 ±0,1	4,3 ±0,1	3,5	4,7
Nd	24 ±1	4,8 ±0,8	<LD -	1,0 ±0,3	5,8 ±0,3	<LD	24
Rb	45 ±2	33 ±2	34 ±2	35 ±2	33 ±2	33	45
Sb	0,34 ±0,03	0,53 ±0,07	0,60 ±0,08	0,52 ±0,07	0,46 ±0,06	0,34	0,60
Sc	12,6 ±0,1	12,9 ±0,1	13,8 ±0,1	13,4 ±0,1	13,9 ±0,1	12,6	13,9
Se	<LD -	0,4 ±0,2	<LD -	<LD -	0,4 ±0,1	<LD	0,4
Sm	3,3 ±0,1	2,9 ±0,1	2,8 ±0,1	3,0 ±0,1	3,2 ±0,1	2,8	3,3
Ta	<LD -	0,18 ±0,03	0,20 ±0,02	0,37 ±0,04	0,17 ±0,02	<LD	0,37
Tb	0,2 ±0,2	0,3 ±0,1	0,3 ±0,1	0,2 ±0,1	0,2 ±0,1	0,2	0,3
Th	17 ±1	15 ±1	15 ±1	15 ±1	16 ±1	15	17
U	7,5 ±0,5	6,1 ±0,3	6,8 ±0,3	6,0 ±0,3	6,6 ±0,2	6,0	7,5
Yb	0,7 ±0,1	0,7 ±0,1	0,7 ±0,1	0,7 ±0,2	0,8 ±0,2	0,7	0,8
Zn	48 ±2	51 ±3	<LD -	<LD -	50 ±2	<LD	51
Zr	224 ±53	<LD -	193 ±21	56 ±5	53 ±5	<LD	224

Tabela 12 - Concentração dos elementos no AF, em mg kg⁻¹, exceto onde indicado %, junto as respectivas incertezas.

AF	1		2		3		4		Valor	
									Mínimo	Máximo
As	12	±2	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	12
Ba	<LD	-	17	±9	127	±28	<LD	-	<LD	127
Br	819	±5	1338	±8	1274	±9	928	±6	819	1338
Ca%	1,9	±0,1	0,3	±0,1	0,9	±0,2	<LD	-	<LD	1,9
Ce	65	±2	<LD	-	59	±3	31	±2	<LD	65
Co	14,7	±0,2	9,1	±0,3	8,4	±0,3	6,3	±0,2	6,3	14,7
Cr	16	±1	21	±1	19	±1	23	±1	16	23
Cs	<LD	-	<LD	-	<LD	-	0,4	±0,1	<LD	0,4
Eu	1,01	±0,03	0,62	±0,03	0,74	±0,04	0,39	±0,02	0,39	1,01
Fe%	1,09	±0,01	0,93	±0,01	0,87	±0,01	0,65	±0,01	0,65	1,09
Hf	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	<LD
K%	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	<LD
La	20,4	±0,4	18,2	±0,4	20,6	±0,5	11,4	±0,3	11,4	20,6
Lu	0,15	±0,01	0,12	±0,01	0,14	±0,01	0,09	±0,01	0,09	0,15
Na%	<LD	-	15,7	±0,3	16,6	±0,4	19,3	±0,4	<LD	19,3
Nd	22,9	±0,7	13,0	±1,3	15,4	±1,8	12,4	±1,4	12,4	22,9
Rb	1,9	±0,6	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	1,9
Sb	0,10	±0,07	<LD	-	0,17	±0,08	<LD	-	<LD	0,17
Sc	0,19	±0,01	0,17	±0,01	0,16	±0,01	0,07	±0,02	0,07	0,19
Se	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	<LD
Sm	3,8	±0,2	2,5	±0,1	2,9	±0,1	1,8	±0,1	1,8	3,8
Ta	0,22	±0,05	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	0,22
Tb	0,7	±0,1	0,2	±0,1	0,4	±0,1	0,1	±0,1	0,1	0,7
Th	0,18	±0,07	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	0,18
U	5,6	±0,4	<LD	-	5,6	±0,7	2,2	±0,4	<LD	5,6
Yb	1,0	±0,1	0,7	±0,1	0,6	±0,7	0,3	±0,1	0,3	1
Zn	85	±3	69	±4	74	±4	47	±2	47	85
Zr	131	±10	<LD	-	<LD	-	205	±22	<LD	205

Tabela 13 - Concentração dos elementos no HUM+ARG, em mg kg⁻¹, exceto onde indicado %, junto as respectivas incertezas.

HUM+ARG	1	2	3	4	5	Valor	
						Mínimo	Máximo
As	6,4 ±0,3	4,0 ±0,2	4,2 ±0,2	4,1 ±0,2	4,9 ±0,2	4,0	6,4
Ba	413 ±35	405 ±29	418 ±23	402 ±28	428 ±31	402	428
Br	42 ±1	93 ±1	90 ±1	101 ±1	107 ±1	42	107
Ca(%)	0,7 ±0,1	0,6 ±0,1	0,6 ±0,1	0,7 ±0,1	0,7 ±0,1	0,6	0,7
Ce	32 ±1	29 ±1	30 ±1	32 ±1	34 ±1	29	34
Co	7,2 ±0,1	4,7 ±0,1	5,0 ±0,1	5,4 ±0,1	5,5 ±0,1	4,7	7,2
Cr	47 ±2	35 ±1	36 ±1	39 ±1	41 ±1	35	47
Cs	4,4 ±0,2	3,0 ±0,2	2,9 ±0,1	3,0 ±0,2	3,3 ±0,2	2,9	4,4
Eu	0,55 ±0,02	0,50 ±0,02	0,52 ±0,02	0,60 ±0,02	0,62 ±0,03	0,50	0,62
Fe(%)	2,29 ±0,02	2,10 ±0,03	2,22 ±0,03	2,32 ±0,03	2,45 ±0,04	2,10	2,45
Hf	5,55 ±0,07	5,26 ±0,06	5,07 ±0,05	5,64 ±0,06	5,39 ±0,06	5,07	5,64
K(%)	0,9 ±0,3	0,2 ±0,1	0,2 ±0,1	0,1 ±0,1	0,4 ±0,2	0,1	0,9
La	21,3 ±0,5	18,2 ±0,3	19,0 ±0,4	20,2 ±0,4	20,6 ±0,4	18,2	21,3
Lu	0,17 ±0,01	0,16 ±0,01	0,18 ±0,01	0,17 ±0,01	0,15 ±0,01	0,15	0,18
Na(%)	1,48 ±0,04	1,27 ±0,03	1,28 ±0,03	1,40 ±0,03	1,43 ±0,03	1,27	1,48
Nd	21,6 ±0,8	19,6 ±1,4	19,8 ±2,4	12,6 ±3,3	23,8 ±2,5	12,6	23,8
Rb	67 ±3	74 ±3	76 ±3	77 ±3	88 ±4	67	88
Sb	0,7 ±0,1	0,6 ±0,1	0,7 ±0,2	0,7 ±0,2	0,5 ±0,1	0,5	0,7
Sc	7,10 ±0,04	6,78 ±0,04	7,04 ±0,04	7,33 ±0,04	7,64 ±0,04	6,78	7,64
Se	<LD -	0,3 ±0,1	0,6 ±0,1	<LD -	0,7 ±0,2	<LD	0,7
Sm	2,7 ±0,1	2,4 ±0,1	2,4 ±0,1	2,6 ±0,1	2,7 ±0,1	2,4	2,7
Ta	0,60 ±0,04	0,53 ±0,04	0,54 ±0,03	0,73 ±0,03	0,49 ±0,04	0,49	0,73
Tb	0,20 ±0,02	0,31 ±0,02	0,38 ±0,08	0,38 ±0,03	<LD -	<LD	0,38
Th	7,2 ±0,6	6,6 ±0,3	7,1 ±0,4	6,9 ±0,4	7,3 ±0,4	6,6	7,3
U	3,1 ±0,3	2,2 ±0,2	2,6 ±0,2	2,7 ±0,2	2,5 ±0,2	2,2	3,1
Yb	0,83 ±0,1	0,9 ±0,1	1,0 ±0,1	0,9 ±0,1	0,9 ±0,1	0,8	1,0
Zn	44 ±2	39 ±2	45 ±3	43 ±3	50 ±4	39	50
Zr	<LD -	128 ±20	223 ±10	207 ±23	157 ±12	<LD	223

Para o controle de qualidade dos resultados obtidos pela técnica de INAAe determinação da precisão e exatidão do método, TORRECILHA (2014) realizou irradiações longas nos materiais de referência (*Estuarine Sedimente Syenite Table Mountain*).

