

CARACTERIZAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE METAIS EM SUBSTÂNCIAS HÚMICA AQUÁTICAS DO RIO NEGRO-AM

Camilla Avelino DEMÉTRIO¹; Ézio SARGENTINI Jr.².

¹Bolsista PIBIC/CNPq/INPA; ²Orientador CPPN/ INPA;

1. Introdução

Grandes partes das substâncias orgânicas contidas no solo e em águas naturais encontram-se como Substâncias Húmicas (SH). Essas substâncias são uma mistura complexa de moléculas com alto peso molecular, semelhantes entre si e formadas pela decomposição biológica e enzimática de vegetais no solo. São transportadas às águas naturais por processos de lixiviação, e/ou podem também ser formadas diretamente no meio aquático por decomposição de plantas e organismos aquáticos. As SH apresentam grupos funcionais comuns, por exemplo, fenólicos e carboxílicos os quais conferem-lhes excepcional reatividade. No ambiente, as SH são de especial relevância devido à variedade de trocas que são capazes de fazer com traços orgânicos e inorgânicos (Toscano, 1999). A formação do húmus em águas está diretamente relacionada com a origem da molécula húmica, ou melhor, com o ambiente aquático. Várias hipóteses sobre a formação de Substâncias Húmicas Aquáticas (SHA) incluem:

- entrada de matéria orgânica de plantas diretamente para a água e/ou através do solo, com subsequente modificação química e bioquímica;
- lixiviação de ácidos fúlvicos e húmicos originários do solo;
- ação bacteriana sobre algas e fitoplânctons;
- incidência de irradiação ultravioleta sobre a matéria orgânica, presente na superfície de sistemas aquáticos, podendo catalisar as reações de polimerização;
- reações de polimerização entre grupos funcionais fenólicos, amino e aldeídicos presentes em produtos biológicos, abundantes em lagos eutróficos e águas sedimentarias.

Portanto, o tipo da água (rios, lagos ou mar), e a estação do ano são fatores determinantes na formação e processos de humificação (Thurman, 1985).

O interesse por SHA deve-se ao papel desempenhado por elas nos ecossistemas aquáticos naturais em razão da multiplicidade de sítios ligantes contendo oxigênio, como por exemplo, carboxilas, carbonilas, hidroxilas fenólicas e alcoólicas (Thurman, 1985). De acordo com Hart (1981), em sistemas aquáticos íons metálicos podem estar presentes em diferentes formas físico-químicas. A especiação é influenciada por diversos fatores como pH, potencial redox, tipos e concentrações de ligantes orgânicos (p. ex. substâncias húmicas) e inorgânicos (p. ex. hidróxidos e bicarbonatos), material particulado e coloidal. Já é sabido que a biodisponibilidade de metais é influenciada principalmente pela forma em que se encontram na natureza e não só pela concentração total como acreditava-se no passado (Morrison *et al.*, 1989). As substâncias húmicas são classificadas de acordo com a solubilidade em meio aquoso: as huminas são insolúveis, os ácidos fúlvicos solúveis em qualquer faixa de pH e os ácidos húmicos solúveis em pH maior que 2. Dentre as três substâncias, o ácido húmico está presente em maior quantidade no meio ambiente. Esta macromolécula orgânica apresenta estrutura complexa constituída por carbono, hidrogênio, oxigênio e pequenas quantidades de nitrogênio e ocasionalmente fósforo e enxofre. Os conteúdos individuais dos diferentes elementos e as relações entre eles dependem da fonte de matéria orgânica, do grau de humificação, da cadeia carbônica, do tipo de tratamento recebido e das condições ambientais (Zara, 1987).

A poluição ambiental é causada principalmente por despejos de restos industriais, esgotos domésticos, aplicação indevida de pesticidas/herbicidas às lavouras e remanescentes de poluentes do ar (Rocha *et al.*, 1996). Dentre estes poluentes, os metais pesados representam um grupo especial pois não são degradados química ou biologicamente de forma natural (Alloway, 1993). Devido ao alto teor de oxigênio encontrado na estrutura das SH, elas têm excepcional capacidade para complexar metais (Zhang *et al.*, 1996). Segundo Rocha e Rosa (2003), apenas nos últimos trinta anos o interesse pelo estudo das SHA aumentou, principalmente em razão da conscientização sobre a importância da qualidade da água para consumo humano. Neste contexto o entendimento das propriedades das SHA associada ao transporte, labilidade e complexação de espécies metálicas no sistema aquático é relevante do ponto de vista ambiental.