Os materiais de referência utilizados pelo autor foram os mesmos utilizados neste estudo. Os resultados são mostrados na Tabela 14 e pode-se notar uma boa precisão e exatidão, com desvio padrão relativo (DPR) e erro relativo (ER) inferiores a 10% para a maioria dos elementos.

Tabela 14- Concentração dos elementos, em $\mu\text{g g}^{-1}$ ou %, nos materiais de referência certificados SRM 1646^a e STM-2 bem como os resultados obtidos na NAA com seus respectivos DRP e ER em %

Elemento	<i>Estuarine Sediment, SRM 1646^a</i>				<i>Syenite Table Mountain, STM-2</i>			
	V. Certificado ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	V. Obtido ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Desvio Padrão Relativo (%)	Erro Relativo (%)	V. Certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	V. Obtido ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Desvio Padrão Relativo (%)	Erro Relativo (%)
As	6,23±0,21	6,7±0,7	10,9	6,9	-----	-----	-----	-----
Ba	210	203±93	46,1	3,5	639±61	835±178	21,3	30,6
Ca (%)	0,52±0,02	0,9±0,1	40,5	1,8	0,78±0,03	0,5±0,1	24,8	33,2
Ce	34	36±1	3,9	5,6	256±23	252±6	2,8	1,9
Co	5	4,93±0,09	1,7	1,5	-----	-----	-----	-----
Cr	40,9±1,9	42,1±0,1	0,3	2,9	-----	-----	-----	-----
Cs	-----	-----	-----	-----	1,52±0,6	1,6±0,05	3,1	2,3
Eu	-----	-----	-----	-----	3,45±0,25	3,8±0,5	12,1	9,4
Fe (%)	2,010±0,040	1,97±0,07	3,8	2,01	3,77±0,09	3,99±0,7	3,9	5,9
Hf	-----	-----	-----	-----	27±0,8	28±2	8,6	6,5
K (%)	-----	-----	-----	-----	0,38±0,17	4±1	31,5	21,7
La	17	18±1	6,5	7,1	154±11	149±3	2,1	3,5
Lu	-----	-----	-----	-----	0,6±0,04	0,674±0,105	15,6	12,7
Na	0,7±0,017	0,722±0,009	1,2	2,4	6,61±0,68	6,792±0,08	1,2	2,7
Nd	15	16±3	16,1	7,9	81±4,8	73±9	12,6	9,9
Rb	38	34±4	12,2	11,1	114±11	137±9	6,3	20,4
Sb	0,3	0,4±0,1	32,6	30,1	-----	-----	-----	-----
Sc	5	5±0,1	2,9	0,5	-----	-----	-----	-----

Se	0,190±0,003	0,09±0,1		15,3	-----	-----	-----	-----
Sm	-----	-----	-----	-----	12±0,9	11,4±0,8	7,1	4,8
Tb	-----	-----	-----	-----	1,38	1,5±0,1	7,7	5,7
Th	5,8	5,3±0,5	9,1	8,4	27±5	33±3	9,8	22,2
U	2	1,6±0,3	19,8	22,4	7,6	11 ±1	18,2	7,4
Yb	-----	-----	-----	-----	4,2±0,8	4,5±0,4	9,7	7,4
Zn	48,9±1,60	42±5	11,6	14,8	223±19	254±46	17,9	13,9

Fonte: TORRECILHA, 2014.

5 ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1 Teor de umidade

No estudo feito por TORRECILHA (2014), na LNP *in natura* os teores de umidade variaram de 49 a 51,5%, porém, após o processo de maturação os resultados mostraram-se levemente superiores, variando de 54 a 64%. Na metodologia utilizada pelo autor, as amostras foram centrifugadas a uma rotação de 3000rpm por 30 minutos, e, após descartado o sobrenadante, o sedimento foi deixado para secar por 24 horas em uma estufa a uma temperatura constante de 105°C. O teor de umidade encontrado pelo referido autor é o relacionado à água higroscópica juntamente com a capilar, aquela retida através das forças da tensão superficial e preenche os pequenos espaços vazios existentes entre as partículas, denominados capilares ou sítios de hidratação, pois o processo de centrifugação retiraria somente a água gravitacional, a que não estaria retida pelos grãos sólidos e circularia livremente entre eles, representando a maior parcela da água existente nos sedimentos. Sendo assim, a análise de TORRECILHA (2014) revela que o alto teor de umidade encontrado LNP é um indicativo da alta quantidade de partículas finas, visto que estas apresentam grande área superficial e, conseqüentemente, um maior número de sítios de hidratação (capilares). Ainda segundo a análise do autor, a LNP possui sítios de hidratação em conformidade com demais materiais utilizados com finalidade terapêutica.

Já no estudo feito por LÓPEZ-GALINDO (2007) com diferentes argilas farmacêuticas, foi mostrado que o teor de umidade, para esse material varia de 4 a 17%. Esses valores seriam referentes à água higroscópica, aquela que estaria quimicamente ligada às superfícies das partículas sólidas, movimentando-se apenas no estado de vapor, e formando uma camada muito fina que fica muito aderida ao grão. O valor para o teor de umidade encontrado para a LNP foi de 4,15% ($\pm 0,32$), situado dentro da faixa proposta por este autor para materiais minerais com finalidade terapêutica.

5.2 Extração e quantificação das substâncias húmicas

Na extração e quantificação das substâncias húmicas presentes na LNP, observou-se que fração insolúvel em qualquer condição de pH, que contém o material mineral (argila) juntamente com a humina – matéria orgânica com moléculas superiores a 100000 daltons – é a fração dominante na LNP, com ocorrência de 73 (± 6) %.

Os ácidos húmicos extraídos da LNP possuem coloração castanha e juntamente com os ácidos fúlvicos representam, aproximadamente 26,5% da massa do material, indicando um elevado teor de matéria orgânica presente na LNP que, muito provavelmente, está relacionado ao local de deposição da LNP, um ambiente estuarino com intensa cobertura vegetal. Na Figura 24, 25 e 26 pode-se observar as frações de substâncias húmicas extraídas da LNP.

Figura 24 – Foto da fração dos ácidos húmicos extraídos da LNP.

Figura 25 – Foto da fração dos ácido fúlvicos extraídos da LNP.

Figura 26 – Foto da fração da humina e da argila extraída da LNP.

A razão AH/AF, inferior a 1, indica a predominância de frações com menores massas moleculares, com estruturas menos condensadas e de menor aromaticidade. Segundo SANTOS (1984), durante o processo de humificação, os ácidos fúlvicos se condensam formando os ácidos húmicos castanhos que, por sua vez, formam os ácidos húmicos cinzentos. Estudos mais recentes, conduzidos por SIMPSON (2002), demonstraram que as substâncias húmicas são associações ou agregações de moléculas de menores massas moleculares. Levando a supor que a humificação da matéria orgânica presente na LNP estaria num estágio mais inicial desse processo.

5.3 Teor de cinzas

A análise do teor de cinzas da LNP revelou um conteúdo de material inorgânico igual a 78,8 ($\pm 0,2$) %, desta forma, a porcentagem de material orgânico representaria, aproximadamente, 20,34% do conteúdo, já excluindo o valor referente ao teor de umidade do material, 4,15%. A análise feita por TORRECILHA (2014) revelou um conteúdo de matéria orgânica para a LNP, após o processo de maturação, de 12 a 20%, o resultado encontrado neste trabalho encontra-se condizente com os valores apresentados pelo autor, embora levemente superior.

Na análise de teor de cinzas, a fração que apresentou a maior porcentagem foi a humina com 86,7 ($\pm 0,3$)%, ressaltando que não foi possível a separação dessa fração do material mineral contido na LNP, pois ambos são insolúveis em qualquer condição de pH, logo, era de se esperar que esta

apresentasse o maior conteúdo de material inorgânico e, conseqüentemente, o menor teor de matéria orgânica dentre as frações analisadas.

Os ácidos húmicos apresentaram um valor para o conteúdo de material mineral igual a 43,6 ($\pm 0,4$) %. Com base nele, pode-se calcular que o material perdido durante o processo de calcinação, que representaria o conteúdo orgânico, foi de aproximadamente 56%. Segundo ROCHA & ROSA (2003), os ácidos húmicos podem assumir um comportamento polieletrólítico, atuando como agente complexante de vários íons metálicos, o que justifica o alto valor encontrado para o conteúdo mineral presente nessa fração.

Por fim, os ácidos fúlvicos, apresentaram a fração com o menor conteúdo de material mineral, 12 (± 3) %, sendo assim, o teor de matéria orgânica – perdida durante o processo de calcinação – configuraria, aproximadamente, 88%. Números que levam a supor que os ácidos fúlvicos não assumem o mesmo comportamento polieletrólítico que os ácidos húmicos.

5.4 Perda ao fogo

O teor de perda ao fogo está relacionado às águas intercaladas e de coordenação, de hidroxilas dos argilominerais e hidróxidos, como $\text{Al}(\text{OH})_3$ e $\text{Fe}(\text{OH})_3$, bem como o alto teor de sulfetos, sulfatos voláteis, e carbonatos existentes nas amostras (MARTINS et al., 2013). Sendo os ácidos húmicos a fração com a maior porcentagem de perda ao fogo, este resultado corrobora os observados na análise do teor de cinzas indicando que essa fração é mais enriquecida em compostos contendo água de coordenação. Os baixos teores de perda ao fogo observados para os demais compostos indicam que esses são empobrecidos em tais componentes.

TORRECILHA (2014) encontrou valores 2,7 a 3% para a perda ao fogo da LNP após o processo de maturação, o resultado encontrado nesse trabalho (2,23%) encontra-se ligeiramente abaixo da faixa especificada pelo autor, porém dentro da faixa especificada para a LNP *in natura*, na forma como a qual é encontrada naturalmente, antes de ser submetida ao processo de maturação, cujos valores são de 1,9 a 2,3%.

5.5 Acidez total, carboxílica e fenólica

Na Figura 27, os resultados da acidez total, carboxílica e fenólica são expressos graficamente. A Figura 28 traz os resultados acidez total, carboxílica e fenólica expressas por fração de substância húmica.

Figura 27 – Acidez Total, Carboxílica e Fenólica, em cmol.kg^{-1} de H^+

Figura 28 – Acidez Total, Carboxílica e Fenólica expressas por fração de substância húmica, em $\text{cmol H}^+.\text{kg}^{-1}$.

A análise dos grupamentos funcionais presentes nas diferentes frações de substâncias húmicas, revelou que os ácidos húmicos compõem a fração com a maior amplitude para a acidez total, com valores que variaram de 651 a 1716 cmol.kg^{-1} de H^+ . O valor máximo encontrado nessa fração representa a maior acidez total dentre as três frações analisadas, o que indica que os ácidos húmicos são a fração com maior quantidade de grupos carboxílicos e fenólicos.

Ainda analisando a acidez total, a fração que contém a humina foi a que apresentou a menor amplitude de valores, de 750 a 1000 cmol.kg^{-1} de H^+ , o valor máximo encontrado nessa fração é o mais baixo dentre os valores máximos encontrados para as demais frações, o que leva a concluir que esta é a fração com menor quantidade de grupamentos carboxílicos e fenólicos, considerando a presença de um alto conteúdo em material mineral na amostra analisada.

Na análise da acidez carboxílica, os ácidos húmicos apresentaram valores entre 120 e 200 cmol.kg^{-1} de H^+ , os ácidos fúlvicos entre de 82 a 98 cmol.kg^{-1} de H^+ e, por fim, a humina entre 10 e 10,4 cmol.kg^{-1} de H^+ . A análise desses resultados permite concluir que a fração que concentra a maior parte dos grupos carboxílicos ($-\text{COOH}$), presentes na LNP, é a fração dos ácidos húmicos.

Na acidez fenólica, com base nos valores máximos encontrados, a fração que apresentou maior valor foi a dos os ácidos húmicos, com 1515 cmol.kg^{-1} de H^+ , seguida dos ácidos fúlvicos, com 1290 cmol.kg^{-1} de H^+ e, por fim, a humina com 989 cmol.kg^{-1} de H^+ . Com base nesses valores, é possível afirmar que a fração dos ácidos húmicos é a que concentra a maior quantidade de grupamentos fenólicos, enquanto a fração da humina é a que contém a menor quantidade de grupos.

Os ácidos húmicos concentram a maior parte das funções oxigenadas presentes na LNP, o que lhe confere uma excepcional capacidade de complexação com metais devido ao número elevado desses grupos funcionais (carboxílicas e fenólicas) presentes na sua estrutura molecular.

Cátions monovalentes são mantidos principalmente pela simples formação de sais, por reações de troca envolvendo esses grupos oxigenados. Cátions polivalentes podem formar ligações coordenadas com moléculas orgânicas com ligantes oxigenados (MARTIN-NETO et al., 1990).

A análise dos grupamentos funcionais permitiu avaliar a reatividade das substâncias húmicas. A natureza complexa dos ácidos húmicos é derivada

diretamente do grande número de diferentes grupos funcionais presentes na sua estrutura.

5.6 Análise elementar

A análise elementar das frações de substâncias húmicas, revelou valores para a razão carbono/nitrogênio (C/N) igual a 13,18 para os ácidos húmicos, 11,00 para os ácidos fúlvicos e 15,80 para a humina.

Diversos tipos de traçadores da matéria orgânica são utilizados para identificar as prováveis origens e os processos a que esta matéria esteve sujeita durante sua formação, uma delas é a razão carbono/nitrogênio (C/N).

Segundo MEYERS (1993) a razão carbono/nitrogênio (C/N) é um dos marcadores mais confiáveis para indicação de fontes da matéria orgânica para um ecossistema. A matéria orgânica produzida pela comunidade planctônica local, constituída em grande parte por bactérias e algas, é rica em proteínas e tem razão molar C/N entre 6 e 8. Já as bactérias isoladamente apresentam valores inferiores para a razão molar C/N, entre 4 e 5. Valores superiores a 20 são característicos de fontes alóctones representadas em sua grande maioria pelas plantas terrestres.