2. Material e métodos

O ponto de amostragem escolhido situa-se à margem esquerda do Rio Negro-AM, a cerca de 20 km a oeste da cidade de Manaus-AM. O nível mais baixo da água é verificado entre novembro e dezembro (época da vazante) e o mais alto entre junho e julho (época da cheia). As amostras de águas do Rio Negro (140 L), foram coletadas a 50 cm da superfície nos períodos da vazante (outubro), cheia (fevereiro) e uma terceira coleta em abril. Devido a concentração de SH em águas naturais raramente exceder 5 mg L^{-1} como carbono orgânico dissolvido (COD), é necessário um volume muito grande de amostra para obter quantidades da ordem de gramas de SHA (Thurman e Malcolm, 1981). No momento da coleta mediu-se a temperatura, condutividade e pH. Para a extração de SHA foi utilizada a resina macroporosa XAD-8, segundo o procedimento de extração recomendado pela International Humic Substances Society (IHSS) (Sargentini Jr, 1999). As amostras de água foram acidificadas para a protonação dos ácidos. Em seguida foram filtradas a vácuo utilizando papel de filtro para remoção de sólidos e partículas suspensas. Percolaram-se, as amostras por gravidade através de colunas de vidro (2 cm de diâmetro interno e 25 cm de altura de resina) empacotadas com resina XAD-8, mantendo um fluxo de $3,8 \text{ mL.min}^{-1}$. Após saturação, verificada pelo escurecimento da resina, a SHA foi eluída totalizando 800 mL de extrato húmico (140 L de água do Rio Negro-AM) depois ajustado do pH o extrato húmico final foi purificado por procedimento de diálise para remover o excesso de sais dissolvidos. A purificação foi feita com membrana de diálise contra água deionizada. Determinaram-se as razões das absorvâncias lidas em um Espectrofotômetro UV/Vis, nos comprimentos de onda 250 e 365 nm (E_2/E_3). O valor de aromaticidade é feito pela equação: $\text{Aromaticidade} = 52,509 - 6,780 \cdot E_2/E_3$ (Peuravuori e Pihlaja, 1997). A caracterização dos metais foi realizada utilizando a técnica a espectrometria de fluorescência de raios X, é um dos métodos analíticos mais usados na identificação qualitativa dos elementos com o número atômico maior que o oxigênio; além disso, é freqüentemente empregada em análise elementar semiquantitativa ou quantitativa. Uma vantagem particular da espectrometria de fluorescência de raio X é que, em contraste com a maioria das técnicas de análise elementar, é uma técnica não-destrutiva uma da amostra (Skoog, 2002).

3. Resultados e discussão

O processo de extração por resina XAD-8, é adequado ao processamento de grandes volumes de amostra, de fácil manuseio e baixo custo operacional. A extração utilizando 140 L de amostra de água superficial coletada nos meses outubro/2008, fevereiro e abril/2009 originou aproximadamente 800 mL de extrato húmico cada coleta. No momento da coleta mediu-se a temperatura, condutividade e pH.

Tabela 1 - Informações gerais das amostras de água coletada no Rio Negro-AM durante os meses de outubro-2008 à abril-2009.

Parâmetros Determinados	Outubro 2008	Fevereiro 2009	Abril 2009
pH	5,7	4,5	5,3
Condutividade ($\mu \text{ S cm}^{-1}$)	8,18	9,09	9,02
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	32,0	29,0	30,8
Cor (mg.pt.L^{-1})	131,64	147,36	144,36
Turbidez (FTU)	5,20	3,90	2,60
SHA do Rio Negro em 140 L (mg)	548	473	249,8

Os valores de temperatura das águas variaram de 29,0 a 32,0 $^{\circ}\text{C}$ nos diferentes períodos. Os valores de pH das águas oscilaram de 4,5 a 5,7 que são de características de águas ácidas. Provavelmente a mudança de pH está relacionada a alterações provocadas pelas chuvas. Com o início dos períodos de chuva sobre uma bacia hidrográfica interfere nas características dos rios, mas também pelo carregamento e lixiviação das partículas depositadas sobre a cobertura vegetal da superfície do solo (SHA). A condutividade elétrica mede a quantidade total de matéria orgânica ionizada em solução aquosa. Segundo Campos, (1998) a quantidade e a composição dos sólidos dissolvidos na água controlam, de certa maneira a variedade e abundância de organismos aquáticos. Este parâmetro é utilizado para determinar a influência dos sólidos dissolvidos em ambientes aquáticos. Os valores apresentam baixos valores de eletrólitos nas águas do Rio Negro-AM e durante o período não houve alteração significativa nos resultados apresentados na Tabela 1.

O fracionamento das SHA em AH e AF, feito com base na solubilidade destes compostos em diferentes intervalos de pH, o que permitiu a separação dos ácidos húmicos (insolúveis em meio ácido) e fúlvicos (solúveis em todo intervalo de pH). Apesar de ser um método muito utilizado, o uso de solução HCl, apresenta alguns inconvenientes como o aumento excessivo de acidez e a formação de grande quantidade de cloreto de sódio devido a adição de solução de NaOH para o ajuste de pH. A presença desses sais interfere nos estudos de fracionamento, caracterização e distribuição de metais. Removeu-se o cloreto de sódio, proveniente das etapas de acidificação da amostra com solução de HCl e extração com solução de NaOH, pelo processo de diálise do material contra água deionizada. Após a separação dos ácidos as amostras foram levadas à estufa para secagem a 40°C. As aromaticidades das SHA, AH e AF referente às coletas nos diferentes períodos estão na Tabela 2.