Desta forma, a composição elementar da matéria orgânica pode ser utilizada para distinguir fontes alóctones (terrestres) e autóctones (produção interna), com ênfase na razão entre carbono orgânico e nitrogênio total em sedimentos de regiões estuarinas.

No entanto, WILSON et al. (2005) sugerem também que valores de C/N superiores a 12 já são compatíveis com plantas terrestres.

Os valores apresentados pelos ácidos húmicos (13,18) e pela humina (15,80) sugerem que a principal fonte de matéria orgânica da LNP seja de origem alóctone, representada em sua grande maioria pelas plantas terrestres, principalmente por plantas superiores (vegetais fanerógamos do tipo angiospermas), que possuem moléculas com baixo teor de nitrogênio (ligninas, taninos, hemicelulose, celulose, suberina e cutina). Os ácidos fúlvicos apresentaram um valor levemente inferior (11,00) para a razão C/N, o que pode indicar que a maior parte de sua matéria orgânica seja oriunda, também, de

fontes alóctones, porém, com uma parte menor possivelmente proveniente de fontes

autóctones, produzida pela comunidade planctônica local, constituída em grande parte por bactérias e algas.

O teor mais baixo de carbono nos ácidos fúlvicos, como o evidenciado na análise, pode indicar, segundo DOBBS et al. (2009), um processo bastante particular de estabilização do material com possível presença de substâncias húmicas de baixa massa molecular nesta fração.

Segundo GOUVÊA (2018), a razão H/C, por sua vez, apresenta, em geral, valores superiores a 1,7 para matéria orgânica originária no fitoplâncton marinho enquanto que aquela proveniente de ambiente terrestre apresenta valores menores que 1,3. O que confirma que a matéria orgânica presentes nos ácidos húmicos e humina são oriundas de um ambiente terrestre, enquanto os ácidos fúlvicos possuem predominância da matéria orgânica proveniente de fontes terrestres, mas apresenta também contribuição de matéria orgânica proveniente de ambientes aquáticos.

Um grau mais elevado de aromaticidade ou de insaturação leva a valores relativos de H/C menores, pois em compostos aromáticos e insaturados a quantidade de carbono é elevada em relação à quantidade de hidrogênio (CANELLAS & SANTOS, 2005). Os valores dessa relação para os ácidos húmicos (0,23) e para a humina (0,25) evidenciam a presença de estruturas aromáticas e insaturadas nessas frações. Os ácidos fúlvicos apresentaram um valor superior (1,48), deixando evidente a presença de estruturas mais saturadas.

5.7 Espectroscopia de absorção no ultravioleta/visível (razão E_4/E_6)

Os valores da relação E_4/E_6 encontrados para os ácidos húmicos e para os ácidos fúlvicos foram 4,12 e 8,00, respectivamente. Os ácidos húmicos apresentaram um valor para a razão E_4/E_6 dentro da faixa esperada que, segundo KONONOVA (1982), normalmente é menor que 5,00. Os valores da relação para os ácidos fúlvicos, segundo STEVENSON (1994), oscilam entre 6,00 e 8,50, o valor da razão observada para os ácidos fúlvicos extraídos da LNP está dentro da faixa especificada pelo autor.

KONONOVA (1966) postulou que o valor da relação E_4/E_6 estaria relacionado ao grau de condensação dos constituintes aromáticos. Segundo a

teoria da lignina para o processo de humificação, quanto maior o grau de condensação da matéria orgânica humificada, maior será o número de unidades aromáticas presentes na estrutura molecular. Segundo CANELLAS & SANTOS (2005) uma baixa razão E_4/E_6 significa constituintes aromáticos mais humificados, uma alta razão E_4/E_6 indica estruturas alifáticas menos humificadas, indicando que os ácidos húmicos possuem estruturas com constituintes aromáticos mais humificados e com maior grau de condensação do que os ácidos fúlvicos, que conteriam em suas estruturas constituintes mais alifáticos.

Os resultados da razão E_4/E_6 corroboram com os resultados da análise elementar que evidenciou a presença de estruturas aromáticas e insaturadas nos ácidos húmicos e para os ácidos fúlvicos mostraram a presença de estruturas mais saturadas.

5.8 Análise por Ativação Neutrônica Instrumental associada à espectrometria gama

Na Figura 29 é mostrada a distribuição de cada elemento nas frações de ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e humina, ressaltando não foi possível a separação da parte mineral da Humina. Na Figura 30 é mostrada a composição elementar de cada fração de substância húmica. Na Figura 31 é dada a distribuição dos elementos Ca, Fe, K e Na, que são os mais abundantes, também por fração de substância húmica.

Figura 29 - Distribuição de cada elemento nas frações de substância húmica da LNP.

Figura 30 – Distribuição por fração de substância húmica.

Figura 31 – Distribuição dos elementos Ca, Fe, K e Na por fração de substância húmica

A análise por ativação neutrônica possibilitou determinar a distribuição elementar nas diferentes frações de substâncias húmicas da LNP, mas antes de analisá-la é interessante estabelecer um comparativo entre os valores das concentrações dos elementos encontrados neste trabalho e os valores encontrados por GOUVÊA (2018) utilizando a mesma técnica analítica, mostrados na Tabela 15.

Tabela 15 – Comparação entre as concentração dos elementos na LNP, em mg.L⁻¹

LNP	Valor		Valor *	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
As	3,3	5,2	4,8	35,2
Ba	226	270	166	516
Br	33	364	32,7	148,8
Ce	31	38	32	73
Co	3,7	6,0	3,81	10,7
Cr	29	43	30	69
Cs	2,0	3,7	1,8	5,5
Eu	0,52	0,65	0,51	1,64
Hf	1,65	4,07	2,7	7,9
La	18,4	21,8	16,5	34,7
Lu	0,132	0,167	0,1	0,36
Nd	11,4	17,2	12,4	40,9
Rb	41	65	40	86
Sb	0,15	0,43	0,13	0,51
Sc	5,32	6,32	4,9	12,35
Sm	1,8	3,0	2,6	8
Ta	<LD	0,49	0,1	0,99
Tb	0,24	0,66	<LD	0,6
Th	5,8	6,7	5,2	10,3
U	1,9	3,9	2,9	4,4
Yb	0,76	0,90	0,6	1,8
Zn	41	57	36	129

* Intervalo de variação das concentrações dos elementos traço nas amostras da LNP encontrados por GOUVÊA (2018)

Os elementos As, Ce, Cr, Hf, Nd, Sm, Ta e U apresentaram valores mínimos menores do que os apresentados pelo autor e os elementos Br e Tb foram detectados em quantidades maiores do que as encontradas por ele. No seu estudo, para obtenção das amostras de LNP *in natura*, GOUVÊA (2018) as coletou no 'Complexo Thermal da Lama Negra de Peruíbe' antes de serem submetidas ao processo de maturação, retiradas diretamente da cava, sendo que a jazida de LNP foi amostrada em 10 cavas diferentes na sua extensão. Fato que poderia justificar as diferenças de valores e amplitude para a concentração de alguns elementos, quando comparados com os resultados encontrados nesse trabalho.

Os ácidos fúlvicos mostraram uma composição elementar mais empobrecida em relação às demais frações, apresentando quantidades muito pequenas ou ausentes para os elementos: Cs, Hf, K, Rb, Sc e Se. Em

comparação aos ácidos fúlvicos, os ácidos húmicos apresentam uma maior quantidade dos elementos determinados, fato que vem a confirmar o caráter polieletrólítico assumido por ele e de agente complexante de íons metálicos (ROCHA & ROSA, 2003).

A composição elementar dos ácidos húmicos mostra-se predominante para os elementos Ba, Br, Cr e Zr, elementos como As, Ce, Co, La, Nd, Rb, Sc, Th, U e Zn mostram-se presentes, porém em menor quantidade em relação aos demais citados anteriormente. Na composição elementar dos ácidos fúlvicos, pode-se observar predominância dos elementos: Ba, Br, Zn, Zr e Ce. Por fim, a análise mostrou uma composição elementar para a fração da humina, juntamente com o material inorgânico da LNP, predominante dos elementos Ba e Zr, mostrando quantidades consideráveis de Br, Ce, Cr, Rb e Zn.

O estudo dos elementos terras raras (La, Ce, Nd, Sm, Eu, Tb, Yb e Lu) é importante para entender como esses elementos são incorporados à LNP. O lantânio (La) encontra-se, principalmente distribuído nas estruturas dos ácidos fúlvicos e da humina, já o cério (Ce) e o európio (Eu) concentram-se principalmente nos ácidos fúlvicos, enquanto o neodímio (Nd) e o samário (Sm) se distribuíram de maneira uniforme entre as três frações analisadas. O térbio (Tb) encontra-se predominantemente nos ácidos fúlvicos, o itérbio (Yb) está distribuído de maneira uniforme entre as três frações, e, por fim, quanto ao lutécio (Lu) encontra-se principalmente nos ácidos fúlvicos e na humina. A maior parte desses elementos (La, Ce, Eu, Tb e Lu) concentram-se predominantemente nas estruturas dos ácidos fúlvicos e humina, os demais (Nd, Sm e Yb) apresentam distribuição mais homogênea entre as três frações analisadas.

O arsênio (As) está onipresente em nosso meio ambiente e é pode ser nocivo em grandes quantidades e declarado cancerígeno para os seres humanos pela International Agency for Research on Cancer (IARC) em 1980. A exposição excessiva ao arsênio pode acarretar graves problemas de saúde, tais como vários tipos de câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e distúrbios neurológicos (WAHEED et al., 2012). O bromo (Br) somente causa dano em pessoas quando inalado ou ingerido (TAVARES et al., 2004; WAHEED et al., 2012;). Os elementos As, Sb e Ba são considerados potencialmente tóxicos enquanto que Rb, Cr, Zr e os elementos terras raras podem ser considerados perigosos (WAHEED et al., 2012).

O elemento As, encontra-se principalmente nas estruturas dos ácidos húmicos e dos ácidos fúlvicos, enquanto o elemento Sb encontra-se, majoritariamente nas estruturas dos ácidos húmicos e da humina e, por fim, o elemento Ba é predominante na fração insolúvel, isto é, na humina. Entretanto, não há regulamentação para esses elementos em argilas utilizadas para fins terapêuticos. De acordo com a regulamentação europeia, elementos como As, Sb e Se. devem estar ausentes em cosméticos devido as suas respectivas toxicidades (MASCOLO et al., 2004) e, portanto, é importante que as concentrações desses elementos sejam conhecidas em lamas utilizadas com propósito medicinal (VRECA & DOLENEC, 2005).

A principal preocupação que surge devido ao emprego terapêutico da LNP é possibilidade de contaminação do por elementos tóxicos, pois não existem limites para as concentrações desses elementos para uso terapêutico, uma possibilidade é fazer comparações entre as concentrações observadas e valores orientadores para a qualidade do sedimento. Estes valores orientadores estabelecem quantidades mínimas acima das quais o elemento pode ser considerado potencialmente danoso à saúde.

Na Tabela 16 são apresentados alguns valores de referência para qualidade de sedimentos e argilas. A Farmacopéia Européia (EP 7.0, 2011) e Farmacopéia Americana (USP 36–NF 31, 2013) são valores recomendados para argilas de uso farmacêutico. A Diretoria de Saúde de Produtos Naturais do Canadá (NHPD, 2018) indica concentrações máximas recomendadas para produtos de uso tópico. As diretrizes de qualidade de sedimentos (SQG), baseadas em consensos, definem os limites para impurezas em matérias primas de produtos medicinais a base de argilas para ingestão oral, parental e por inalação, sendo divididas em concentração de efeito limiar (TEC) e concentração de efeito provável (PEC) (MacDONALD et al., 2000). O Conselho Canadense do Ministério do Meio Ambiente (CCME, 2002) define as diretrizes de qualidade de sedimentos marinhos com concentrações de elementos de efeito limiar (ISQG) e de efeito provável (PEL).

Tabela 15 - Valores limites para elementos potencialmente tóxicos em produtos de uso farmacêutico (EP, USP e NHPG) e para avaliação de qualidade de sedimento (SGQ TEC, SGQ PEC, ISQG e PEL) e os valores mínimos e máximos encontrados para a LNP e suas frações, em mg kg^{-1} .

Valores recomendados para argilas de uso farmacêutico							LNP		AH		HUM+ARG		AF	
	EP, USP	NHPG	SGQ TEC	SGQ PEC	ISQG	PEL	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
As	<8	-	9,79	33	7,24	41,6	3,3	5,2	5,9	13,8	4	6,4	<LD	12
Ba	<50	-	35,8	128	30,2	112	226	270	<LD	107	402	428	<LD	127
Cr	1300	-	-	-	-	-	29	43	69	101	35	47	16	23
Zn	1100	-	44,3	111	52,3	160	41	57	<LD	51	39	50	47	85
Sb	-	5	121	459	124	271	0,15	0,43	0,34	0,6	0,47	0,68	0	0,17
Co	-	5	-	-	-	-	3,7	6	7,1	8,9	4,66	7,2	6,3	14,7

Observando a Tabela 16, nota-se que os elementos As, Cr e Sb, presentes na LNP, estão em conformidade com os valores estabelecido pelas normas analisadas.

O elemento Ba possui concentração acima da especificado para todas as normas em questão, ressaltando que esse elemento encontra-se, majoritariamente, na fração insolúvel da LNP (humina e argila).

Para o elemento Zn, valor máximo encontrado na LNP está acima SGQ TEC e ISQG. Esse elemento encontra-se predominantemente na fração dos ácidos fúlvicos.

Para o elemento Co, o valor máximo encontrado na LNP acima do estabelecido pela NHPD, porém é menor do que o valor reportado por TUREKIAN & WEDEPHOL (1961) para argilas que é de 19 mg.kg^{-1} , ressaltando que a fração que concentra a maior parte desse elemento é a dos ácidos fúlvicos.

5.9 Fluorescência de Raio X

A composição química das argilas naturais utilizadas em fármacos e cosméticos é muito variável e está, sobretudo, relacionada com o contexto geológico dos diferentes depósitos e minerais minoritários, frequentemente associados, que nem sempre são facilmente detectáveis e cujo pequeno tamanho faz com que a sua separação seja difícil (LOPEZ-GALINDO et al., 2007).

Na Tabela 17 é apresentado um quadro comparativo entre os resultados obtidos neste trabalho para as amostras de LNP e para as diferentes frações de substâncias húmicas presentes nela com os resultados obtidos por GOUVÊA (2018) para a análise realizada na LNP. Os resultados encontrados neste estudo, para a LNP, estão de acordo com as faixas especificadas pelo autor.

Segundo LOPEZ-GALINDO et al. (2007) a concentração típica de argilominerais em alumínio varia de 0,60 a 39,5%, ferro de 0,1 a 3,6% e cálcio varia 1,6 a 1,9%. Os valores obtidos para o alumínio estão dentro da faixa especificada, porém a LNP possui concentrações diminuídas de cálcio e elevadas de ferro.

O elemento Al e o Fe encontram-se predominantemente na fração insolúvel da LNP (humina e argila), já o elemento Ca distribui-se entre a fração insolúvel e a fração dos ácidos fúlvicos, sendo escasso na fração dos ácidos húmicos, conforme mostrado na Figura 32.