Tabela 2 - Distribuição das unidades de aromaticidade nas frações de substâncias húmicas aquáticas (SHA), ácidos húmicos (AH) e ácidos fúlvicos (AF), extraídas de amostra de água do Rio Negro-AM.

FRAÇÕES	SHA	AH	AF
	Unidade de aromaticidade*	Unidade de aromaticidade*	Unidade de aromaticidade*
Ano de 1997**	30,67	32,26	28,09
Outubro de 2008	10,5	10,1	9,6
Fevereiro de 2009	50,9	48,3	50,1
Abril de 2009	51,7	50,95	51,9

* Calculada de acordo com a equação (I) - Unidade de aromaticidade = $52,509 - 6,780 \times E_2/E_3$

** Coleta de 10 amostras durante o período de fevereiro a setembro de 1997, homogenizadas e determinadas.

Comparando com a aromaticidade da SHA, AH e AF do mês de outubro de 2008, fevereiro e abril de 2009, com os resultados obtido do extrato húmico do período de fevereiro a setembro de 1997, apresentaram valores dentro da média obtida. Os valores de aromaticidade calculada dos meses de fevereiro e a abril de 2009 apresentaram aromaticidade mais alta. Isto provavelmente está relacionado com o início das chuvas, que contribuem com as SHA mais novas, proveniente dos materiais degradados da floresta que possuem maior aromaticidade do que no período de secas. A análise de espectrometria por fluorescência de raios X foi realizada utilizando as amostras sólidas, os resultados obtidos apresentam presença de alguns metais tais Ca, Fe e K. Na literatura a interação das SHA podem aumentar a disponibilidade de fosfatos minerais insolúveis através da complexação de Fe e Ca (Stevenson, 1992). O cálcio é o principal cátion encontrado na fauna e flora das águas naturais. O cálcio solúvel encontrado nas águas naturais da região Amazônica deve ser proveniente da lavagem, pela chuva, da copa, caules, folhas e até certo ponto da dissolução de produtos metabólicos de macro e microorganismo. Nas águas da região Amazônica a deficiência de cálcio se dá pela origem do solo (Henderson e Walker, 1986). Sioli, (1949) observou que a quantidade de ferro na água depende do terreno e do meio ambiente.

4. Conclusão

Considerando os resultados obtidos com a metodologia usada foi possível trabalhar com grandes volumes de amostra e foi possível concentrar e fracionar simultaneamente. Dependendo do período de coleta as águas e as suas SHA possuem características diferenciadas, podendo ser classificadas distintamente de acordo com a sazonalidade dos períodos de chuva e seca.

Palavras-chave: Rio Negro-AM; substâncias húmicas aquáticas; caracterização.

5. Referências

Alloway, B.J. 1993. Heavy metal in soils. John Wiley & Sons, New York, 1-6pp.

Stevenson, F.J. 1982. Humus chemistry. New York. Wiley e Sons, p. 26-53.

Hart, B. 1981. Trace metal complexing capacity of natural waters: A review. Environmental Technology Letters, (2) 95-110.

Morrison, G.M.P.; Batley, G.E.; Florence, T.M. 1989. Metal speciation and toxicity. *Chemistry in Britain* August, 791-6.

Peuravuori, J. Pihlaja, K.(1997). Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Analytical Chimica. Acta.* v.337, p.133-149.

Rocha, J. C.; Rosa, A. H. 2003. Substâncias húmicas aquáticas: interação com espécies metálicas.

São Paulo: Editora UNESP, 138 pp. *Science Technology*, (15) 463-601.

Sargentini Jr, É. 1999. Substâncias Húmicas Aquáticas do Rio Negro-Am: extração, caracterização, fracionamentos e distribuição de metais. Araraquara, São Paulo, Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Instituto de Química de Araraquara, 45pp.

Skoog, D.A. 2002. Princípios de análise instrumental. Porto Alegre: Bookman, 250pp.

Toscano, I. A. S., 1999. Influência das substâncias húmicas aquáticas na determinação de atrazina por imunensaio (elisa). Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP Instituto de Química de Araraquara, São Paulo. 3pp.

Thurman, E.M. 1985. Humic substances in groundwater. In: Aiken, G.R.; McKnight, M.D.; Wershaw, R.L.; MacCarthy, P. eds. *Humic substances in soil, sediment and water. Geochemistry, isolation and characterization.* John Wiley e Sons, New York, p. 87-104.

Zara, F. L., 1997. Estudos das interações entre Mn, Ni, Cu, Cd e Pb com ácido húmico aquático utilizando resina fosfato de celulose (FOSCEL). Araraquara, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Dissertação (Mestrado).32pp.

Zhang, Y.J; Bryan, N.D.; Livens, F.R.; Jones, M.N. 1996. Complexing of metal ions by humic substances. 194-206.