Figura 32 –Distribuição dos elementos analisados por fluorescência de raio X nas frações húmicas da LNP

Tabela 17 - Resultados obtidos por fluorescência de raios X para a LNP e suas frações húmicas e resultados obtidos por GOUVEA (2018)

	HUMINA	AH	AF	LNP	LNP	
	Teor (%) incerteza	Teor (%) incerteza	Teor (%) incerteza	Teor (%) incerteza	GOUVÊA Min. Máx.	
SiO₂	60 ±1	13 ±1	1,4 ±0,1	46 ±1	45	61
Al₂O₃	12 ±1	7,2 ±0,7	0,61 ±0,06	12 ±1	12	17
SO₃	5,4 ±0,5	4,7 ±0,5	1,5 ±0,2	6,7 ±0,7	3,76	8,1
Fe₂O₃	3,5 ±0,3	1,9 ±0,2	0,31 ±0,03	4,1 ±0,4	1,6	6,6
K₂O	3 ±0,3	0,54 ±0,05	0,27 ±0,03	2,5 ±0,3	1,2	3,1
TiO₂	0,8 ±0,08	0,33 ±0,03	<LD <LD	0,77 ±0,08	0,3	1
CaO	0,48 ±0,05	0,026 ±0,003	0,5 ±0,05	0,71 ±0,07	0,09	1
Cl	0,16 ±0,02	10 ±1	6,3 ±0,6		1,4	6,1
P₂O₅	0,059 ±0,006	0,16 ±0,02	0,09 ±0,01	0,17 ±0,02	0,02	0,18
NiO	0,013 ±0,001	0,006 ±0,001	<LD		-	-
Rb₂O	0,011 ±0,001	<LD	<LD	0,012 ±0,001	-	-
ZrO₂	0,006 ±0,001	<0,003	<LD		-	-
SrO	0,006 ±0,001	<LD	<0,003	0,007 ±0,001	-	-
Br	0,005 ±0,001	0,013 ±0,001	0,008 ±0,01	0,017 ±0,002	-	-
ZnO	<LD	0,004 ±0,001	<0,003	0,007 ±0,001	-	-
MnO	<LD	<LD	<LD	0,024 ±0,02	0,02	0,08

6 CONCLUSÕES

A LNP analisada neste estudo apresentou teor de umidade médio de 4,2% ($\pm 0,3$), para água higroscópica. Valor este que é concordante com a literatura para materiais minerais com finalidade terapêutica.

Considerando as três frações analisadas para a LNP neste estudo verifica-se que a fração humina juntamente com a parte mineral corresponde a aproximadamente 73(± 6) % do total, enquanto os ácidos húmicos e fúlvicos somam 26,5% da composição da lama.

A razão AH/AF, inferior a 1, indica a predominância de frações com menores massas moleculares e com estruturas menos condensadas.

A análise do teor de cinzas da LNP revelou um conteúdo de material inorgânico igual a 78,8%($\pm 0,2$), em concordância com o valor obtido para a fração insolúvel em ácido e base.

Os ácidos húmicos apresentaram um valor para o conteúdo mineral de 44%. Esse alto teor na composição inorgânica reflete a capacidade dos ácidos húmicos de atuarem como agentes complexantes de íons metálicos. Bastante superior à observada para os ácidos fúlvicos cujo conteúdo inorgânico foi de 12%.

A maior porcentagem de perda ao fogo verificada para a fração húmica indica a presença de íons metálicos contendo água de coordenação.

Os ácidos húmicos compõem a fração com a maior amplitude para a acidez total, carboxílica e fenólica, indicando maior quantidade de grupos carboxílicos e fenólicos.

A razão C/N foi igual a 13,18 para os ácidos húmicos, 11,00 para os ácidos fúlvicos e 15,80 para a humina. Estes valores sugerem que a principal fonte de matéria orgânica da LNP seja principalmente derivada de plantas terrestres superiores, que possuem moléculas com baixo teor de nitrogênio (ligninas, taninos, hemicelulose, celulose, suberina e cutina) e possivelmente também proveniente da comunidade planctônica local, constituída em grande parte por bactérias e algas.

A razão H/C de 0,23 para os ácidos húmicos e 0,25 para a humina evidenciam a presença de estruturas aromáticas e insaturadas. Enquanto para os

ácidos fúlvicos apresentaram um valor de 1,48, evidenciando presença de estruturas mais saturadas.

Os valores da relação E_4/E_6 encontrados para os ácidos húmicos e para os ácidos fúlvicos foram 4,12 e 8,00, respectivamente, evidenciando a presença de estruturas aromáticas e insaturadas nos ácidos húmicos e estruturas mais saturadas nos ácidos fúlvicos.

Quanto à composição elementar os ácidos húmicos apresentam maiores teores de dos elementos Ba, Br, Cr e Zr, e menores dos elementos: As, Ce, Co, La, Nd, Rb, Sc, Th, U e Zn. Os ácidos fúlvicos apresentam predominância dos elementos: Ba, Br, Zn, Zr e Ce. A fração da humina, juntamente com o material inorgânico da LNP, é constituída predominantemente por Ba, Zr, Br, Ce, Cr, Rb e Zn.

Os elementos terras raras La, Ce, Eu, Tb e Lu concentram-se predominantemente distribuídos nas estruturas dos ácidos fúlvicos e humina, enquanto os demais Nd, Sm e Yb apresentam distribuição mais homogênea entre as três frações analisadas.

Os elementos Ba, Zn e Co mostraram-se acima de alguns dos valores de referência para qualidade de sedimento e uso em produtos farmacêuticos.

A análise de fluorescência de raio X revelou que os elementos Al, Fe, K e Ti encontram-se predominantemente na fração insolúvel da LNP (humina e argila), já o elemento Ca distribui-se entre a fração insolúvel e a fração dos ácidos fúlvicos, sendo escasso na fração dos ácidos húmicos. Os ácidos húmicos mostram-se enriquecidos com o elemento P. Já o elemento S mostra-se distribuído entre a fração insolúvel e os ácidos húmicos, enquanto o elemento Cl encontra-se agregado aos ácidos húmicos e fúlvicos.

Considerando o uso exclusivamente tópico da LNP, os elementos analisados apresentam baixa probabilidade de efeitos danosos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALES, R., **Metodologia para obtenção de imagens de ácido húmico por meio da técnica de microscopia de força atômica**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2014.

BARAK, P., CHEN, Y., Equivalent radii of humic macromolecules from acid-base titration, **Soil Sci**, v. 154, pp. 184-195, 1992.

BENITES, V. M., MADARI, B., MACHADO, P. L. O. A., Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo: um procedimento simplificado de baixo custo, **Embrapa Solos**, pp. 7, 2003.

BOSTELMANN, E. **Avaliação da concentração de metais em amostras de sedimento do Reservatório Billings, Braço Rio Grande, São Paulo, Brasil**. Dissertação (Mestrado) –Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares, São Paulo, 2006.

BRITSCHKA, Z. M. N., **Efeito anti-inflamatório da lama negra de Peruíbe em diferentes modelos experimentais de artrite**. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina da USP, São Paulo, 2006.

BRITSCHKA, Z. M. N.; TEODORO, W. R.; VELOSA, A. P.; DE MELLO, S. B. The efficacy of Brazilian black mud treatment in chronic experimental arthritis, **Rheumatology International**, v.28, n.1, pp. 39-45, 2007.

BUFFLE, J., GRETER, F. L., HAERDI, W., Measurement of complexation properties of humic and fulvic acids in natural- Waters with leadand copper ion-selective eletrodes. **Anal. Chem.**, v. 49, pp. 216-222, 1977.

CANELLAS, L. P. SANTOS, G. A., Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. **UENF**, pp. 309, 2005.

CARA, S., CARCANGIU, G., PALADINO, G., PALOMBA, M., TAMININI, M., The bentonites in pelotherapy: chemical, mineralogical and technological properties of materials from Sardinia deposits (Italy). **Applied Clay Science**, v. 16, pp. 117-124, 2000.

CARRETERO, M. I.; GOMES, C. S. F.; TATEO, F. Clays, drougs and human health, in: Bergaya, F. and Lagaly, G. Editor(s), **Developement in Clay Science**, Elsevier, Amsterdam, v. 5, pp. 711-764, 2013.

CARRETERO, M.I., GOMES, C., TATEO, F., Clays and Human Health, in: Bergaya, F., Theng, B.KG., Lagaly, G. Editor(s), **Handbook of Clay Science**, Elsevier, pp. 717–741, 2006.

CASTILHOS, R. M. V., DICK, D. P., CASTILHOS, D. D., MORSELLI, T. B. A. G., COSTA, P. F. P. da, CASAGRANDE, W. B., ROSA, C. M. da, Distribuição e caracterização de substâncias húmicas em vermicompostos de origem animal e vegetal, **R. Bras. Ci. Solo**, v. 32, pp. 2669-2675, 2008.

CCME, 2002 - **Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic life**. Disponível em: <http://www.popstoolkit.com/Tools/SitePrioritization/Files/Guidelines/SedQ%20aquatic%20life.pdf> Acesso em 02/2018.

CHEN, Y., SENESI, N., SCHNITZER, M., Information provided on humic substances by e4/e6 ration, **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v.41, pp. 352-358, 1977.

CHURCHMAN, G. J., GATES, W.P., THENG, B.K.G., YUAN, G., Clays and clay minerals for pollution control, in: Bergaya, F., Theng, B.K.G., Lagaly, G. Editor(s), **Handbook of Clay Science**, Elsevier, Amsterdam, pp. 625-675, 2006.

COLOMBO, S. M. **Isolamento, purificação e caracterização de substâncias húmicas isoladas de vermicomposto. Propriedades ácido-base e de complexação com íons Cu (II)**. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2005.

CONTE, P., PICCOLO, A., VAN LAGEN, B., BUURMAN, P., JAGER, P. A. de., Quantitative aspects of solid-state ¹³C NMR spectra of humic substances from soils of volcanic systems, **Geoderma**, v. 80, pp. 327-338, 1997.

DEGTYARENKO, T. V., MOKULKIN, R. F., **Biogenic stimulators and immune reactivity**, Odessa, Moscow, pp. 56-70, 1997.

DOBBS, L. B., et al.; Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e fúlvicos isolados da camada superficial de latossolos brasileiros; **R. Bras. Ci. Solo**, v. 33, pp. 51-63, 2009.

EP 7.0. European Pharmacopoeia, Seventh Edition. Strasbourg, France, Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe, 2011.

ESPEJO-ANTÚNEZ, L., MARÍA A., CARDERO-DURÁN, M. A., ELISA, M., GARRIDO-ARDILA, E. M., TORRES-PILES, S., CARO-PUÉRTOLAS, B., Clinical effectiveness of mud pack therapy in knee osteoarthritis, **Rheumatology**, v. 52, pp. 659-668, 2013.

FEI, T., DEHONG, L., FENGQUN, Z., JUNHUA, L., HUA, T., XIANGZHONG, K., Determination of trace elements in Chinese medicinal plants by instrumental neutron activation analysis, **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 284, pp. 507-511, 2010.

FILHO, A. V., SILVA, M. I. V., **Importância das substâncias húmicas para a agricultura**. Disponível em: <http://audienciapublica.ana.gov.br>. Acesso em 26. jan. 2019.

GILMORE, G., HEMINGWAY, J. D., **Practical Gamma Spectrometry**, NY, John Wiley & Sons, 1995.

GOMES, C., CARRETERO, M. I., POZO, M., MARAVER, F., CANTISTA, P., ARMIJO, F., LEGIDO, J. L., TEIXEIRA, F., RAUTUREAU, M., DELGADO, R., Peloids and pelotherapy: Historical evolution, classification and glossary, **Applied Clay Science**, v. 75–76, pp. 28-38, 2013.

GOUVÊA, P. F. de M., **Avaliação clínica em pacientes portadores de Osteoartrite, tratados com a Lama Negra de Peruíbe, caracterização química, radiológica e estabelecimento de protocolos de boas práticas para a obtenção e uso deste pelóides**. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

GRIFFITH, S. M.; SCHNITZER, M.; Analytical characteristics of humic and fulvic acids extracted from tropical volcanic soils, **Soil Science American Proc.**, v. 39, pp. 861-867, 1975.

INTERNATIONAL HUMIC SUBSTANCES SOCIETY, disponível em <<http://www.ihss.gatech.edu>>. Acessado em 09 de dezembro de 2016.

KABATA-PENDIAS, A., PENDIAS, H., **Trace Elements in Soils and Plants**, 3.ed., Boca Raton: CRC, pp. 315, 1985.

KONONOVA, M. M., **Materia orgánica del suelo: su naturaleza, propiedades y métodos de investigación**, Barcelona: Oikos-Tau, pp. 364, 1982.

KONONOVA, M. M.; **Soil organic matter**, Pergamon Press: Oxford, 1966.

LÓPEZ-GALINDO, A., VISERAS, C., CEREZO, P., Compositional, technical and safety specifications of clays to be used as pharmaceutical and cosmetic products, **Applied Clay Science**, v. 36, pp. 51-63, 2007.

LÓPEZ-GALINDO, A.; VISERAS, C. Pharmaceutical and cosmetic applications of clays. **Interface Science and Technology**, v. 1, pp. 267-289, 2004.

MacDONALD, D. D., INGERSOLL, G., BERGER, T. A., Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems, **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 39, pp. 20–23, 2000.

MARTIN-NETO, L., TABAK, M., NASCIMENTO, O.R., Effect of hidratação in methHb: reversible change monitored by ESR of iron, **J. Inorg. Biochem.**, v. 40, pp. 301-321, 1990.

MARTINS E. C., **Caracterização e quantificação mineralógica da fração argila do horizonte Bi de cambissolo da região de Irati, Paraná, pelo método de Rietveld**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2010.

MARTINS, J. P. M., MÁDUAR, M. F., SILVA, P. S. C, Avaliação da composição elementar de argilas de campos gerais (MG), in: **International Nuclear Atlantic Conference**, Recife, PE, Brazil, November, 24-29, 2013.

MASCOLO, M., SUMMA, V., TATEO, F., In vivo experimental data on the mobility of hazardous chemical elements from clays, **Applied Clay Science**, v. 25, pp. 23-28, 2004.

MEYERS P. A., ISHIWATARI R., **Lacustrine organic geochemistry: an overview of indicators of organic matter**, 1993.

MEYERS, R. A., **Encyclopedia of Analytical Chemistry**, Chichester, U.K.: John Wiley & Sons Ltd, 2000.

MOREIRA, H. S., SAIKI, M., VASCONCELLOS, M. B. A., Análise por ativação com nêutrons de fitoterápicos obtidos de plantas medicinais, in: **International Nuclear Atlantic Conference**, Santos, SP, Brazil, September 30 to October 5, 2007.

MOREIRA, E.G., **Preparo e caracterização de um material de referência de mexilhão perna perna (Linnaeus, 1975)**. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2010.

NHPD, 2018. Natural and Non-prescription Health Products. Disponível em: < www.healthcanada.gc.ca/nhp > Acesso em dez. 2018.

NOVOTNY, E. H., **Estudos espectroscópicos e cromatográficos de substâncias húmicas de solos sob diferentes sistemas de preparo**. Tese (Doutorado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

PICCOLO, A., Characterization of soil humic extracts obtained by some organic and inorganic solvents and purified by HCl-HF treatment, **Soil Sci**, v. 146, pp. 418-426, 1988.

PICCOLO, A., CONTE, P., SPACCINI, R., CHIARELLA, M., Effects of some dicarboxylic acids on the association of dissolved humic substances, **Biology and Fertility of Soils**, v. 37, pp. 255-259, 2003.

PICCOLO, A., NARDI, S., CANCHERI, G., Macromolecular changes of soil humic substances induced by interactions with organic acids, **Soil Sci**, v. 47, pp. 319-328, 1996.

PICCOLO, A., STEVENSON, F.J., Infrared spectra of Cu^{2+} , Pb^{2+} and Ca^{2+} complexes of soil humic substances, **Geoderma**, v. 27, pp. 195-208, 1982.

PICCOLO, A., The supramolecular structure of humic substances, **Soil Sci**, v. 166, pp. 810-832, 2001.

PLUMLEE, G.S., MORMAN, S.A., ZIEGLER, T.L., The toxicological geochemistry of earth material: overview of processes and the interdisciplinary methods used to understand them, in: SAHAI, N., MAA, S. Editor(s), **Medical Mineralogy and Geochemistry**, Reviews in Mineralogy & Geochemistry, v. 64, pp. 5-57, 2006.

POHLMAN, A. A., McCOLL, J. G., Soluble organic from forest litter and their role in mineral dissolution, **Soil Sci, Soc. Am. J.**, v. 52, pp. 265-271, 1988.

PRADO, A. G. S., SOUZA, S. M., SILVA, W. T. L., REZENDE, M. O. O., **Desenvolvimento de um sistema de filtração e titulação para determinação da acidez de ácidos húmicos**. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 1999.

QUINTELA, A., TERROSO, D., FERREIRA DA SILVA, E., ROCHA, F., Certification and quality criteria of peloids used for therapeutic purposes, **Clay Minerals**, v. 47, pp. 441-451, 2012.

RAPOSO, J. C., VILLANUEVA, U., OLIVARES, M., MADARIAGA, J. M., Determination of humic substances in sediments by focused ultrasound extration and ultraviolet visible spectroscopy, **Elsevier**, Microchemical Journal, v. 128, pp. 26-33, 2016.

ROCHA, J. C., ROSA, A. H, **Substâncias húmicas aquáticas: interação com espécies metálicas**, São Paulo, Ed. UNESP, 1.ed., pp. 120, 2003.

SAAB, S. da C., MARTIN-NETO, L., Anéis aromáticos condensados e relação e4/e6: estudo de ácidos húmicos de gleissolos por rmn de ¹³c no estado sólido utilizando a técnica cp/mas desacoplamento defasado, **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, pp. 260-263, 2007.

SANTOS, G. A. **Contribution a l'étude des interactions matière organique et phosphore dans un sol ferrallitique**. Tese (Doutorado) - Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, 1984.

SCHNITZER, M., GUPTA, U. C., Determination of acidity in soil organic matter, **Soil Sci. Soc. Proc.**, v. 27, pp. 274-277, 1965.

SCHNITZER, M., KHAN, S. U., Soil organic matter, Amsterdam, **Elsevier**, pp. 319, 1978.

SCHULTEN, H. R., SCHNITZER, M., Chemical model structures for soil organic matter and soils, **Soil Sci.**, v. 162, pp. 115-130, 1993.

SCHULTEN, H. R., SCHNITZER, M., Chemical model structures for soil organic matter and soils, **Soil Sci.**, v. 162, pp. 115-130, 1997.

SILVA, I. R.; MENDONÇA, E. S., Matéria orgânica do solo, in: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J. C. L. Editor(s), **Fertilidade do solo Viçosa: SBBS**, pp. 7, 2007.

SILVA, P. S. C. da, **Caracterização química e radiológica dos sedimentos do estuário de Santos, São Vicente e Baía de Santos**. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas e Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2004.

SILVA, P. S. C. da, TORRECILHA, J. K., GOUVEA, P. F. de M., MÁDUAR, M. F., OLIVEIRA, S. M. B. de, SCAPIN, M. A., Chemical and radiological characterization of Peruibe Black Mud, **Applied Clay Science**, v. 118, pp. 221-230, 2015.

SILVA, P. S. C. da, MÁDUAR, M. F., SCAPIN, M. A., GARCIA, R. H. L., MARTINS, J. P. M., Radiological assessment of pharmaceutical clays, **J Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 307, pp. 2035-2046, 2016.

SIMPSON, A. J., Determining the molecular weight, aggregation, structures and interactions of natural organic matter using diffusion ordered spectroscopy, **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 40, pp. 572-582, 2002.

STEVENSON, J.F., **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**, 2.ed., New York, John Wiley, pp. 443, 1994.

SUÁREZ, M., GONZÁLEZ, P., DOMÍNGUEZ, R., BRAVO, A., MELIÁN, C., PÉREZ, M., HERRERA, I., BLANCO, D., HERNÁNDEZ, R., FAGUNDO, J. R., Identification of Organic Compounds in San Diego de los Baños Peloid (Pinar del Río, Cuba), **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 17, n. 2, pp. 155-165, 2011.

TATEO, F., RAVAGLIOLI, A., ANDREOLI, C., BONINA, F., COIRO, V., DEGETTO, S., GIARETTA, A., MENCON, O. A., PUGLIA, C., SUMMA, V., The in-vitro percutaneous migration of chemical elements from a thermal mud for healing use, **Applied Clay Science**, v. 44, pp. 83-94, 2009.

TAVARES, G. A., BENDASSOLI, J. A., SOUZA, G., NOLASCO, F. R., BONASSI, J. A., BATAGELLO, H. H., Recuperação de bromo em soluções aquosas residuais, **Química Nova**, v. 27, n. 2, pp. 320-322, 2004.

TORRECILHA, J. K. **Extração sequencial aplicada à Lama Negra de Peruíbe**, Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2014.

TUREKIAN, K. K., WEDEPOHL, K. H., Distribution of the Elements in some major units of the Earth's crust, **Geological Society of America**, Bulletin, v. 72, pp. 175-192, 1961.

USP 36–NF31, 2013. United States Pharmacopoeia 36 and National Formulary 31.

VENIALE, F., BARBERIS, E., CARCANGIU, G., MORANDI, N., SETTI, M., TAMANINI, M., TESSIER, D., Formulation of muds for pelotherapy: effects of “maturation” by different mineral waters, **Applied Clay Science**, v. 25, pp. 135-148, 2004.

VRECA, P., DOLENEC, T., Geochemical estimation of copper contamination in the healing mud from Makirina Bay, Central Adriatic. **Environment International**, v. 31, pp. 53-61, 2005.

WAHEED, S., FAIZ, Y., RAHMAN, S., SIDDIQUE, N., Toxic element composition of multani mitti clay for nutritional safety, **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 295, pp. 143-150, 2012.

WILSON, G. P., LAMB, A. L., LENG, M. J., GONZALEZ, S., HUDDART, D., $\delta^{13}\text{C}$ and C/N as potential coastal palaeoenvironmental indicators in the Mersey Estuary, UK, **Quat. Sci. Rev.**, v. 24, pp. 2015–2029, 2005.

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3133-8908
SÃO PAULO – São Paulo – Brasil
<http://www.ipen.br>

O IPEN é uma Autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento, associada à Universidade de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações.