

Thuany Mayara Ferreira

**ESTUDO DE EQUILÍBRIO QUÍMICO ENTRE O ÁCIDO  
HÚMICO E OS ÍONS METÁLICOS BIVALENTES  
 $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  E  $Ni^{2+}$**

Dissertação submetida ao Programa de  
Pós-Graduação em Química da  
Universidade Federal de Santa Catarina  
para a obtenção do Grau de Mestra em  
Química  
Orientador: Prof. Dr. Bruno Szpoganicz

Florianópolis  
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Ferreira, Thuany Mayara

Estudo de equilíbrio químico entre o ácido húmico e os íons metálicos bivalentes Mn(II), Co(II) e Ni(II) / Thuany Mayara Ferreira ; orientador, Bruno Szpoganicz, 2018.

96 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Química. 2. Constante de equilíbrio. 3. Ácido húmico. 4. Metais bivalentes. I. Szpoganicz, Bruno. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Thuany Mayara Ferreira

**ESTUDO DE EQUÍLIBRIO QUÍMICO ENTRE O ÁCIDO  
HÚMICO E OS ÍONS METÁLICOS BIVALENTES  
 $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  e  $Ni^{2+}$**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de  
Mestra e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação  
em Química

Florianópolis, 22 de Fevereiro de 2018.

---

Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado  
Coordenador do Programa

**Banca Examinadora:**

---

Prof. Dr. Bruno Szpoganicz  
Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

---

Prof. Dr. Antonio Salvio Mangrich  
Universidade Federal do Paraná (UFPR)

---

Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira  
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

---

Dr. Thiago Guimarães Costa  
Fundação Catarinense de Cultura (FCC)



## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Ferreira e Matilde, por sempre terem me apoiado em minhas decisões e por tudo.

Aos meus irmãos, Anthony e Maryana, pelas risadas, amizade e carinho incondicional.

Aos meus amigos, pelas horas de descontração, cervejas, cafés, .... Em especial: Brunno Lange Albuquerque, Bruno Alves Matos, Callu Bamberg, Dandara dos Santos, Deonildo Faggion, Eloah Latocheski, Everton Zimmermann, Fernanda Rodrigues, Ghislaine Takashima, João Paulo Winiarski, Juana Stollmaier, Márcio Monteiro, Marília Reginato, Marina Briese, Mayara Gomes, Natália Hoepers, Rafael Pacheco, Renato Guardiola, Vitória Canedo. Aos companheiros de todas as horas, meus amados animais Punk/Tota (sempre em meu coração), Queen, Mau e Mia.

Ao professor Dr. Bruno Szpoganicz, por todo o aprendizado e pelas contribuições para meu crescimento acadêmico e pessoal durante todos esses anos.

Ao professor Dr. Pedro Migowski, pelo incentivo, motivação, pela paciência, trocas de ideias e risadas.

À todo o pessoal do LabEqs, pela convivência e amizade.

À todos que de indiretamente contribuíram na minha busca por mais conhecimento e para à construção deste trabalho.

Aos membros da banca, pelo aceite e contribuições.

À UFSC. Ao órgão de fomento CNPq, pelo apoio financeiro.

Muito obrigada!



“Oh! Meu Deus! Um minuto inteiro de felicidade! Afinal, não basta isso para encher a vida inteira de um homem?”(Fiódor Dostoiévski, 1848)



## RESUMO

As substâncias húmicas (SH) estão presentes nos solos e na água, e, ambientalmente, desempenham um papel muito importante, pois fazem complexação de metais e aumentam sua biodisponibilidade no meio, sendo um mediador de nutrientes. Sua composição consiste em grupos funcionais oxigenados que interagem com íons metálicos. A fim de determinar quais grupos interagem com os íons metálicos (Ni(II), Co(II) e Mn(II)) e as constantes de equilíbrio para as espécies formadas em função do pH, realizou-se titulações potenciométricas e através de cálculos computacionais (BEST7) determinou-se o pKa de cada espécie. Essas constantes permitiram calcular a distribuição da interação de íons metálicos com o AH em função do pH. Os complexos foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e por espectroscopia de fluorescência. Percebeu-se que o Ni(II) é o metal que mais interage com os grupos presentes no ácido húmico (AH). A ordem geral de interação é: Ni(II) > Co(II) > Mn(II). As principais espécies formadas para o Ni(II) são: [Ni(Fta)] em pH ácido (61% de formação) e [Ni(HCat)]<sup>+</sup> em pH alcalino (59%). Para o Co(II) são: [Co(Fta)] em pH ácido (54%) e [Co(Cat)] em pH básico (67%) e para o Mn(II): [Mn(Fen)]<sup>+</sup> (50%) em pH alcalino. A importância do estudo das interações entre o AH e esses íons metálicos está relacionada com o fato dos mesmos serem micronutrientes para as plantas.

**Palavras-chave:** Ácido húmico. Níquel (II). Cobalto (II). Manganês (II), constante de equilíbrio



## ABSTRACT

Humic substances (HS) are present in soils and water, and, environmentally, they play a very important role, since they complex with metal and increase their bioavailability in the environment, acting as a mediator of micronutrients. Its composition consists of oxygenated functional groups that interact with metal ions. In order, to determine which groups interact with the metal ions (Ni(II), Co(II) and Mn(II)) and the equilibrium constants for the species formed as a function of pH, potentiometric titrations and calculations (BEST7) were realized and the pK<sub>a</sub> of each species were determined. These constants allowed to calculate the distribution of the interaction of metal ions with the humic acid (HA) as a function of pH. The complexes were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy and fluorescence spectroscopy. It has been noticed that Ni(II) is the metal that most interact with the groups present in HA. The general order of interaction is: Ni(II) > Co(II) > Mn(II). The main species formed for Ni(II) are: [Ni(Fta)] at acidic pH (61% formation) and [Ni(HCat)] at alkaline pH (59%). For Co(II) are: [Co(Fta)] at acidic pH (54%) and [Co(Cat)] at basic pH (67%) and for Mn(II): [Mn(Fen)]<sup>+</sup> (50%) at alkaline pH. The importance of the interactions' study between HA and these metal ions is related to the fact that they are micronutrients for plants.

**Keywords:** Humic acid, Nickel (II), Cobalt (II), Manganese (II), Equilibrium constant.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Quatro vias de formação propostas para as SH. ....	27
Figura 2. Estrutura proposta por Schulten e Schnitzer para os AH30	
Figura 3. Modelo tridimensional de ácido húmico proposto por Schulten e Schnitzer (1995), evidenciando os átomos de carbono (em azul), hidrogênio (em branco), oxigênio (em vermelho) e nitrogênio (em preto); as letras A,B e C indicam os espaços vazios presentes na estrutura. ....	31
Figura 4. Estrutura proposta para o AF. ....	31
Figura 5. Grupos: fenol (1), ácido carboxílico (2), catecol (3), ácido ftálico (4) e ácido salicílico (5). ....	32
Figura 6. Complexação entre os grupos da SH onde M é o metal	35
Figura 7. Diagrama de Jablonki modificado. Onde: (A) é a absorção do fóton, (CI) Cruzamento Interno, (CIS) Cruzamento inter-sistemas, (F) Fluorescência, (P) Fosforescência, (RV) Relaxação Vibracional, (S <sub>0</sub> ) Estado fundamental de Singleto, (S <sub>n</sub> ) Estado excitado de Singleto, (T <sub>n</sub> ) Estado excitado de Tripleto. ....	41
Figura 8. Esquema da célula utilizada nas medidas potenciométricas. ....	49
Figura 9. Gráfico de Stern-Volmer para o sistema AH-Mn(II) em pH 10. ....	56
Figura 10. Espectro de FTIR obtido para o AH. ....	57
Figura 11. Espectro de FTIR obtido para de HA de tratamento em pousio sem cultivo de milho, comparando os sistemas de preparo do solo: convencional (CT), plantio direto (NT) e sem cultivo (NC). ....	58
Figura 12. Espectro FTIR dos ácidos húmicos HA <sub>tot</sub> (representa todas as frações de ácidos húmicos não separadas), HA <sub>&gt;300</sub> , HA <sub>100-300</sub> , HA <sub>50-100</sub> , HA <sub>20-50</sub> , HA <sub>20-10</sub> e HA <sub>5-10</sub> . ....	59
Figura 13. Perfil de titulação potenciométrica do AH na ausência e presença dos íons metálicos. ....	61
Figura 14. Gráfico da distribuição das espécies em função da quantidade total de manganês. ....	62
Figura 15. Espectro de emissão de fluorescência ( $\lambda_{ECX}=366$ nm) para AH (0,0398 g L <sup>-1</sup> ) com diferentes concentrações de Mn(II) em pH 4,0. ....	63
Figura 16. Espectro de emissão de fluorescência ( $\lambda_{ECX}=366$ nm) para AH (0,0398 g L <sup>-1</sup> ) com diferentes concentrações de Mn(II) em pH 10,0. ....	64
Figura 17. Espectro de FTIR (onde: • representa o AH e os sistemas Mn(II) + AH em • pH 9,0 • pH 7,0 e • pH 5,0). ....	65

Figura 18. Ampliação, da região de menores números de onda, do espectro de infravermelho do sistema AH + Mn(II) (onde: • representa o AH e os sistemas Mn(II) + AH em • pH 9,0 • pH 7,0 e • pH 5,0).....	66
Figura 19. Gráfico da distribuição das espécies em função da quantidade total de cobalto. ....	68
Figura 20. Espectro de FTIR (onde: • representa o AH e os sistemas Co(II) + AH em • pH 9,0 • pH 7,0 e • pH 5,0).....	69
Figura 21. Ampliação, da região de menores números de onda, do espectro de infravermelho do sistema AH + Co(II) (onde: • representa o AH e os sistemas Co(II) + AH em • pH 9,0 • pH 7,0 e • pH 5,0). ....	70
Figura 22. Espectro de emissão de fluorescência ( $\lambda_{\text{EX}}=366$ nm) para AH ( $0,0398 \text{ g L}^{-1}$ ) com diferentes concentrações de Co(II) em pH 5,5. ....	71
Figura 23. Gráfico de Stern-Volmer para o sistema AH-Co(II) em pH 5,5.....	71
Figura 24. Gráfico de distribuição das espécies em função da quantidade total de níquel. As constantes de hidrólise do níquel são: - 18,25 e 29,55 para as espécies Ni(OH) <sub>2</sub> e Ni(OH) <sub>3</sub> , respectivamente. <sup>94</sup>	73
Figura 25. Espectro de FTIR (onde: • representa o AH e os sistemas Ni(II) + AH em • pH 9,0 • pH 7,0 e • pH 5,0).....	74
Figura 26. Espectro na região do infravermelho, do sistema AH + Ni(II), com ênfase na parte de menores números de onda (onde: • representa o AH e os sistemas Ni(II) + AH em • pH 9,0 • pH 7,0 e • pH 5,0).....	75
Figura 27. Espectro de emissão de fluorescência ( $\lambda_{\text{EX}}= 366$ nm) para AH ( $0,0398 \text{ g L}^{-1}$ ) com diferentes concentrações de Ni(II) em pH 6,0.....	76
Figura 28. Gráfico de Stern-Volmer para o sistema AH-Ni(II) em pH 6,0.....	77
Figura 29. Distribuição da espécie fenol mostrando a competição entre os metais Mn(II), Co(II) e Ni(II).....	78
Figura 30. Distribuição da espécie catecol mostrando a competição entre os metais Mn(II), Co(II) e Ni(II).....	78
Figura 31. Distribuição da espécie ftálico mostrando a competição entre os metais Mn(II), Co(II) e Ni(II).....	79
Figura 32. Distribuição das interações do grupo salicílico mostrando a competição entre os metais Mn(II), Co(II) e Ni(II).....	79
Figura 33. Distribuição da espécie carboxílico mostrando a competição entre os metais Mn(II), Co(II) e Ni(II). ....	80

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Composição elementar média (%) das SH extraídas de solos. ....	29
Quadro 2. Reagentes e marcas.....	47



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades das SH e seus efeitos no solo. ....	26
Tabela 2. Classificação e definições.....	28
Tabela 3. Parâmetros das titulações potenciométricas.....	50
Tabela 4. Dados de entrada fornecidos ao programa BEST7. ....	53
Tabela 5. Valores dos $pK_{as}$ e da quantidade de mmols dos grupos por grama de AH.....	55
Tabela 6. Atribuições das bandas do espectro de FTIR.....	57
Tabela 7. Valores de log de Q para as interações detectadas no sistema Mn(II) - AH para os grupos: Fenol (Fen), Catecol (Cat), Ftálico (Fta) e Salicílico (Sal). ....	62
Tabela 8. Deslocamentos das bandas dos espectros de FTIR para o AH e o AH + Mn(II) para diferentes pHs. ....	65
Tabela 9. Valores de log Q para as interações detectadas no sistema AH-Co(II).....	67
Tabela 10. Deslocamentos das bandas dos espectros de FTIR para o AH e o AH + Co(II) para diferentes pHs. ....	69
Tabela 11. Valores de log Q para as interações detectadas no sistema Ni(II) - HA. ....	72
Tabela 12. Deslocamentos das bandas dos espectros de FTIR para o AH e o AH + Ni(II) para diferentes pHs. ....	74
Tabela 13. Constantes de formação retiradas da literatura para os grupos fenol, carboxílico, catecol, ftálico e salicílico com os íons metálicos Mn(II), Co(II) e Ni(II) e as obtidas neste trabalho. (25°C e força iônica 0,1).....	81



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF- Ácido Fúlvico

AFAP- Ácido Fúlvico Aquático Padrão

AH- Ácido Húmico

AHAP- Ácido Húmico Aquático Padrão

Carb- Carboxílico

Cat- Catecol

CP/MAS NMR- *Cross Polarization, magic-angle spinning, Nuclear Magnetic Resonance*, (Espectroscopia de ressonância magnética nuclear com rotação em torno do ângulo mágico e polarização cruzada)

EECL- Energia de Estabilização do Campo Ligante

Fen- Fenol

Fta- Ftálico

FTIR- *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier)

NICA-Donnan - *Non-Ideal Competitive Aqueous Model*

MO- Matéria Orgânica

Sal- Salicílico

SH- Substância Húmica

S-T- Stern-Volmer

WHAM - *Windermere Humic Acid Model*

XANES- *X-ray Absorption Near Edge Structure* (Espectroscopia de raios X próximo a borda)



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>23</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>25</b>
2.1	SUBTÂNCIAS HÚMICAS .....	25
2.1.1	Origem e formação.....	26
2.1.2	Classificação e estrutura.....	28
2.1.3	Interação com Metais.....	32
2.1.4	Constantes de equilíbrio .....	35
2.2	INTERAÇÃO SOLO- PLANTA E MICRONUTRIENTES	36
2.2.1	Manganês .....	37
2.2.2	Cobalto .....	37
2.2.3	Níquel .....	38
2.3	MODELOS GEOQUÍMICOS .....	38
2.4	FLUORESCÊNCIA MOLECULAR .....	40
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>45</b>
3.1	OBJETIVO GERAL .....	45
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	45
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>47</b>
4.1	REAGENTES .....	47
4.2	SOLUÇÕES .....	47
4.3	PREPARO DA AMOSTRA DE AH .....	47
4.4	EQUIPAMENTOS.....	48
4.4.1	Titulador potenciométrico.....	48
4.4.2	Espectrofotômetro de Infravermelho .....	49
4.4.3	Espectrofotômetro de fluorescência .....	49
4.5	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	50
4.5.1	Titulação potenciométrica .....	50
4.5.2	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .....	51
4.5.3	Espectroscopia de Fluorescência.....	51

4.5.3.1	Manganês.....	51
4.5.3.2	Cobalto.....	51
4.5.3.3	Níquel .....	52
4.6	PROGRAMAS COMPUTACIONAIS .....	52
<b>4.6.1</b>	<b>BEST 7 .....</b>	<b>52</b>
<b>4.6.2</b>	<b>Software Species.....</b>	<b>53</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>55</b>
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO AH.....	55
5.2	SISTEMA AH + METAIS .....	60
<b>5.2.1</b>	<b>Sistema Mn(II) - AH.....</b>	<b>61</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Sistema Co(II)-AH.....</b>	<b>67</b>
<b>5.2.3</b>	<b>Sistema Ni(II)- AH.....</b>	<b>72</b>
<b>5.2.4</b>	<b>Sistema AH+ Mn(II) + Co(II) +Ni(II) .....</b>	<b>77</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>83</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>85</b>
	<b>ANEXO A – INTERFACE DO SOTWARE BEST 7 (1).</b>	<b>95</b>
	<b>ANEXO B – INTERFACE DO SOTWARE BEST 7 (2).</b>	<b>96</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Entender o porquê, quais as condições necessárias, como e onde as espécies se formam é uma das questões mais antigas da ecologia.<sup>1</sup> O estudo das substâncias húmicas (SH) é um tema que atrai um grande interesse devido à presença dessas substâncias na água, nos solos e nos sedimentos.<sup>2</sup>

As SH desempenham um papel importante na conservação do solo, absorvendo água, evitando o escoamento e conseqüentemente a erosão (cimentando as partículas em agregados) e aumentam a permeabilidade do meio.<sup>3,4</sup> Elas também desempenham um papel importante no desenvolvimento de raízes e germinação de sementes. E são substâncias que possuem grande potencial de retenção de calor<sup>5</sup>

Uma propriedade relevante da SH é a sua capacidade de interagir com íons metálicos gerando complexos de diferentes estabilidades e características estruturais.<sup>4,6</sup> A presença de grupos funcionais como carboxílico, ftálico, catecol, fenólico e salicílico permite que eles atuem como potenciais ligantes para íons metálicos.<sup>2,7</sup> A principal dificuldade associada ao estudo dessas interações decorre do fato de que o ácido húmico (AH) é uma mistura de moléculas distintas com diferentes locais de coordenação.<sup>2,8-10</sup> Essas interações são de suma importância, especialmente para problemas relacionados à poluição ambiental, e para melhorar a utilização do solo.

A relevância do estudo da interação do AH com os íons metálicos bivalentes: manganês, cobalto e níquel está relacionada com o fato dos íons metálicos serem micronutrientes para as plantas. Eles são essenciais em processos redox, ativação de enzimas, melhora na qualidade de nutrientes nas plantas, aumento da resistência à seca das sementes, constituição de metaloproteínas, envolvimento na tolerância ao estresse, envolvimento no crescimento reprodutivo (indução ao florescimento, polinização, estabelecimento do fruto), entre outros.<sup>11,12</sup>

A deficiência destes íons metálicos nas plantas afeta a fotossíntese, na evolução de O<sub>2</sub>, diminui o nível de carboidratos solúveis na planta, causa a quebra irreversível da estrutura do cloroplasto, clorose internerval, necrose das folhas, o enfraquecimento da madeira (deixando-as quebradiças), e faz com que as folhas fiquem pequenas e em forma de conchas, dentre outros.<sup>11,12</sup>

Uma maneira de fixar esses micronutrientes no solo é através da utilização de quelatos sintéticos. Entretanto, o impacto ambiental destas aplicações pode ser elevado uma vez que agentes quelantes sintéticos, normalmente, são bastante estáveis podendo poluir os solos, rios e lençóis

freáticos.<sup>13-15</sup> Como as SH estão presentes nas turfeiras, a turfa vem como uma alternativa a estes agentes quelantes. Ela já está sendo utilizada como fertilizantes orgânico, sendo enriquecida com micronutrientes minerais e são comercializadas com a denominação de organomineral.<sup>16</sup> Essa alternativa é plausível uma vez que a mesma pode atuar na complexação desses micronutrientes no solo, aumentando a biodisponibilidade sem ter grande impacto ambiental.

O Brasil possui uma reserva de  $1,1 \times 10^9 \text{ m}^3$  turfa, de acordo com a Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais, o estudo da aplicação desta como quelante natural, se torna algo bastante atrativo ambientalmente.<sup>17</sup>

Neste estudo, as interações existentes entre o AH na ausência e na presença dos íons metálicos foi caracterizada por titulação potenciométrica, uma vez que esta permitiu o cálculo da quantidade de cada grupo funcional e também pode ser usada para medir a interação de cada grupo<sup>18</sup>. Pela técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para uma melhor compreensão sobre o comportamento molecular desses íons com o AH e pela técnica de espectroscopia de fluorescência que, através de gráficos de Stern-Volmer, proporcionou a visualização da inibição da fluorescência pela adição dos metais, tornando possível a comprovação dos cálculos teóricos.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

O estudo das propriedades físico químicas das substâncias húmicas é algo que vem sendo estudado há alguns séculos, pois apresentam características que despertam interesse nos pesquisadores.

As substâncias húmicas fazem parte de uma fração das turfas. São encontradas em solos e em ambientes aquáticos. Estima-se que 422 milhões de hectares de área do planeta Terra seja coberto por turfeiras, destas somente 4% encontram-se imersas.<sup>19</sup> Assim, sendo de suma importância em processos biogeoquímicos.<sup>20</sup>

### 2.1 SUBTÂNCIAS HÚMICAS

As substâncias húmicas são de grande importância para o meio ambiente, uma vez que as mesmas representam a principal forma de matéria orgânica (MO) distribuída pelo planeta terra. Ácidos húmicos e ácidos fúlvicos (AF) representam, em média, 75% da formação dos solos.<sup>21</sup> As SH são encontradas em solos, águas naturais, turfas, pântanos, sedimentos aquáticos e marinhos.

Elas influenciam na biodisponibilidade de metais no solo, assim podendo torná-los disponíveis para plantas e organismos ou também complexar com metais tóxicos, como  $Al^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$  e  $Cr^{6+}$ , diminuindo a toxicidade destes para o meio ambiente.<sup>22-25</sup> Outras importâncias destacáveis são:

- Interação com compostos orgânicos antropogênicos (pesticidas e herbicidas), assim desempenhando importante função na dispersão, mobilidade e transporte desses produtos nos ambientes aquáticos e terrestres<sup>26,27</sup>;
- Agem no mecanismo de sorção de gases presentes na atmosfera<sup>28</sup>;
- Influenciam na redução de espécies metálicas para a atmosfera, dependendo das condições do meio.<sup>29</sup>

Há estudos que mostram que as propriedades físico-químicas dos solos são controladas pelas SH<sup>30</sup>. Essas propriedades causam efeitos benéficos e são listadas na **Tabela 1**.

Tabela 1. Propriedades das SH e seus efeitos no solo.

Propriedades	Observações	Efeitos no solo
Cor	A coloração escura de muitos solos é causada pelas SH	Retenção de calor, auxiliando na germinação de sementes
Retenção de água	Podem reter água até 20 vezes sua massa	Evitam corrosão e mantém a umidade do solo
Combinação com argilominerais	Cimentam partículas do solo formando agregados	Permitem a troca de gases e aumentam a permeabilidade do solo
Quelação	Formam complexos estáveis com $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Mn}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ e outros metais polivalentes	Melhoram a biodisponibilidade de nutrientes para as plantas maiores
Insolubilidade em água	Devido a sua associação com argilas e sais de cátions di e trivalentes	Pouca MO é lixiviada
Ação tampão	Tem função tamponantes em amplos intervalos de pH	Ajudam a manter as condições reacionais do solo
Troca de cátions	A acidez total das frações isoladas do húmus varia de 300 a 1400 $\text{cmols kg}^{-1}$	Aumentam a CTC do solo. 20-70% da CTC de solos é devido a MO
Mineralização	A decomposição da MO fornece $\text{CO}_2$ , $\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{PO}_4^{3-}$ e $\text{SO}_4^{2-}$	Fornecimento de nutrientes para o crescimento de plantas

Fonte: Adaptado de STEVENSON (1994)<sup>2</sup>

Estas propriedades físico-químicas podem ser compreendidas quando entendemos a estrutura química e como as SH são formadas.

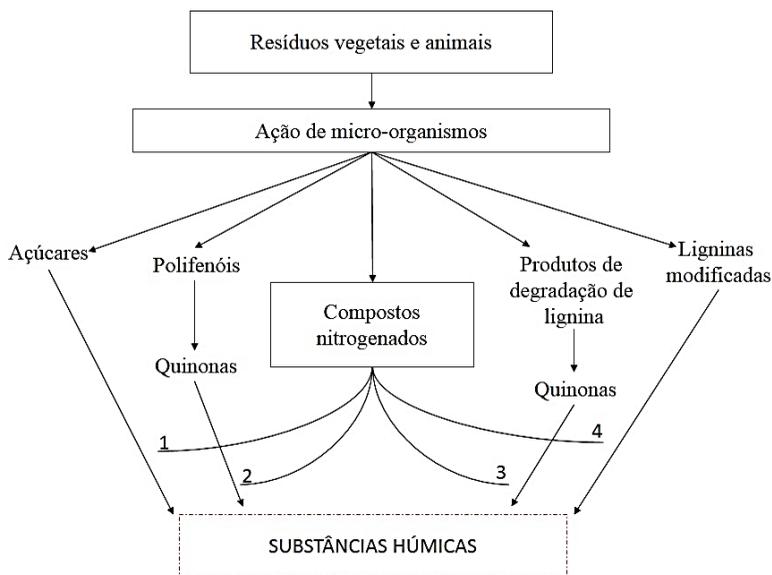
### 2.1.1 Origem e formação

A SH é proveniente da decomposição de restos de animais e de vegetais e de reações complexas de rearranjos.<sup>31,32</sup> A decomposição dos constituintes orgânicos vegetais segue uma ordem de dificuldade de decomposição (açúcares < hemicelulose < celulose < lignina < graxas < fenóis).<sup>33</sup> Por existir dificuldade de decomposição (principalmente das

ligninas) é necessário uma série de enzimas específicas para a formação do *húmus*, que por sua vez são encontradas em poucas espécies de microrganismos, como em fungos basideomicetos e nas bactérias lignolíticas.<sup>34,35</sup>

Em razão da complexidade bioquímica de formação existem diferentes propostas para o acontecimento. Quatro destas são esquematizadas na **Figura 1**. Estes processos podem ocorrer simultaneamente, mas não com a mesma extensão e importância.<sup>2,31</sup>

Figura 1. Quatro vias de formação propostas para as SH.



FONTE: Adaptado de STEVENSON (1994).<sup>2</sup>

A ação de microrganismos nos processos é devida às enzimas urease, catalase, fosfatase e desidrogenase.<sup>36</sup>

A proposta 1 descreve a formação da SH através da polimerização não enzimática por condensação entre aminoácidos e açúcares formados como subprodutos da atividade microbiana. Esta teoria é aceita em razão da rápida assimilação biológica dos açúcares e ocorre principalmente em meios com baixa atividade biológica.<sup>2,35</sup>

Os mecanismos 2 e 3 propõem a participação de quinonas durante a formação da SH. O mecanismo 2, mostra a formação a partir de polifenóis, este é de considerável importância em solos sob florestas. Este

mecanismo baseado na condensação polimérica de polifenóis e quinonas é o mais aceito pelos pesquisadores e pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS).<sup>2</sup>

No mecanismo 4, temos que a SH é um derivado de ligninas modificadas. Esta processa-se predominantemente em solos mal drenados e em áreas hidromórficas.<sup>2</sup>

A complexibilidade do estudo de formação do *húmus* dá-se uma vez que há grandes diferenças estruturais das substâncias húmicas de diferentes origens (solos, rios e mar).<sup>37</sup> Esta falta de identidade estrutural é o que leva os pesquisadores a propor uma estrutura plausível para as frações que a integram e classificá-las.

### 2.1.2 Classificação e estrutura

Desde o século XVIII cientistas vem obtendo dados sobre o *húmus*. Através destas observações, sobretudo características físico-químicas, pode-se notar as diferentes frações húmicas que o constituem.<sup>38</sup>

As substâncias são divididas, primeiramente, em substâncias húmicas e não húmicas. Onde as SH são estruturas químicas complexas e as não húmicas são de natureza definida como, por exemplo, aminoácidos, carboidratos, proteínas e ácidos orgânicos.<sup>2,31,32</sup>

Nas SH são encontrados o ácido húmico, a humina, o ácido fúlvico e o ácido himatomelânico. As definições de cada um são mostrados na **Tabela 2** a seguir.

Tabela 2. Classificação e definições

<b>Termos</b>	<b>Definição</b>
Ácidos fúlvicos	Material colorido remanescente após a separação dos ácidos húmicos por precipitação em meio ácido
Ácidos húmicos	Material orgânico de coloração escura. Pode ser extraído do solo por vários reagentes e é insolúvel em meio ácido (pH<2)
Ácido himatomelânico	Fração dos ácidos húmicos solúvel em álcool
Humina	Parte do material orgânico presente no solo de coloração escura, insolúvel em meio ácido.

Fonte: Adaptado de STEVENSON (1994).<sup>2</sup>

Em relação às estruturas, à medida que novos procedimentos analíticos vêm se desenvolvendo é possível obter mais dados para

suportar as hipóteses sugeridas. Até o momento têm-se algumas características bem definidas, podendo citar que:

- As frações de AH e AF são misturas de moléculas polidifusas e contêm massa molar elevada com intervalos que variam de centenas a milhões de daltons;
- AH e AF possuem alto teor de grupos funcionais oxigenados (carbonilas, carboxilas e hidroxilas fenólicas), e
- Possuem uma composição molar média de acordo com o **Quadro 1**.

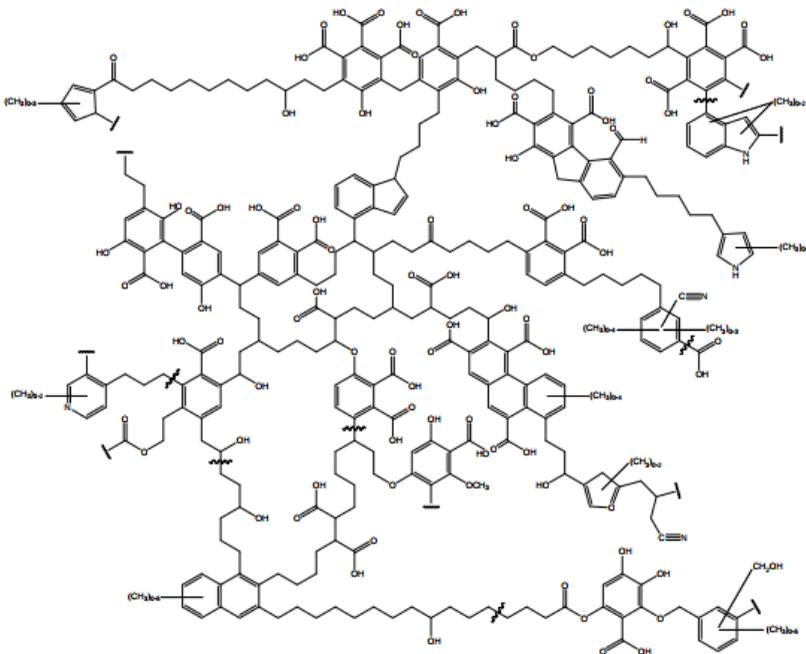
Quadro 1. Composição elementar média (%) das SH extraídas de solos.

Substâncias húmicas	Composição elementar média (%)				
	C	H	O	N	S
<b>AH</b>	53,8-58,7	3,2-6,2	32,8-8,3	0,8-4,3	0,1-1,5
<b>AF</b>	40,7-50,6	3,8-7,0	39,7-49,8	0,9-3,3	0,1-3,6

Fonte: Adaptado de CALDERONI e SCHNITZER (1984).<sup>39</sup>

Através da composição molar observa-se que a razão C/H para o AH é maior do que para o AF, propondo uma maior aromaticidade e que o mesmo apresenta uma estrutura mais condensada. O modelo estrutural proposto por Schulten e Schnitzer para o AH é mostrado na **Figura 2**, este modelo foi proposto a partir de estudos espectrométricos, pirólise, degradação oxidativa e microscopia eletrônica.<sup>40</sup>

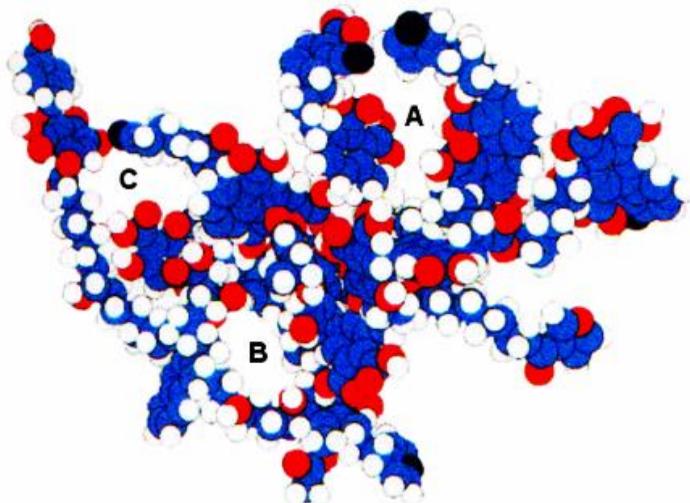
Figura 2. Modelo estrutural proposto por Schulten e Schnitzer para os AH.



Fonte: SCHULTEN e SCHNITZER (1993).<sup>41</sup>

Posteriormente a este modelo, Schulten e Schnitzer apresentaram uma estrutura tridimensional onde, através de cálculos matemáticos, puderam constatar que o modelo apresentava uma série de espaços vazios de diferentes tamanhos (**Figura 3**). Esses espaços vazios poderiam acomodar compostos orgânicos (hidrofóbicos ou hidrofílicos), tais como carboidratos, lipídios, pesticidas e outros poluentes. Poderiam, também, estar presentes compostos inorgânicos como argilas e oxi-hidróxidos.

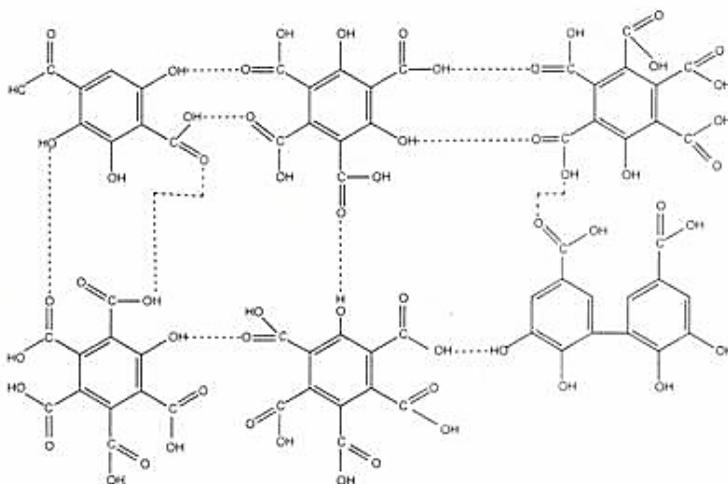
Figura 3. Modelo tridimensional de ácido húmico proposto por Schulten e Schnitzer (1995), evidenciando os átomos de carbono (em azul), hidrogênio (em branco), oxigênio (em vermelho) e nitrogênio (em preto); as letras A,B e C indicam os espaços vazios presentes na estrutura.



Fonte: SCHULTEN e SCHNITZER (1995)

O modelo de estrutura para os AF é mostrado na **Figura 4**.

Figura 4. Estrutura proposta para o AF.



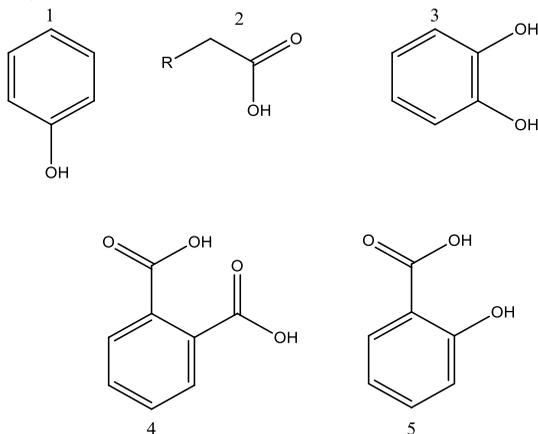
Fonte: da SILVA (1996).<sup>43</sup>

Nos anos 2000, Piccolo propôs um novo conceito sobre as características estruturais da SH. Baseou-se em cromatografia e eletroforese capilar.<sup>44</sup> Este propõe que as SH são formadas por moléculas relativamente pequenas (*building blocks*) mantidas por interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio.<sup>45</sup>

Segundo este modelo, o AF seria formado por micelas que contêm bastantes grupos ácidos em sua estrutura. Esses grupos ácidos dissociam-se criando cargas negativas formando micelas estáveis, dispersar, por consequência dessa repulsão eletrostática. Já o AH teria menos grupos ácidos do que o AF, assim podendo aglomerar-se e formar moléculas com maior massa molecular.<sup>46</sup>

Entre os grupos funcionais observados nas estruturas destacam-se os grupos fenólicos, ácidos carboxílicos, catecóis, ácidos ftálicos e salicílicos. A estrutura destes é mostrada na **Figura 5**.

Figura 5. Grupos: fenol (1), ácido carboxílico (2), catecol (3), ácido ftálico (4) e ácido salicílico (5).



Fonte: Elaborado pela autora (2018)

Estes grupos orgânicos encontrados nas estruturas das SH são os responsáveis por interagirem com íons metálicos de diferentes durezas.

### 2.1.3 Interação com Metais

Há vários estudos na literatura das interações das SH com diferentes metais.<sup>24,25,47,48</sup> Esses estudos são importantes uma vez que os metais presentes nos solos e em ambientes aquáticos interagem com as

formas de vida existentes nesses meios. Esses metais podem ser benéficos ou não para esses seres. Como por exemplo, Jia Zhang et al(2017)<sup>25</sup> mostra interações entre o Cr(VI) com ácido húmico não dissolvido. Eles utilizaram a técnica de espectroscopia de correlação bidimensional (2DCOS) para FTIR e espectroscopia de ressonância magnética nuclear de <sup>13</sup>C com rotação em torno do ângulo mágico e polarização cruzada (<sup>13</sup>C CP / MAS NMR). Nesse estudo, as variações dos grupos funcionais presentes no AH e as estruturas moleculares após reações com Cr(VI) aquoso em diferentes condições de pH foram investigadas. O ácido húmico não dissolvido é conhecido por afetar substancialmente a migração e transformação de cromo hexavalente em solos. Com base em seus dados, conseguiu-se determinar um mecanismo onde primeiramente ocorre uma adsorção eletroestática do Cr(VI) na superfície do AH. Posteriormente, a complexação do íon metálico com grupos orgânicos presentes no AH, seguido pela redução do complexo Cr(VI) a Cr(III) ocasionada por fenol e polissacarídeos e finalmente a complexação do Cr(III) com grupos carboxílicos.

Ping Zhou et al (2005)<sup>47</sup> usaram o modelo de complexação superficial para simular a complexação competitiva dos metais Ni(II), Ca(II) e Al(III) com a SH. Consideraram a existência de dois grupos orgânicos (fenólicos e carboxílicos) na faixa de pH alcalino e ácido. Utilizaram titulações potenciométricas para caracterizar as constantes de acidez intrínseca dos dois locais de ligação e suas concentrações. Também foi utilizado o modelo de camada difusa para fitar os dados experimentais e sob diferentes condições experimentais. Notaram que os íons Ni(II) e Ca(II) competem fortemente uns com os outros nas reações com o AH enquanto o íon Al mostrou pouca influência na complexação do Ni(II) ou Ca(II), justificando isso à hidrólise do Al(III), que precipita em pH 5.

Outro estudo foi de H. Lippold e colaboradores (20007)<sup>48</sup> que estudaram a competição de Fe(III) e Eu(III) (como um análogo de actínídeos trivalentes) nas SH. Fizeram estudos de complexação com diferentes substâncias húmicas e examinaram experimentos de troca de cátions, usando <sup>59</sup>Fe e <sup>152</sup>Eu como rastreadores radioativos para medições em sistemas diluídos encontrados na natureza. Os efeitos competitivos mostraram-se significativos quando Fe(III) está presente em concentrações micromolares. As frações de Fe(III) ligadas aos AH foram superiores a 90%. Verificaram que o efeito competitivo aumentava quando o Fe(III) e o AH entravam em contato antes da adição do Eu. Notaram, também, que dependendo do tempo de pré-equilíbrio de Fe/AH, a complexação de Eu(III) diminuía assintoticamente durante um período

de tempo de várias semanas, sendo que a quantidade de Fe ligada permaneceu inalterada. Isso ocorreu devido a uma diminuição na hidrólise do Fe, pois os polícatões de Fe são degradados lentamente em contato com colóides húmicos, e mais locais de ligação são ocupados como consequência da dispersão.

Como a SH é composta por diferentes grupos orgânicos, ela apresenta diversos tipos de interações. Cada sítio interage distintamente com os íons metálicos. Esses sítios podem conter elementos como O, N e S. Estudos potenciométricos e uma variedade de técnicas espectroscópicas (ESR, EXAFS, FTIR, NMR, XANES, entre outros) fornecem algumas informações sobre a natureza da ligação.<sup>38,49</sup> Bernaus et al (2005) através da técnica de espectroscopia de raios X próximo a borda (XANES) mostra formas metiladas do Hg ligadas covalentemente ao AH (através de grupos tióis, possivelmente) de forma biologicamente indisponível.<sup>50</sup> Porém, a importância dos ligantes contendo N e S é discutida.<sup>31</sup>

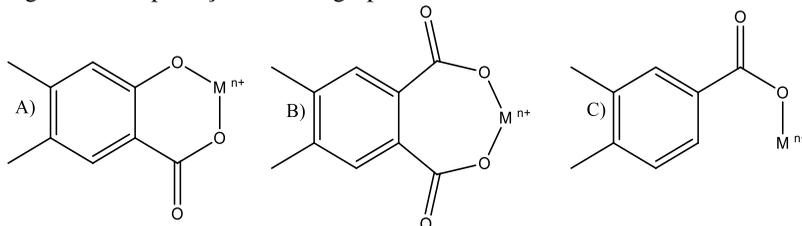
Como as SH apresentam ligantes de natureza mais dura, considerando somente os grupos COOH e OH, elas coordenaram mais fortemente com ácidos de Person duros.

Além da dureza, outros fatores importantes a serem considerados para as interações são os entálpicos e entrópicos. Quanto ao fator entálpico espera-se que as constantes de formação entre os grupos orgânicos da SH e os íons metálicos sejam maiores do que a coordenação do mesmo grupo presente em ligante simples. Quando tem-se somente o ligante puro com o metal, este estará solvatado por várias moléculas de água e quando o mesmo grupo se encontra na SH observa-se uma menor solvatação, assim a energia de solvatação é menor para SH do que para o ligante sozinho. Precisando de menos energia para que o íon metálico se aproxime do sítio de coordenação. Já o efeito entrópico atua quando a matriz apresenta ligantes bidentados. Tendo como exemplo uma molécula de fenol e outra de catecol (um ligante mono e outro bidentado, respectivamente), tem-se que quando o fenol se liga ao íon metálico troca-se um ligante que estava ligado ao íon pelo fenol. Quando tem-se o catecol, este substitui dois ligantes (que encontram-se no complexo) pelo catecol, aumentando a entropia do sistema, consequentemente, diminuindo a energia livre de Gibbs e com maiores constantes de formação.<sup>51, 52</sup>

Algumas representações da forma com que o íon metálico se encontra coordenado com os grupos funcionais é apresentado na **Figura 6**. Observa-se em **A**, a ligação entre grupos carboxílicos e hidroxílicos de uma molécula de ácido salicílico, em **B**, tem-se a quelação

entre dois grupos carboxila, de ácido ftálico, e, por fim, em C, tem-se a complexação do metal com o grupo carboxila.<sup>53</sup>

Figura 6. Complexação entre os grupos da SH onde M é o metal



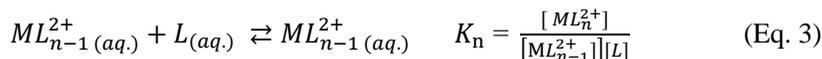
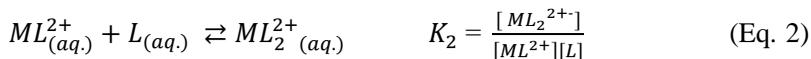
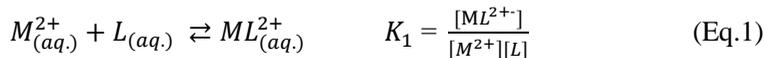
Fonte: SILVA e MEDONÇA (2007).<sup>53</sup>

A estabilidade do complexo depende também de outros fatores. Dentre eles, pode-se citar: concentração dos ligantes, se há ou não outros metais em solução, pH, força iônica e temperatura.<sup>49,54</sup>

#### 2.1.4 Constantes de equilíbrio

As constantes de estabilidade metal-ligante são de grande importância para todos os cientistas. Esta contém a informação da afinidade que o metal terá pelo ligante. Essa constante dá-se por um quociente envolvendo as concentrações ou atividades dos reagentes e produtos que existem na reação em equilíbrio<sup>55</sup>.

No sistema estudado, as combinações dos íons metálicos bivalentes com uma série de ligantes monodentados são expressas pelas **Equações 1-4** a seguir:



Como  $\beta_1 = K_1$  e  $\beta_2 = K_1.K_2$  e  $\beta_n = K_1.K_2....K_n$ , pode-se substituir pela equação global:

$$\beta_n = \frac{[ML_n^{2+}]}{[M^{2+}][L]^n} \quad (\text{Eq. 4})$$

As caracterizações dos estudos de equilíbrio em sistemas sólido-solução, como no caso de solos, são importantes para prever a concentração, ou atividade, das espécies em solução. A relevância, de fato, encontra-se na abordagem de biodisponibilidade de metais que servem de nutrientes, ou que são tóxicos, para as plantas.

## 2.2 INTERAÇÃO SOLO- PLANTA E MICRONUTRIENTES

Plantas são formadas por muitas células, e estas, por sua vez, são responsáveis por formar substâncias orgânicas e por liberar e transformar energia. Para o bom funcionamento delas são necessários uma fonte de energia, água e nutrientes (macro e micro).<sup>11</sup>

Os micronutrientes, de forma geral, são os nutrientes necessários, em uma pequena concentração para o funcionamento do metabolismo vegetal. Eles são responsáveis por fazer a ativação e constituição de enzimas (biocatalisadores), transferência de elétrons na fotossíntese, envolvimento no crescimento reprodutivo, constituição de paredes celulares e membranas, entre outras funções. Entre alguns micronutrientes pode-se citar: Mn, Fe, Zn, Cu, B, Mo, V, Co, Cl, Ni, entre outros.<sup>11, 56</sup>

A biodisponibilidade desses micronutrientes depende das características do solo (textura, mineralogia, teor de matéria orgânica, umidade, pH, condições de oxi-redução). A quantidade desses micronutrientes presentes no solo varia com o grau de intemperização dos solos e com a quantidade de MO.<sup>12</sup> A importância da MO na formação da ligação com o íon metálico já foi evidenciada algumas vezes.<sup>50</sup> Demonstrou-se que redução da matéria orgânica diminui a capacidade de adsorção do metal.<sup>57-59</sup>

A interação que ocorre entre o solo e as plantas acontece através das raízes. Estas crescem formando um aglomerado de minúsculos filamentos distribuídos em várias direções. Para absorver o máximo de nutrientes do solo, elas produzem algumas substâncias que ajudam a solubilizá-los, modificando-os quimicamente.<sup>60</sup> Essas modificações são processos de mobilização induzidos pela raiz da planta (mudanças de pH e de potencial redox, quelação por vários compostos orgânicos). Eles ocorrem na rizosfera e são de suma importância pois aumentam a concentração de micronutrientes.<sup>56</sup>

A quantidade que cada planta consegue absorver depende de propriedades genéticas das mesmas. O processo de absorção ocorre em duas etapas, na primeira ocorre uma simples troca superficial (cátions passam somente da parede radicular para o espaço vazio aparente) e na segunda etapa entram na raiz por via fisiológica.<sup>11</sup>

Sabe-se ainda que íons metálicos hidratados livres ( $[M.x(H_2O)]^{2+}$ ) são, muitas vezes, considerados como a forma de íons metálicos imediatamente biodisponíveis, mas há boas evidências de que complexos em solução também contribuem para a biodisponibilidade aparente.<sup>50</sup>

Devido às práticas agrícolas intensivas (que implicam em uma maior exploração do solo), fatores naturais e antropogênicos, nota-se a deficiência de macro e micronutrientes. Estes eventos controlam o crescimento e desenvolvimento das plantas e podem ocasionar uma diminuição na qualidade e produtividade de culturas devido a diminuição da biodisponibilidade dos micronutrientes.<sup>36</sup>

### 2.2.1 Manganês

O manganês é o 12º elemento mais abundante da crosta terrestre, possui cerca de 1060 ppm, em peso.<sup>61</sup> A forma de manganês que as plantas absorvem é no estado de oxidação 2+. Neste estado de oxidação o manganês forma ligações fracas com compostos orgânicos.<sup>62</sup>

Ele desempenha papéis importantes nas plantas, sendo destacável nos processos redox (cadeia de transporte de elétrons na fotossíntese e desintoxicação de radicais livres de oxigênio). É, também, responsável pela ativação de enzimas, sendo essencial para a atividade de enzimas fosfotransferases, pela quebra de moléculas da água e do sistema de evolução de  $O_2$  na fotossíntese, entre outras funções. A deficiência, em pequena escala, afeta a fotossíntese, enquanto uma maior deficiência faz com que a estrutura do cloroplasto se quebre de forma irreversível. Afeta, também, todas as reações associadas ao transporte de elétrons (redução de  $CO_2$ ,  $NO_2^-$  e  $SO_3^{2-}$  e interfere na fotofosforilação), entre outras disfunções.<sup>56,62</sup>

### 2.2.2 Cobalto

O cobalto não é tão abundante como os outros elementos estudados neste trabalho. Ele se encontra na 29ª posição de abundância relativa na crosta terrestre, sendo sua proporção de 23 ppm.<sup>61</sup> Suas formas encontradas na solução coloidal do solo são:  $Co(H_2O)^{2+}$ ,  $Co(OH)^+$ ,

$\text{Co}(\text{L}^{\text{n-}})^{2-\text{n}}$ , dependendo do pH do meio. Cobalto com o estado de oxidação  $2+$  é o que as plantas absorvem.<sup>62</sup>

Sua função fisiológica em plantas ainda não é muito bem definida, porém sabe-se que sua presença melhora a qualidade nutricional de culturas, retarda a senescência foliar (através da inibição da biossíntese de etileno), aumenta a resistência à seca nas sementes. Por ser o centro ativo da cobalamina (vitamina  $\text{B}_{12}$ ), e essas serem de enzimas e microorganismos que fixam nitrogênio, como o Rizóbio (que vivem nos nódulos de leguminosas), algumas das funções citadas anteriormente são atribuídas a este fato.<sup>63</sup>

### 2.2.3 Níquel

A abundância de níquel na crosta terrestre é cerca de 99 ppm, sendo o 22º elemento mais abundante.<sup>61</sup> Seus estados de oxidação mais comuns são 0 e  $2+$ , porém, sob certas condições, podem ser encontradas as espécies  $1+$  e  $3+$ . A maior parte dos complexos são formados por  $\text{Ni}^{2+}$ , pois ele perde facilmente dois elétrons.<sup>64</sup> Nos solos, aproximadamente 5% da MO encontra-se complexada a este íon metálico, tendo uma afinidade relativamente alta com a mesma.<sup>21</sup> Devido a esta alta afinidade as concentrações de níquel na solução do solo são relativamente baixas.<sup>65</sup>

O níquel é um elemento essencial para as plantas. Sua deficiência é muito rara enquanto o excesso de níquel é mais comumente encontrado. A deficiência desse micronutriente pode causar necrose nas folhas devida a falta de urease assim levando ao acúmulo de ureia.<sup>56</sup>

Neste estudo, as interações existentes entre os íons metálicos bivalentes Mn, Co e Ni e o AH foram caracterizadas por potenciometria e suas constantes de formação foram calculadas através do software BEST7, assim obtendo-se a distribuição das espécies, porém existem outras formas de obtenção para a especiação. Tratam-se de modelos geoquímicos.

## 2.3 MODELOS GEOQUÍMICOS

Existem vários destes modelos que descrevem a ligação entre a MO, óxidos de Fe/Mn/Al, argilas de aluminossilicatos e o íon metálico funcionando de forma a prever a especiação de equilíbrio e o fracionamento de um solo como o todo. Esses modelos baseiam-se em propostas que são termodinamicamente consistentes, consideram a massa de

todas as espécies envolvidas e conservam e balanceiam as cargas das mesmas.<sup>31,66-71.</sup>

Os dois modelos mais usuais para de caracterização de equilíbrio sólido-solução de metais são o *Windermere Humic Acid Model* (WHAM) e o *Non-Ideal Competitive Aqueous Model* (NICA-Donnan). Ambos os modelos começaram com descrições do AH e AF em solução e posteriormente considerando também a complexação superficial (que tratam de reações de troca em argilas e adsorções específicas em óxidos de Fe/Al/Mn).<sup>66,67</sup> Dessa forma permite-se uma especiação completa das interações metal-sólido/solução. Porém a descrição das ligações M-AH continuam sendo as mais importantes nos modelos.

Os dois modelos possuem características parecidas, dentre elas:

- AH e AF possuem dois tipos de grupos (COOH e OH);
- Há heterogeneidade dentro de cada tipo de grupo;
- Os metais podem se unir ao AH e AF através de múltiplas ligações, e
- AH e AF são consideradas moléculas carregadas, divididas entre fases sólidas e em solução, contendo contra-íons adsorvidos.

O modelo WHAN é proveniente de descrições convencionais de equilíbrios entre metais e ligantes aniônicos em solução<sup>31,68,69</sup> enquanto o modelo NICA-Donnan é proveniente de descrições matemáticas de adsorção baseadas nas isotermas de Langmuir-Freundlich.<sup>70,71</sup> Ambas foram e veem sendo adaptadas com o tempo. Entretanto esses modelos em comparação com abordagens empíricas (equações de regressão) às vezes acabam fornecendo apenas vantagens marginais. Ainda faltam bastantes parâmetros a serem considerados nos modelos, pois há muitas propriedades que variam de um solo para o outro.

Temos como exemplos de trabalhos que envolvem essas duas modelagens o de Doig e Liber (2007)<sup>72</sup> e o de WORMS e WILKINSON (2008)<sup>73</sup>, ambos avaliam a especiação de níquel em águas doces.

Doig e Liber (2007), através da técnica de troca iônica, avaliaram a especiação de níquel na presença de diferentes frações de AH e AF de diferentes fontes e em concentrações de Ni toxicologicamente relevantes em água doce. O íon Ni(II) livre foi medido em água reconstituída. A quantidade de Ni obtido desta experiência foi comparada aos resultados calculados pela modelagem computacional WHAM-VI. Verificou-se que, sob concentrações de exposição a Ni altamente tóxicas ( $[Ni_{Total}] = 5 \text{ mg L}^{-1}$ ), concentrações representativas de AH em águas

superficiais ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) desempenharam pouco papel na especiação do íon Ni(II). Por outro lado, nas concentrações subletais de exposição ao Ni ( $[\text{Ni}_{\text{Total}}] = 0.2 \text{ e } 0.5 \text{ mg L}^{-1}$ ) AH afetou significativamente a especiação do Ni(II), com a  $[\text{Ni}^{2+}]$  diminuindo com o aumento da concentração de AH.

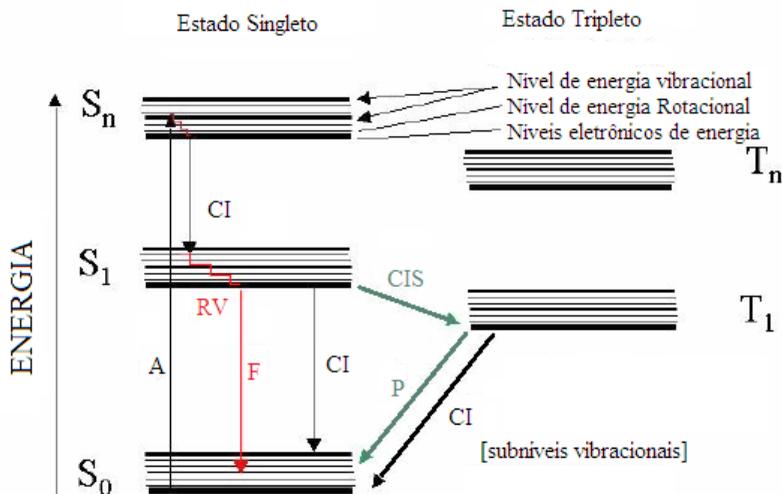
Worms e Wilkinson (2008), também utilizaram a técnica de troca iônica para medir  $[\text{Ni}^{2+}]$  nas águas doces. As medições de  $[\text{Ni}^{2+}]$  feitas na presença de complexos anfifílicos formados com substâncias húmicas (ácido húmico aquático padrão (AHAP) e ácido fúlvico aquático padrão (AFAP)) foram bem correlacionadas às concentrações de íons livres que foram calculadas usando um modelo NICA-Donnan. Como esperado, observou-se uma diminuição no metal livre com o aumento da quantidade de SH. Na presença de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de SH, em pH 6, 65% do Ni(II) foi complexado pelo AHAP e 40% foram complexados pelo AFAP. Entretanto, esses programas não se baseiam em constantes termodinâmicas de equilíbrio, mas em parâmetros analíticos das espécies metálicas presentes nas águas.

Neste trabalho, além de serem calculadas as constantes de equilíbrio através do programa BEST7, foram utilizadas as técnicas de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), para uma melhor compreensão sobre o comportamento de complexação desse íon com o AH. Também se utilizou a técnica de espectroscopia de fluorescência com a finalidade de confirmar resultados obtidos por titulação potenciométrica.

## 2.4 FLUORESCÊNCIA MOLECULAR

A fluorescência molecular é um dos tipos de fenômenos de emissão de radiação eletromagnética que ocorre quando a esta interage com as moléculas. É um processo de relaxação radioativo onde a molécula, excitada anteriormente para estados eletrônicos mais energéticos, retorna ao estado eletrônico fundamental e emite energia em forma de fótons. Este processo ocorre entre níveis eletrônicos de mesma multiplicidade de spin. Quando o decaimento energético passa por uma transferência inter-sistema muda a multiplicidade de spin e o fenômeno radioativo que acontece é a fosforescência. No entanto há uma competição entre os processos radioativos e os não-radioativos, como exemplificado na **Figura 7**. Os principais são a conversão interna e a conversão inter-sistemas. <sup>74-76</sup>

Figura 7. Diagrama de Jablonki modificado. Onde: (A) é a absorção do fóton, (CI) Cruzamento Interno, (CIS) Cruzamento inter-sistemas, (F) Fluorescência, (P) Fosforescência, (RV) Relaxação Vibracional, ( $S_0$ ) Estado fundamental de Singlete, ( $S_n$ ) Estado excitado de Singlete, ( $T_n$ ) Estado excitado de Triplete.



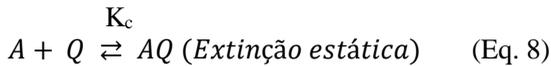
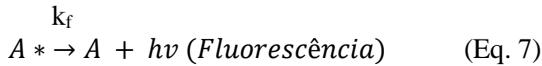
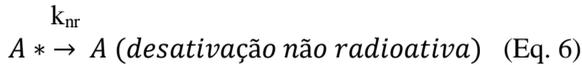
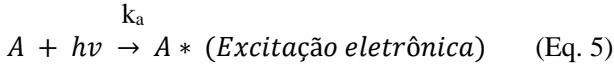
Fonte: Adaptado de LUIZ (2009).<sup>76</sup>

Para que o fenômeno da fluorescência ocorra a molécula precisa encontrar-se em uma estrutura adequada e em um meio que favoreça o decaimento radioativo ( $S_1 \rightarrow S_0$ ). Não é fácil prever se esse fenômeno ocorrerá com a molécula, porém algumas similaridades entre as mesmas são notáveis, como por exemplo quando temos moléculas ricas em elétrons  $\pi$  conjugados e com liberdade vibracional (como moléculas aromáticas), estas são potencialmente fluorescentes, pois a fluorescência é proveniente das transições  $\pi^* \rightarrow \pi$  e em menor escala  $\pi^* \rightarrow n$ . Quando tem-se moléculas, como as aromáticas, há um aumento da interação e da conjugação entre os elétrons  $\pi$ . Os grupos substituintes nesses anéis causam diferentes efeitos na fluorescência, grupos doadores de elétrons, de forma geral, aumentam a intensidade da fluorescência (-OH, -OR, -NH<sub>2</sub>, -NHR, -NR<sub>2</sub>) e grupos retirados de elétrons, normalmente, diminuem a fluorescência (-CO, -NO<sub>2</sub>). Outros fatores também influem no fenômeno, como o pH, o solvente, a temperatura e a presença de outras espécies no meio.<sup>74,75,77</sup>

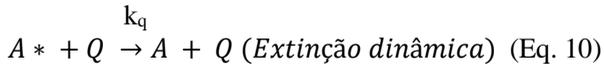
A extinção da fluorescência de uma molécula pode ocorrer através de reação da molécula no estado fundamental com um reagente que leva

a formação de produtos não fluorescentes ou pela a adição de um inibidor quando a molécula se encontra no estado excitado. Nomeia-se estas extinções como estática e dinâmica, respectivamente.

Os processos são descritos nas **Equações 5-10** a seguir:



$$K_c = \frac{[AQ]}{[A][Q]} \quad (\text{Eq. 9})$$



Onde: **A** é o fluorófilo no estado fundamental;

**A\*** é o fluorófilo no primeiro estado singlete excitado;

**k<sub>a</sub>** descreve o número de fótons absorvidos por segundo;

**k<sub>nr</sub>** é a constante de velocidade contendo o conjunto de processos por desativação não radioativa;

**k<sub>f</sub>** é a constante de emissão radioativa de fluorescência;

**Q** representa o inibidor;

**K<sub>c</sub>** é a constante de equilíbrio entre A e Q e

**k<sub>q</sub>** é a constante de velocidade bimolecular.

Resolvendo esses sistemas de equações, chega-se a **Equação 11** que dá a razão entre a intensidade da fluorescência na presença e ausência do inibidor.

$$\frac{I_0}{I} = (1 + K_{SV}[Q])(1 + K_C[Q]) \quad (\text{Eq. 11})$$

Onde  $K_{sv}$  é a constante de Stern-Volmer (S-V), esta exprime a extinção dinâmica ( $K_{SV} = k_q/k_f + k_{nr}$ ). A extinção estática é representada nessa equação matemática pelo termo  $(1+K[Q])$ .<sup>43</sup>

Através da equação de S-V é possível quantificar os grupos orgânicos com capacidade complexante nos ácidos húmicos. Esta metodologia foi utilizada por Costa, T (2008)<sup>24</sup>, onde utilizou-se como inibidor o íon cúprico. Tchaikovskaya (2016)<sup>78</sup> utiliza também a eq. de S-V para íons Cd(II), que interagem com compostos fenólicos e AH modificados.

Nesse trabalho a técnica de extinção da fluorescência foi utilizada, por ser um método sensível e rápido para determinar as interações entre um composto orgânico potencialmente fluorescente e o íon metálico (inibidor) e os dados serão tratados pela equação de S-V como extinção estática.



### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar as constantes de equilíbrio das interações entre o ácido húmico e os íons metálicos Mn(II), Co(II) e Ni(II), verificando a influência do pH para cada espécie. Desta forma, caracterizando os possíveis grupos que interagem com os íons.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar os grupos quelantes presentes no ácido húmico pela técnica de titulação potenciométrica e fluorescência;
- Obter a curva de titulação do AH, na ausência e na presença dos íons metálicos bivalentes, através de titulação potenciométrica;
- Medir, por titulação potenciométrica, a interação dos íons metálicos com o AH;
- Identificar, por espectroscopia na região do infravermelho, os possíveis grupos que interagem com os íons metálicos;
- Determinar as constantes termodinâmicas das interações do AH com os íons metálicos: Ni(II), Co(II) e Mn(II) com a ajuda do programa BEST 7;
- Avaliar as interações entre os íons metálicos, obtendo as curvas de distribuição das espécies em função do pH, através do programa Species.



## 4 METODOLOGIA

### 4.1 REAGENTES

Os reagentes utilizados para o preparo das soluções e para os experimentos encontram-se no **Quadro 2** a seguir.

Quadro 2. Reagentes e marcas.

Reagente	Marca
KOH	J.T. Backer
HCl (37%)	VETEC
MnSO <sub>4</sub>	VETEC
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	Sigma Aldrich
NiCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	VETEC
KCl	VETEC
Ácido Húmico	Sigma Aldrich

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Os reagentes utilizados são PA de elevado grau de pureza.

### 4.2 SOLUÇÕES

As soluções que foram utilizadas para os experimentos são: NiCl<sub>2</sub> (0,0121 mol L<sup>-1</sup>); CoCl<sub>2</sub> (0,00988 mol L<sup>-1</sup>), Mn(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (0,0110 mol L<sup>-1</sup>), KOH (0,0973 mol L<sup>-1</sup>) isento de CO<sub>2</sub> e HCl (0,00844 mol L<sup>-1</sup>). As soluções foram preparadas com água bidestilada fervida (bidestilada na presença de KMnO<sub>4</sub>), mantendo-se a força iônica em 0,1000 mol L<sup>-1</sup> de KCl.

As soluções de KOH e HCl foram padronizadas por titulação potenciométrica enquanto as soluções dos metais bivalentes foram padronizadas através do método de titulação clássica baseadas nas metodologias descritas no livro do Schwarzenbach.<sup>79</sup>

### 4.3 PREPARO DA AMOSTRA DE AH

Macerou-se cerca de 5,000 g de AH. Transferiu-se para um béquer e adicionou-se ácido clorídrico (1,000 mol L<sup>-1</sup>), a fim de remover vestígios de íons metálicos ainda presente na amostra. Deixou-se o sistema sob agitação magnética durante 2 horas. Posteriormente filtrou-se o precipitado, por gravidade, e lavou-se mais 3 vezes com a solução de ácido clorídrico. Levou-se para o dessecador até que a amostra se

encontrasse seca. Macerou-se a massa restante e peneirou-se até que o mesmo obtivesse uma granulometria de 50 mesh.

#### 4.4 EQUIPAMENTOS

Para as caracterizações foram utilizados os equipamentos descritos neste tópico.

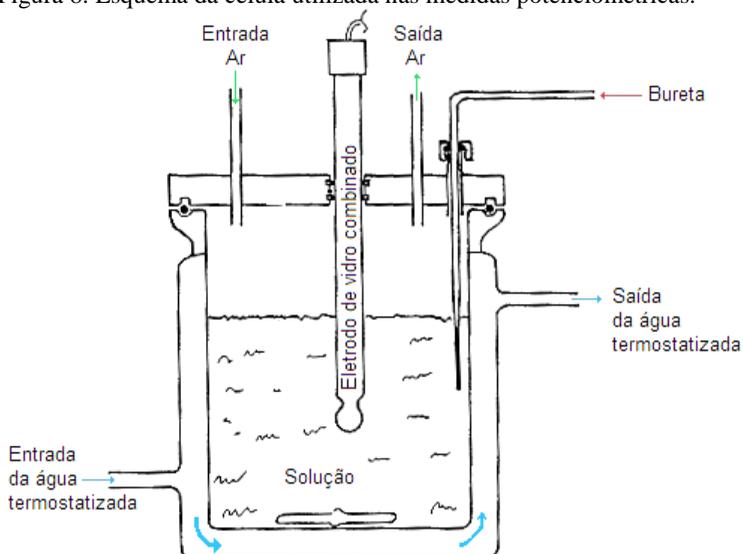
##### 4.4.1 Titulador potenciométrico

A técnica de potenciometria é baseada na medida do potencial de células eletroquímicas, sem o consumo considerável de corrente. Para medir a variação do pH dois eletrodos são utilizados, o de referência e o indicador. O eletrodo de referência precisa ter um potencial conhecido, pois o seu potencial será a referência. O eletrodo indicador apresenta um potencial desenvolvido pela atividade do analito. Com a contribuição dos dois podemos calcular o potencial da célula.<sup>80</sup>

Para calcular as constantes de equilíbrio envolvidas nas interações do AH com os íons metálico bivalentes, caracterizar os grupos quelantes presentes no AH e obter a quantidade de mmols dos mesmos, foram realizadas titulações potenciométricas com o titulador automático Titrino Plus 350 (Metrohm). O sistema é composto por um eletrodo combinado de  $\text{Ag}^+/\text{AgCl}$ , calibrado com uma solução de HCl diluída, uma célula de banho termostático (Microquímica, modelo MQBTC99-20), uma bureta automática com o titulante e uma linha de argônio com duas armadilhas de KOH ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) para remover o  $\text{CO}_2$ .

Um esquema da célula utilizada no processo é apresentado na **Figura 8**. Este mostra as entradas e saídas da corrente de argônio, simulando a atmosfera inerte, verificam-se também as entradas e saídas de água termostatzada, que mantem a temperatura fixa, tem-se, por fim uma bureta por onde é adicionada a base na solução.

Figura 8. Esquema da célula utilizada nas medidas potenciométricas.



Fonte: MARTELL e MOTEKAITIS (1992), modificado.<sup>55</sup>

#### 4.4.2 Espectrofotômetro de Infravermelho

As possíveis interações, em função do pH, entre os íons metálicos e os grupos funcionais presentes no AH, foram também caracterizadas por FTIR em um espectrofotômetro da marca ABB, modelo FTLA 2000, com pastilhas de KBr. E também em um espectrofotômetro Jasco, tipo FTIR 4100. As análises foram realizadas na central de análises do departamento de química da UFSC e no laboratório de materiais da FCC (Fundação Catarinense de Cultura).

#### 4.4.3 Espectrofotômetro de fluorescência

A extinção da fluorescência através da adição de íons metálicos foi medida através de um espectrofotômetro de fluorescência da marca TECAN, modelo infiniteM200, no laboratório de catálise biomimética (LaCBio) do departamento de química da UFSC.

## 4.5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.5.1 Titulação potenciométrica

Para as titulações do AH na ausência de íons metálicos, utilizou-se 0,0500 g de AH, 20,0 mL de HCl ( $0,00844 \text{ mol L}^{-1}$ ), 20,0 mL de H<sub>2</sub>O bidestilada e fervida e KCl. Para as titulações do AH na presença de íons metálicos repete-se o procedimento descrito anteriormente, porém adicionou-se 3,00 mL da solução do metal em questão.

O titulante utilizado, para todas as medidas, foi KOH ( $0,0974 \text{ mol L}^{-1}$ ), isento de CO<sub>2</sub>. As medidas foram realizadas até pH 11,0 em uma célula termostatizada a 25°C. A atmosfera inerte foi feita com argônio em uma pressão ligeiramente acima da pressão atmosférica. Os parâmetros da titulação são listados na **Tabela 3**.

Tabela 3. Interface do titulador potenciométrico: Parâmetros das titulações potenciométricas.

<b>Parâmetros</b>	<b>Configurações</b>
<b>Incremento de volume de KOH</b>	0,0500 mL
<b>Taxa de dosagem</b>	Máx. mL/min
<b>Sinal de desvio</b>	50,0 mV/min
<b>Tempo mín. de espera</b>	200 s
<b>Tempo máx. de espera</b>	400 s
<b>Temperatura</b>	25,0°C
<b>Velocidade de agitação</b>	8,00
<b>Condição de parada</b>	pH 11,0

**Fonte:** Elaborado pela autora (2018).

Os tempos de espera entre uma adição e outra são considerados tempos razoáveis para que se atinja o equilíbrio. Uma vez que todos os metais trabalhados neste projeto são de natureza mais lábil, portanto o tempo de espera não necessita ser maior.

## 4.5.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Para a análise de espectroscopia de FTIR as amostras foram preparadas com 0,050 g de AH e 3,0 mL de solução  $10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> de cada metal em diferentes valores de pH (5,0, 7,0 e 9,0). A faixa de pH foi controlada com HCl ( $10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>) e KOH ( $10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>). Após a preparação aguardou-se alguns minutos para a estabilização. As soluções de AH na presença e ausência do metal foram liofilizadas e com elas fez-se as pastilhas de KBr.

## 4.5.3 Espectroscopia de Fluorescência

Para as análises de fluorescência foi preparada uma solução estoque de AH. Para esta pesou-se 0,0402 g de AH, transferiu-se para um balão de 1,00 L, adicionou-se 100 mL de KOH (0,100 mol. L<sup>-1</sup>) e o restante completou-se com água bidestilada.

Escolheu-se diferentes pHs para os metais trabalhados. Para o manganês optou-se pelos pHs 4,00 e 10,0. Para o cobalto, trabalhou-se em pH 5,50 e para o níquel em pH 6,00.

### 4.5.3.1 Manganês

**pH 4,0-** Da solução estoque retirou-se 100 mL e acidificou-se com HCl (0,00844 mol L<sup>-1</sup>) até próximo ao pH desejado.

Preparou-se 10 eppendorfs de 5,00 mL com 2,50 mL da solução acidificada de AH. A estes foram adicionados volumes de 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120  $\mu$ L de MnSO<sub>4</sub> (0,0127 mol L<sup>-1</sup>). Posteriormente ajustou-se o pH até próximo ao escolhido. Utilizou-se KOH (0,100 mol L<sup>-1</sup>) quando necessário. Todos os volumes utilizados para o ajuste de pH foram anotados para o cálculo da concentração final de AH e do metal em questão.

**pH 10,0-** Realizou-se o mesmo procedimento descrito para o manganês pH 4,00 porém preparou-se mais pontos. Utilizou-se 150 e 200  $\mu$ L.

### 4.5.3.2 Cobalto

**pH 5,50-** Utilizou-se a mesma metodologia empregada para o manganês. Os volumes adicionados de CoCl<sub>2</sub> (0,00988 mol L<sup>-1</sup>) foram de 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 150, 200 e 250  $\mu$ L.

### 4.5.3.3 Níquel

**pH 6,0-** Utilizou-se a mesma metodologia empregada para o manganês e o cobalto. Os volumes adicionados de  $\text{NiCl}_2$  ( $0,0121 \text{ mol L}^{-1}$ ) foram de 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 150, 160, 170, 180, 190. 200 e 210  $\mu\text{L}$ .

## 4.6 PROGRAMAS COMPUTACIONAIS

Para a caracterização do AH e para a obtenção das constantes dos equilíbrios detectadas entre a matriz AH e os íons metálicos bivalentes, utilizou-se o software BEST7 para o tratamento dos dados experimentais obtidos nas titulações potenciométricas. As curvas de distribuição das espécies foram calculadas com o programa Species e os gráficos foram plotados no programa Origin versão 6.0.

### 4.6.1 BEST 7

O BEST7 é um programa com linguagem de programação FORTRAN. Ele calcula com êxito as constantes dos equilíbrios de espécies com múltiplos ligantes na presença de metais. Ele utiliza os dados a curva de titulação fornecidos para a resolução do cálculo, modelando a curva conforme a quantidade de prótons trocáveis do meio <sup>18,55,81,82</sup>. O programa determina as constantes de estabilidade e/ou de protonação do complexo, além de quantificar as diferentes classes de grupos funcionais dando as concentrações dos ligantes presentes.

A metodologia de resolução consiste em um balanço de massa para cada espécie presente na matriz, resolvendo o algoritmo matemático, baseado na aproximação de Newton-Raphson <sup>83</sup>, para as concentrações de prótons e comparando os dados com os valores medidos. Para a otimização das constantes de equilíbrio os valores conhecidos são fixados e a diferença entre o pH medido (experimental) e o pH calculado (teórico) são minimizados pelo método dos quadrados mínimos. Como o pH representa uma variável dependente medida ele reflete o conjunto de constantes de protonação de equilíbrio que descrevem com mais precisão o sistema, assim o programa consegue realizar os cálculos usando a inclinação recíproca quadrática calculada numericamente como um fator de ponderação de modo a aumentar a sensibilidade dos cálculos às regiões tampão e a diminuir a importância das inflexões.<sup>55</sup>

Nos **Anexo I e II** é apresentada a interface do software. Nota-se seis colunas subsequentes as opções oferecidas pelo programa. A coluna 3 indica o volume da base adicionada, a 4 e 5 indicam o pH experimental e o pH teórico, respectivamente, e a coluna 6 apresenta a diferença entre as colunas 4 e 5, sendo esperado valores muito próximos a zero para a minimização do erro. O erro final da curva inteiro é representado pelo SIGFIT (SIGMA PH FIT).

Para a montagem da matriz (que funciona como o input para o programa) é necessário que na construção se insira os valores dos dados de entrada (**Tabela 4**). É de extrema importância saber esses valores, uma vez que o computador se baseará neles para iniciar os cálculos e fornecer os valores de  $\beta$ .

Tabela 4. Dados de entrada fornecidos ao programa BEST7.

<b>Dados de entrada:</b>	Volume da amostra; mmols de cada espécie presente no AH; mmols do metal em questão; mmols de $H^+$ ; A curva de pH obtida na titulação juntamente com o volume de base adicionado em cada ponto; Diferença entre pH calculado e o lido antes do início da titulação; Concentração da base e Provável pKa para cada espécie com probabilidade de ser formada *;
--------------------------	---

#### 4.6.2 Software Species

Para o cálculo da distribuição das espécies em função do pH é utilizado o software Species.<sup>84</sup> Para o funcionamento deste os dados de entrada inseridos são: as concentrações dos ligantes, do metal em questão e as constantes de formação obtidas através do programa BEST7 ( $\beta$ ). Baseando-se nos dados fornecidos e nas seguintes **Equações 12-18** (com a constante de formação, onde A é o ligante,  $A_T$  é a quantidade total do ligante,  $H^+A$  é o complexo e  $H^+$  o próton):

---

\* As constantes de pKa podem ser obtidas através de bancos de dados, como por exemplo o software NIST<sup>85</sup> que foi utilizado neste caso. Esse programa consiste em um banco de dados que possui diversas constantes entre diferentes ligantes e íons metálicos, em diferentes temperaturas e forças iônicas.

Constante de formação:



$$\beta = \frac{[AH^+]}{[A][H^+]} \quad (\text{Eq. 13})$$

A concentração total ( $A_T$ ) do ligante em qualquer pH:

$$A_T = [A] + [AH^+] \quad (\text{Eq. 14.})$$

Resolvendo a equação para o ligante:

Isolando  $[AH]$  na **Equação 13** e substituindo na **Equação 14**, temos:

$$A_T = [A] + [A][H^+]\beta \quad (\text{Eq. 15})$$

Rearranjando a **Equação 15** em função da concentração do ligante:

$$[A] = \frac{A_T}{1 + [H^+]\beta} \quad (\text{Eq. 16})$$

Resolvendo a equação para o complexo:

Isolando  $[A]$  na **Equação 13** e substituindo na **Equação 14**, temos:

$$A_T = \frac{[AH^+]}{[H^+]\beta} + [AH^+] \quad (\text{Eq. 17})$$

Rearranjando a **Equação 17** em função do complexo:

$$[H + A] = \frac{A_T [H^+]\beta}{[H^+]\beta + 1} \quad (\text{Eq. 18})$$

O programa consegue calcular a porcentagem de cada espécie formada em função do pH. No experimento colocou-se em função da quantidade total de metal.<sup>86</sup>

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DO AH

O AH foi caracterizado por titulação potenciométrica, baseado em um modelo onde os equilíbrios ácido-base foram atribuídos a presença dos grupos majoritários (mmols das espécies por 0,050g de AH) e o equilíbrio desses grupos. Os valores de  $pK_{a,s}$  determinados são médias dos resultados de 3 titulações. Os resultados dos mmols calculados para cada grupo e seus valores de  $pK_{a,s}$  encontram-se na **Tabela 5** a seguir.

Tabela 5. Valores dos  $pK_{a,s}$  e da quantidade de mmols dos grupos por grama de AH.

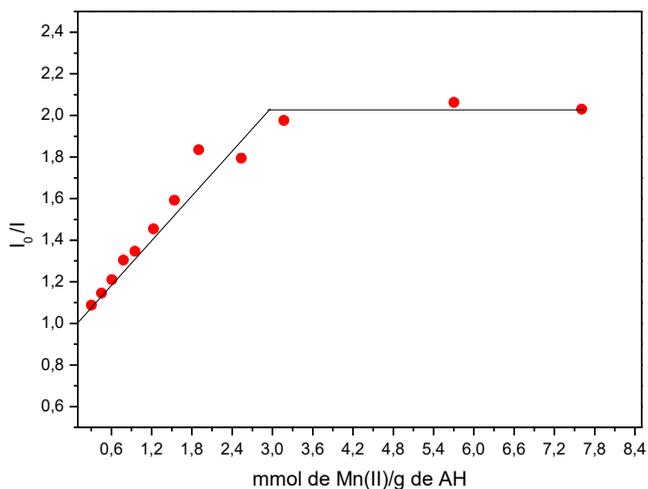
Grupos	mmol g <sup>-1</sup> de AH	Média $pK_a$	$pK_a$ <sup>REF 82</sup>
<b>Fenol</b>	0,682 ( $\pm 044$ )	9,55 ( $\pm 15$ )	9,62
<b>Carboxílico</b>	0,986 ( $\pm 020$ )	6,15 ( $\pm 20$ )	6,33
<b>Catecol</b>	0,416 ( $\pm 027$ )	13,30	13,30
		8,02 ( $\pm 17$ )	7,94
<b>Ftálico</b>	0,954 ( $\pm 062$ )	4,68 ( $\pm 35$ )	4,68
		2,77 ( $\pm 22$ )	2,76
<b>Salicílico</b>	0,966 ( $\pm 041$ )	13,40	13,40
		3,31 ( $\pm 14$ )	3,11

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Os valores obtidos assemelham-se com os dados da literatura, a diferenças dos mesmos são associadas com as interações intermoleculares (ligações de hidrogênio, interações de Van der Waals e interações eletroestáticas devido à proximidade de grupos vizinhos carregados eletronicamente) existentes entre os grupos no AH, uma vez que este é considerado uma macromolécula.<sup>49</sup> Nas moléculas simples essas interações não ocorrem ou são muito fracas devido às mesmas serem solvatadas pela água.

Outra maneira de se obter a quantidade de grupos presentes na substância húmica é através da titulação de fluorescência (**Figura 16**). Os dados obtidos através desta são apresentados na **Figura 9**, em forma do gráfico de Stern-Volmer. Este mostra a supressão da fluorescência conforme o inibidor, neste caso Mn(II), é adicionado. Essa inibição da fluorescência é causada pela formação de complexos (extinção estática).

Figura 9. Gráfico de Stern-Volmer para o sistema AH-Mn(II) em pH 10.

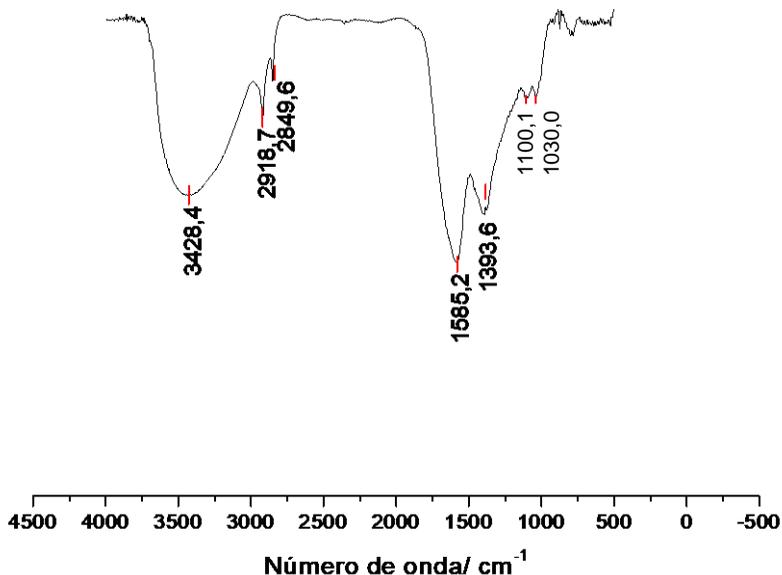


Através do gráfico de Stern-Volmer juntamente com o gráfico da distribuição de espécies do manganês (**Figura 14**) pode-se calcular a quantidade total de grupos presentes no ácido húmico.

A interseção das retas mostra um valor de 2,96 mmol de Mn(II) por grama de AH. Observa-se que em pH 10 temos somente espécies 1:1 (ligante:metal). A soma da média da quantidade de mmol calculada através do software BEST7 é igual a 4,00, porém é descontado da soma a quantidade de ácidos carboxílicos, uma vez que o mesmo apresenta pouca fluorescência, portanto tem-se uma quantidade de 3,02 mmol de grupos que fluorescem no ácido húmico. Um valor bastante próximo a média da quantidade total calculada através do software BEST7.

Os grupos orgânicos presentes no AH foram também caracterizados por FTIR. Estes são observados na **Figura 10**.

Figura 10. Espectro de FTIR obtido para o AH.



As bandas características são observadas nos seguintes números de onda: em  $3428 \text{ cm}^{-1}$ , esta banda larga é atribuída ao  $\nu_{\text{S}}\text{O-H}$ , em  $2919$  e  $2850 \text{ cm}^{-1}$ , associadas ao  $\nu_{\text{S}}\text{C-H}$ , em  $1585 \text{ cm}^{-1}$  associa-se as vibrações estruturais  $\text{C=C}$  de anéis aromáticos, junto com as vibrações  $\text{C-C}$  de olefinas e estiramentos antissimétricos de  $\text{COO}^-$ , em  $1393 \text{ cm}^{-1}$ , associados ao estiramento simétrico  $\text{COO}^-$ . Bandas nas regiões de  $1100$  e  $1030 \text{ cm}^{-1}$  são atribuídas ao  $\nu_{\text{S}}\text{C-O}$  de álcoois e/ou fenóis. Sabe-se que quanto maior o peso molecular do AH, mais as bandas são deslocadas para regiões de maior energia. Neste espectro, não se observa a presença do  $\nu_{\text{S}}\text{C=O}$ . Isto será discutido mais para a frente no texto. Todas as atribuições encontram-se na **Tabela 6** abaixo.<sup>38,87-90</sup>

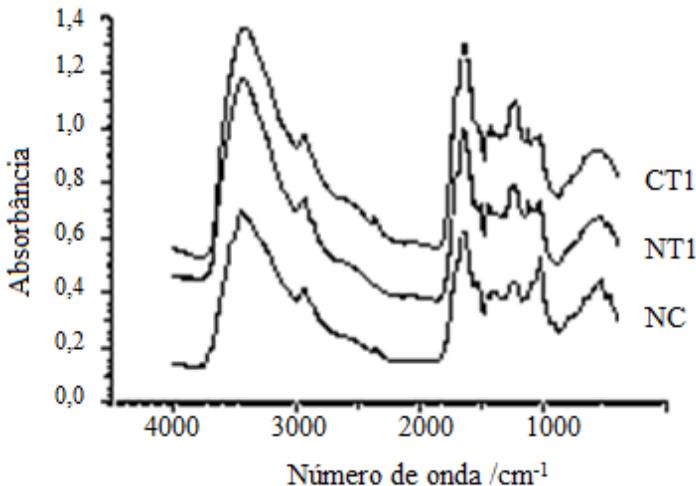
Tabela 6. Atribuições das bandas do espectro de FTIR.

Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuições
3428	$\nu_{\text{S}}(\text{OH})$
2919	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}, \text{CH}_2, \text{CH}_3)$
2850	$\nu_{\text{S}}(\text{CH}, \text{CH}_2, \text{CH}_3)$
1585	$\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ anel, $\nu(\text{C=C})$ anel e $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$
1394	$\nu_{\text{S}}(\text{COO}^-)$ , $\delta(\text{CH}_3)$ e $\delta(\text{CH}_2)$ alifáticos
1100 e 1030	$\nu_{\text{S}}(\text{C-O})$

Fonte: Elaborada pela autora (2018).

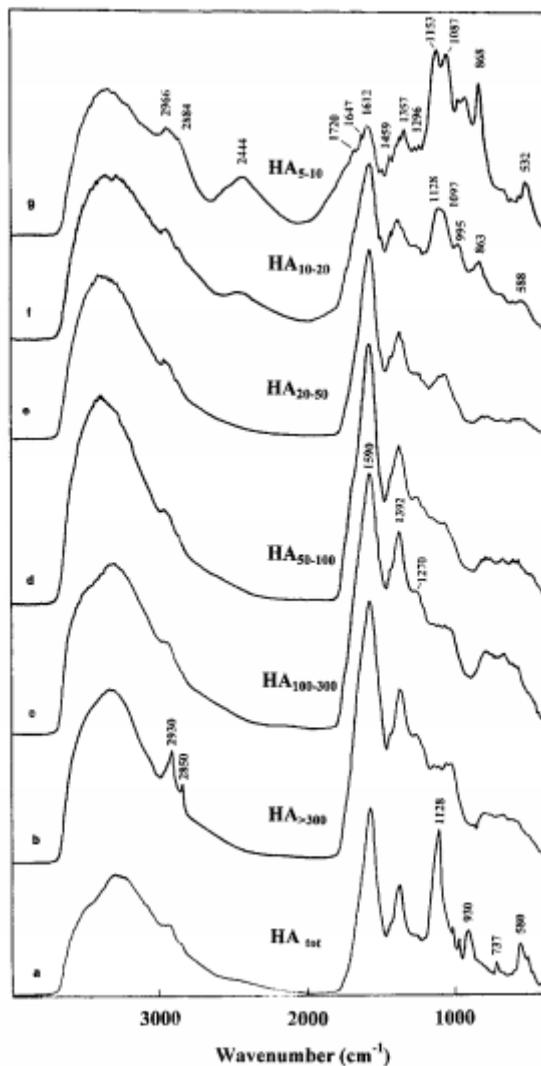
Essas vibrações características são descritas na literatura e atribuídas aos principais grupos funcionais presentes no AH. O estiramento de hidroxila é conferido aos grupos fenol, catecol salicílico, enquanto os carbonílicos são referentes aos ácidos carboxílicos, ftálico e salicílico também. Espectros de infravermelho obtido das substâncias húmicas extraídas de solos cultivados e não cultivados do Brasil (**Figura 11**) e com diferentes pesos moleculares extraídas de turfeiras da Irlanda (**Figura 12**) são mostrados nas figuras a seguir. Observa-se que as bandas obtidas por Sánchez-Cortés et al<sup>89</sup>, Pérez et al<sup>88</sup> e as obtidas neste trabalho possuem um perfil similar.

Figura 11. Espectro de FTIR obtido para de HA de tratamento em pousio, sem cultivo de milho, comparando os sistemas de preparo do solo: convencional (CT), plantio direto (NT) e sem cultivo (NC).



Fonte: Adaptado de PÉREZ (2004).<sup>88</sup>

Figura 12. Espectro FTIR dos ácidos húmicos HA<sub>tot</sub> (representa todas as frações de ácidos húmicos não separadas), HA<sub>>300</sub>, HA<sub>100-300</sub>, HA<sub>50-100</sub>, HA<sub>20-50</sub>, HA<sub>20-10</sub> e HA<sub>5-10</sub>.



Fonte: SÁNCHEZ-CORTÉS (1997).<sup>89</sup>

Pode-se observar através das análises obtidas por Sánchez-Cortés et al que quanto maior a massa atômica do AH mais estão deslocadas as

bandas para menores números de onda. Relaciona-se este fato com a maior energia necessária para a vibração das ligações. Nota-se que o estiramento C=O não aparece nos espectros de maior peso molecular e pode-se associar isso com o deslocamento da banda se sobrepondo as bandas adjacentes, assim não sendo tão trivial de observá-las no espectro de infravermelho.

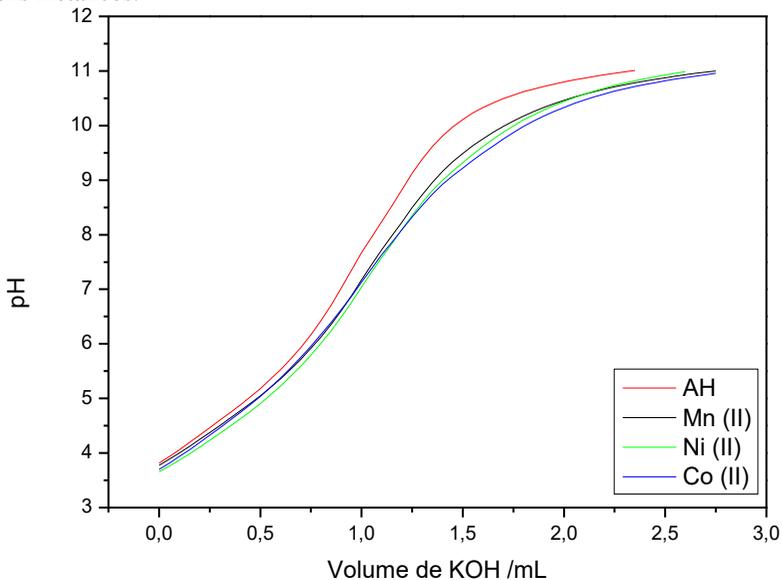
Devido ao AH apresentar suas funções orgânicas específicas, que vibram em um determinado comprimento de onda, quando estas interagem com um metal o modo vibracional da molécula muda, com o deslocamento do número de onda para maior ou menor energia no espectro. Assim, pode-se observar, qualitativamente, a complexação dos grupos orgânicos com os metais.

Sabe-se ainda que a absorção de radiação ocorre também para complexos metálicos ligados covalentemente, entretanto tem-se uma maior dificuldade de se atribuir bandas, uma vez que as ligações metal-ligantes vibram na região de impressão digital do espectro.

## 5.2 SISTEMA AH + METAIS

Com os dados experimentais provenientes das titulações potenciométricas (volume de base adicionado e pH lido no ponto) plotou-se um gráfico do pH em função da quantidade de base adicionada (KOH 0,0973 mol L<sup>-1</sup>). O perfil da titulação do AH sozinho e complexado com os íons metálicos é mostrado na **Figura 13**.

Figura 13. Perfil de titulação potenciométrica do AH na ausência e presença dos íons metálicos.



Observa-se que a adição dos íons metálicos desloca a curva de titulação quando comparada com a curva na ausência dos mesmos. Este descolamento ocorre uma vez que os íons metálicos interagem com os grupos ligantes presentes no AH.

Nota-se que na faixa de pH mais ácida as curvas para o Mn(II) e Co(II) quase não diferem do perfil do AH sozinho, sugerindo que os mesmos interagem pouco com a matriz nesta extensão. Enquanto o níquel parece interagir mais com a matriz. Os cálculos das interações de cada metal com o AH são mostrados a seguir.

### 5.2.1 Sistema Mn(II) - AH

As constantes de formação calculadas através do software BEST7 para as interações entre o manganês e o AH são apresentadas na **Tabela 7**.

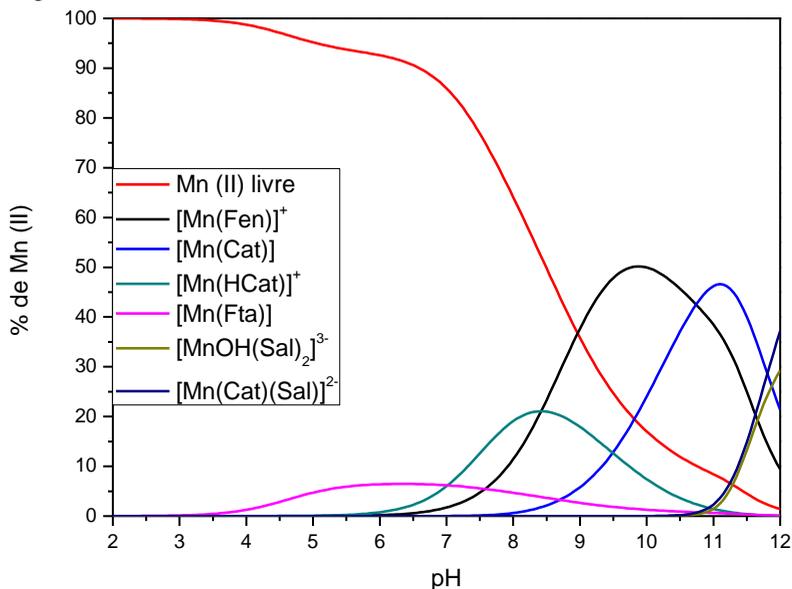
Tabela 7. Valores de log de Q para as interações detectadas no sistema Mn(II) - AH para os grupos: Fenol (Fen), Catecol (Cat), Ftálico (Fta) e Salicílico (Sal).

Quociente	Log Q
$[\text{Mn}(\text{Fen})^+]/[\text{Mn}^{2+}][\text{Fen}^-]$	5,30
$[\text{Mn}(\text{Cat})]/[\text{Mn}^{2+}][\text{Cat}^{2-}]$	8,44
$[\text{Mn}(\text{HCat})^+]/[\text{Mn}(\text{Cat})][\text{H}^+]$	9,49
$[\text{Mn}(\text{Fta})]/[\text{Mn}^{2+}][\text{Fta}^{2-}]$	3,23
$[\text{Mn}(\text{OH})\text{Sal}_2^{3-}][\text{H}^+]/[\text{Mn}^{2+}][\text{Sal}^{2-}]^2$	1,71
$[\text{Mn}(\text{Cat})(\text{Sal})^{2-}]/[\text{Mn}^{2+}][\text{Cat}^{2-}][\text{Sal}^{2-}]$	13,26

Fonte: Elaborada pela autora (2018).

Através das constantes de formação e da quantidade de mmols dos grupos orgânicos calculados plotou-se o gráfico da distribuição de espécies em função da quantidade total do Mn(II) (**Figura 14**).

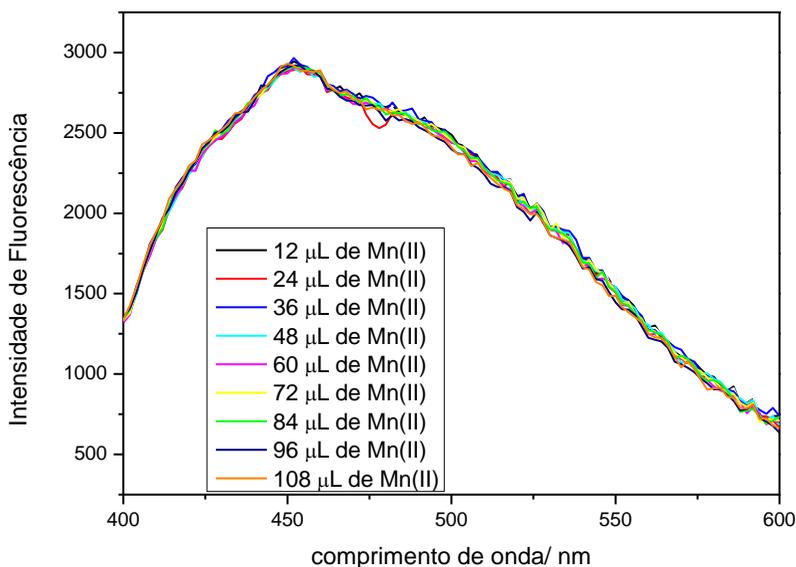
Figura 14. Gráfico da distribuição das espécies em função da quantidade total de manganês.



Nota-se, primeiramente, que o manganês interage melhor na faixa alcalina. Na faixa ácida tem-se, praticamente, todo o Mn(II) livre. O mesmo começa a interagir perto de pH 4,0 e o complexo formado é com o grupo ftálico, chegando a 6% de formação. A principal interação observada para o íon metálico Mn(II) é com o grupo fenol, chegando a atingir 50% em pH 9,8. Posteriormente observa-se a formação do manganês com o grupo catecol. Em pH acima de 11,0 observa-se a formação de espécies 2:1 (Ligante:Metal). As interações com o grupo salicílico acima de pH 10,0 ocorrem com a dissociação de uma molécula de água coordenada com o Mn(II).

A análise de fluorescência realizada em pH 4,0 para o manganês é mostrada na **Figura 15** a seguir. O comprimento de emissão analisado é em 510 nm.

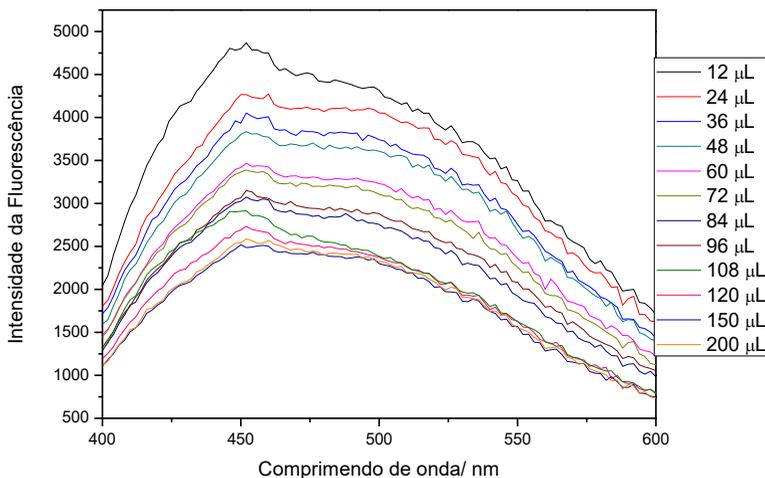
Figura 15. Espectro de emissão de fluorescência ( $\lambda_{EX}=366$  nm) para AH ( $0,0398$  g L<sup>-1</sup>) com diferentes concentrações de Mn(II) em pH 4,0.



Observa-se, em 510 nm, que a adição do metal quase não altera a intensidade da fluorescência, sugerindo que o metal interage pouco com os grupos orgânicos presentes no AH. Realizou-se também a análise de inibição de fluorescência pela adição do metal Mn(II) em pH 10 (**Figura 16**). Diferentemente da análise feita em pH 4 observa-se que a adição do metal diminui a intensidade da fluorescência, uma vez que o

metal funciona como um inibidor da fluorescência, este ocasiona o que é chamado de extinção estática. Conforme adicionou-se maiores quantidades de metal o mesmo foi complexando até saturar os sítios presentes na molécula de AH. A saturação pode ser observada para as últimas adições. Observa-se que as linhas de emissão estão bastantes próximas umas das outras, no comprimento de onda analisado (510 nm).

Figura 16. Espectro de emissão de fluorescência ( $\lambda_{\text{EXC}}=366$  nm) para AH ( $0,0398 \text{ g L}^{-1}$ ) com diferentes concentrações de Mn(II) em pH 10,0.



O gráfico de S-V para o manganês em pH 10,0 já foi apresentado anteriormente (**Figura 9**) para a discussão dos mmols dos grupos ligantes presentes no AH.

Outra forma de analisar as interações que ocorrem no sistema é através dos espectros de infravermelho. A **Figura 17** mostra o espectro para o AH livre o mesmo interagindo com o Mn(II) em pH 5,0, 7,0 e 9,0. A **Tabela 8** mostra os principais descolamentos observados nesses espectros.

Figura 17. Espectro de FTIR (onde: • representa o AH e os sistemas Mn(II) + AH em • pH 9,0 • pH 7,0 e • pH 5,0).

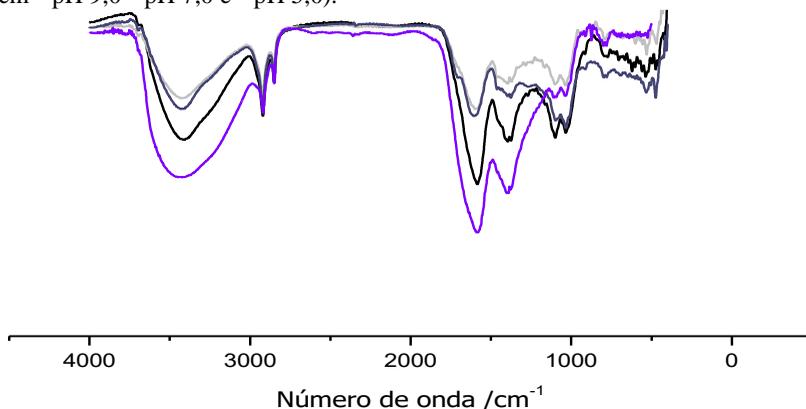


Tabela 8. Deslocamentos das bandas dos espectros de FTIR para o AH e o AH + Mn(II) para diferentes pHs.

Amostra	$\nu\text{O-H (cm}^{-1}\text{)}$	$\nu\text{CH}_2\text{CH}_3 \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	$\nu_{\text{as}}\text{COO}^-$ e $\nu\text{C=C (cm}^{-1}\text{)}$
AH	3428	2918 e 2849	1585
Mn+ AH pH 5,0	3424	2920 e 2851	1602
Mn + AH pH 7,0	3422	2920 e 2851	1594
Mn + AH pH 9,0	3420	2920 e 2851	1585

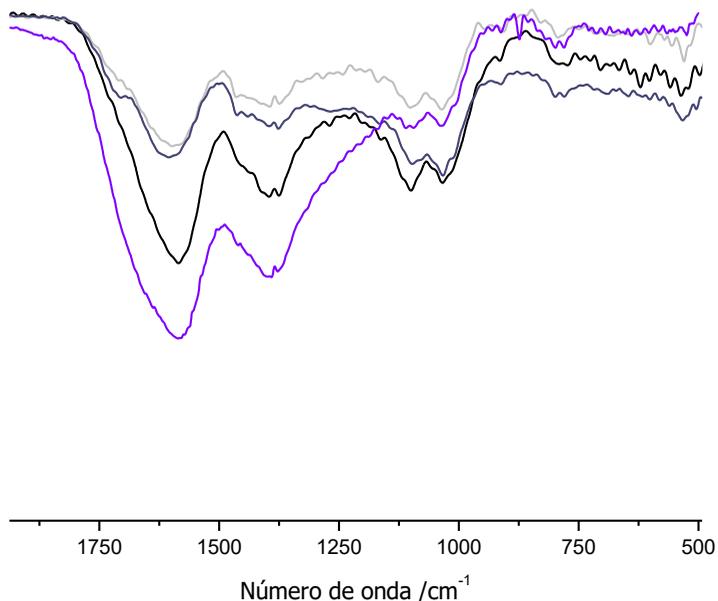
Fonte: Elaborada pela autora (2018).

Observa-se que não ocorre uma mudança significativa quando se compara os deslocamentos do estiramento O-H. Em pH 5,0, tem-se apenas o Mn complexado com a espécie fta. Esta apresenta dois grupos carboxílicos e ambos encontram-se ligados ao íon metálico. A diferença entre o AH e o AH complexado nesse pH deve ser proveniente de interações com grupos O-H próximos ao Mn complexado, uma vez que o AH é uma supramolécula com vários ligantes. Já em pH 7 o AH começa a formar ligações com o grupo catecol monoprotonado, interagindo com o manganês do oxigênio adjacente a este grupo, deslocando a banda um pouco mais à direita do espectro. Em pH 9,0, observa-se um deslocamento um pouco maior quando comparado ao AH sozinho. Nesta faixa de pH temos a formação de  $[\text{Mn}(\text{Fen})]^+$  e  $[\text{Mn}(\text{Cat})]$ , porém a diferença no deslocamento pode ser atribuída a uma quantidade maior da espécies  $[\text{Mn}(\text{HCat})]^+$ , esta, também formada em pH 7,0, deve interagir com o grupo OH do que encontra-se do carbono ao lado no anel aromático,

assim, por estar em maior concentração do que em pH 7,0, desloca um pouco mais para a direita do espectro.

Não se observou um deslocamento expressivo dos  $\nu\text{CH}_2\text{CH}_3$ . Para as regiões de menores números de onda, ampliou-se o espectro e a **Figura 18** é mostrada a seguir, para melhor observação.

Figura 18. Ampliação, da região de menores números de onda, do espectro de infravermelho do sistema AH + Mn(II) (onde:  $\bullet$  representa o AH e os sistemas Mn(II) + AH em  $\bullet$  pH 9,0  $\circ$  pH 7,0 e  $\circ$  pH 5,0).



Na região de  $1700\text{ cm}^{-1}$  é perceptível a presença de ombros para os sistemas do Mn-AH provenientes do estiramento C=O. A banda adjacente que representa as duplas ligações de anéis aromáticos, os  $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$  dos anéis aromáticos e  $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ . Nota-se um pequeno deslocamento, em pH 5,0 e 7,0 para as regiões de maior número de onda. Esta diferença, não muito significativa, das interações com os grupos ftálicos.

Para a próxima banda, na região de  $1400\text{ cm}^{-1}$ , observa-se que a mesma começa a se desdobrar. Nesta região temos  $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$ ,  $\delta(\text{CH}_3)$  e  $\delta(\text{CH}_2)$  alifáticos. Isso pode ser proveniente da complexação com os grupos ftálicos que apresentam duas carboxilas em sua estrutura. Também, podem ser, as deformações dos carbonos alifáticos que

interagem com o metal que, por consequência, diminuem/aumentam a intensidade da banda para essas duas observações.<sup>25</sup>

Nota-se a presença de uma banda quando adiciona-se o íon metálico bivalente na matriz. Esta banda em  $535\text{ cm}^{-1}$  é proveniente da ligação entre o O e o Mn, (estiramento Mn-O). Todos esses deslocamentos de bandas, e a presença da banda em  $535\text{ cm}^{-1}$ , são evidências de que o íon metálico está interagindo com a matriz orgânica.<sup>87,91,93</sup>

### 5.2.2 Sistema Co(II)-AH

A **Tabela 9** apresenta as constantes de formação para o AH com o íon metálico Co(II) calculadas através do software BEST7. As principais interações entre o íon Co(II) e o AH acontecem com o grupo catecol.

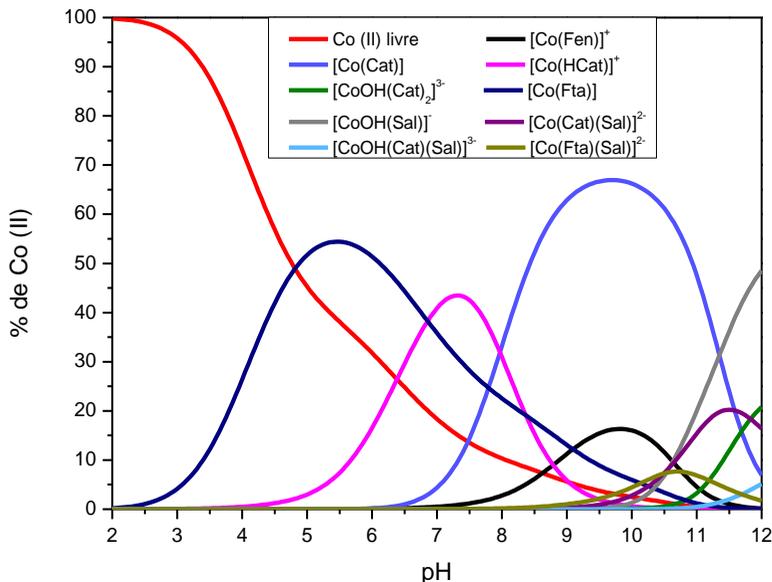
Tabela 9. Valores de log Q para as interações detectadas no sistema AH-Co(II).

Quociente	Log Q
$[\text{Co}(\text{Fen})^+]/[\text{Co}^{2+}][\text{Fen}^-]$	5,44
$[\text{Co}(\text{Cat})]/[\text{Co}^{2+}][\text{Cat}^{2-}]$	11,87
$[\text{Co}(\text{HCat})^+]/[\text{Co}(\text{Cat})][\text{H}^+]$	7,79
$[\text{Co}(\text{OH})(\text{Cat})_2][\text{H}^+]/[\text{Co}^{2+}][\text{Cat}^{2-}]^2$	9,59
$[\text{Co}(\text{Fta})]/[\text{Co}^{2+}][\text{Fta}^{2-}]$	4,76
$[\text{Co}(\text{OH})(\text{Sal})][\text{H}^+]/[\text{Co}^{2+}][\text{Sal}]$	-2,54
$[\text{Co}(\text{Fta})(\text{Sal})^2]/[\text{Co}(\text{Fta})][\text{Sal}^{2-}]$	7,61
$[\text{Co}(\text{Cat})(\text{Sal})^2]/[\text{Co}(\text{Cat})][\text{Sal}^{2-}]$	0,50
$[\text{Co}(\text{OH})(\text{Cat})(\text{Sal})^3][\text{H}^+]/[\text{Co}(\text{Cat})(\text{Sal})^{2-}]$	-12,50

Fonte: Elaborada pela autora (2018).

Através das constantes obtidas gerou-se o gráfico da distribuição das espécies em função da quantidade total de Co(II) no sistema (**Figura 19**).

Figura 19. Gráfico da distribuição das espécies em função da quantidade total de cobalto.



Em pH neutro, 82 % do íon Co(II) está coordenado com o AH. Na faixa alcalina, observa-se que o mesmo interage bem com o grupo catecol chegando a complexar 67 % com o grupo desprotonado em pH 9,5. Na faixa ácida observa-se a interação principal com o grupo ftálico atingindo 54% em pH 5,3. Comparando com o íon Mn(II), apresentado anteriormente, observa-se que o íon Co(II) complexa mais com os grupos presentes no AH do que o íon Mn(II).

O espectro de FTIR obtido para o sistema Co(II) + AH, em diferentes faixas de pH, é apresentado na **Figura 20**. Os principais descolamentos observados são apresentados na **Tabela 10**.

Figura 20. Espectro de FTIR (onde: ● representa o AH e os sistemas Co(II) + AH em ● pH 9,0 ● pH 7,0 e ● pH 5,0).

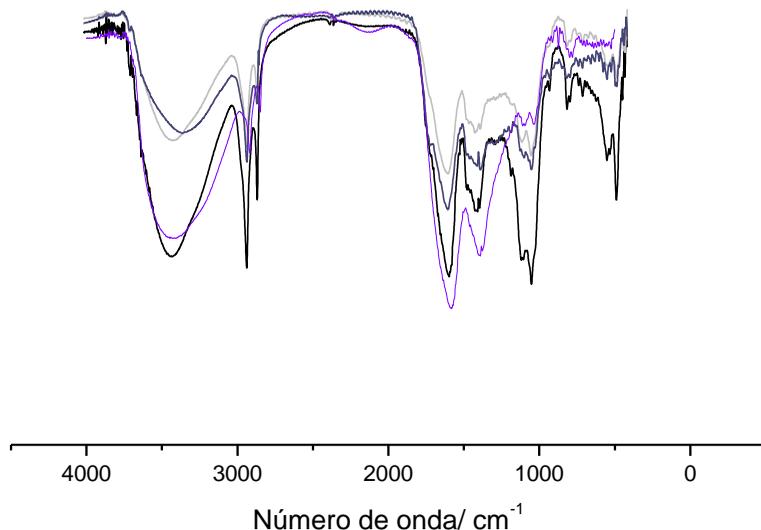


Tabela 10. Deslocamentos das bandas dos espectros de FTIR para o AH e o AH + Co(II) para diferentes pHs.

Amostra	$\nu_{\text{O-H}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	$\nu_{\text{CH}_2\text{CH}_3} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	$\nu_{\text{asCOO}^-}$ e $\nu_{\text{C=C}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$
AH	3428	2918 e 2849	1585
Co + AH pH 5,0	3364	2919 e 2852	1587
Co + AH pH 7,0	3420	2922 e 2852	1587
Co + AH pH 9,0	3420	2920 e 2850	1579

Fonte: Elaborada pela autora (2018).

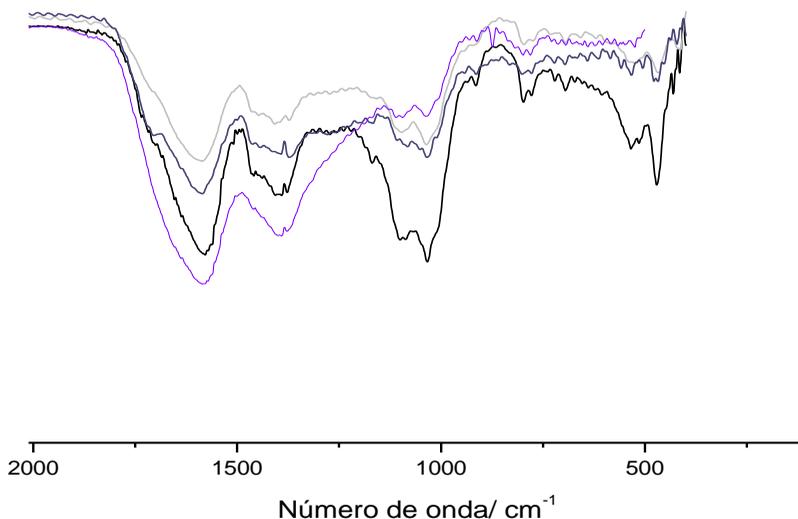
As espécies existentes em pH 5,0 e 7,0 diferem-se devido em pH 7,0 a espécie [Co(Cat)] começar a se formar. Nota-se que não há uma diferença significativa entre os deslocamentos das bandas nesta faixa de pH, além da banda de  $\nu_{\text{S}}(\text{OH})$ . Esse grande deslocamento inesperado

neste pH pode ser proveniente de maiores interações hidrogênio neste pH. As bandas em  $1587\text{ cm}^{-1}$  referem-se ao grupo ftálico, neste caso, e, observando o gráfico de distribuição das espécies, nota-se que ambos interagem com esse grupo praticamente na mesma proporção. Não tem um deslocamento significativo entre ambos.

Em pH 9,0, temos (além das mesmas espécies também formadas para os outros pHs) a espécie  $[\text{Co}(\text{Fen})]^+$ . As bandas também não se diferem muito. O que pode-se observar é que o cobalto desloca mais as bandas do que o íon  $\text{Mn}(\text{II})$ , porque ele complexa melhor.

Um aumento entre a região de  $2000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$  é apresentado na **Figura 21**.

Figura 21. Ampliação, da região de menores números de onda, do espectro de infravermelho do sistema AH + Co(II) (onde: ● representa o AH e os sistemas Co(II) + AH em ● pH 9,0 ● pH 7,0 e ● pH 5,0).

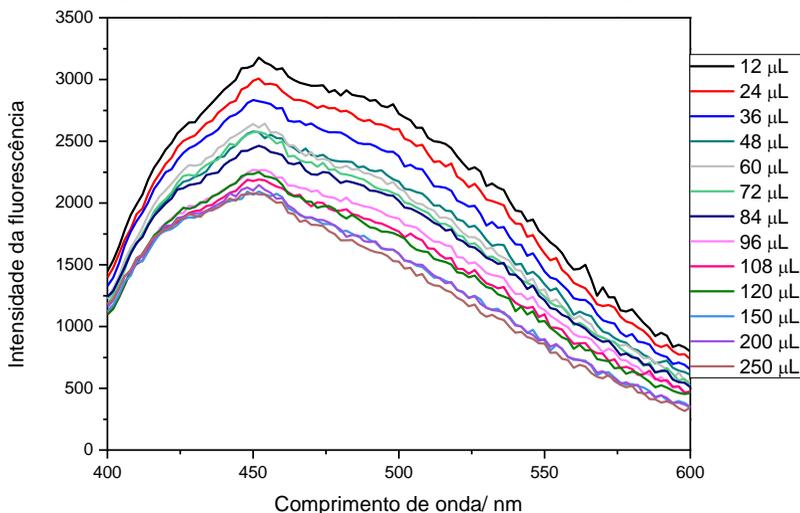


Observa-se novamente a presença de um ombro em  $1700\text{ cm}^{-1}$  e a divisão da banda em  $1400\text{ cm}^{-1}$ . As mesmas associações feitas para o íon  $\text{Mn}(\text{II})$  são feitas aqui. Além disso, uma banda em  $535\text{ cm}^{-1}$  é observada, aparecendo mais evidente para a curva de formação dos complexos em pH 9,0 e é atribuída a ligação O-Co.<sup>93</sup>

O espectro da inibição da fluorescência para o Co com o AH em pH 5,5 é apresentado na **Figura 22**. Observa-se que há uma inibição da fluorescência conforme a concentração do metal é aumentada até o ponto

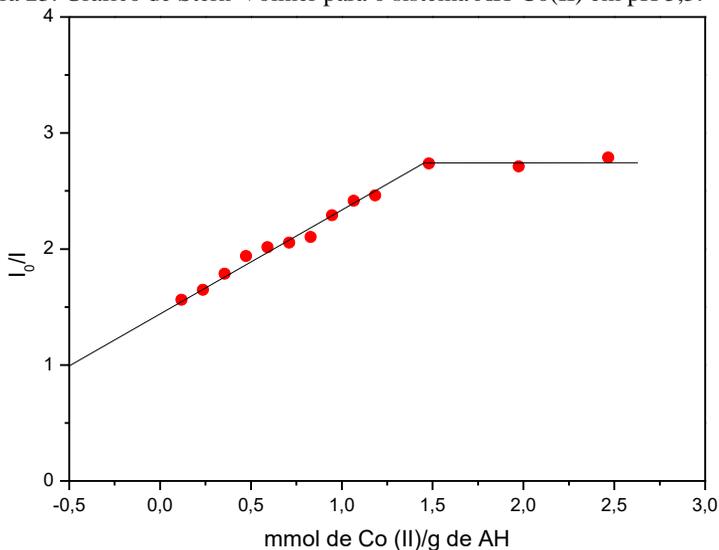
onde o Co(II) interage com todos os grupos disponíveis neste pH e forma um platô.

Figura 22. Espectro de emissão de fluorescência ( $\lambda_{\text{EXC}}=366$  nm) para AH ( $0,0398$  g L<sup>-1</sup>) com diferentes concentrações de Co(II) em pH 5,5.



O gráfico de S-V para o sistema acima é apresentado na **Figura 23**.

Figura 23. Gráfico de Stern-Volmer para o sistema AH-Co(II) em pH 5,5.



Nota-se que a inibição da fluorescência neste pH estudado é observada com o equivalente de 1,43 mmol de Co(II) por grama de AH. Nesta faixa de pH temos os grupos catecol e ftálico. A soma dos mmols desses grupos, calculados através do programa BEST 7 (Tabela 5, p. 55), é 1,37 mmols. Um valor bem próximo ao determinado através do diagrama, sugerindo que neste pH somente essas duas espécies estão interagindo com o íon metálico.

### 5.2.3 Sistema Ni(II)- AH

As constantes de equilíbrio calculadas para as interações detectadas no sistema Ni(II) - AH encontram-se na Tabela 11, com seus devidos logs de Q.

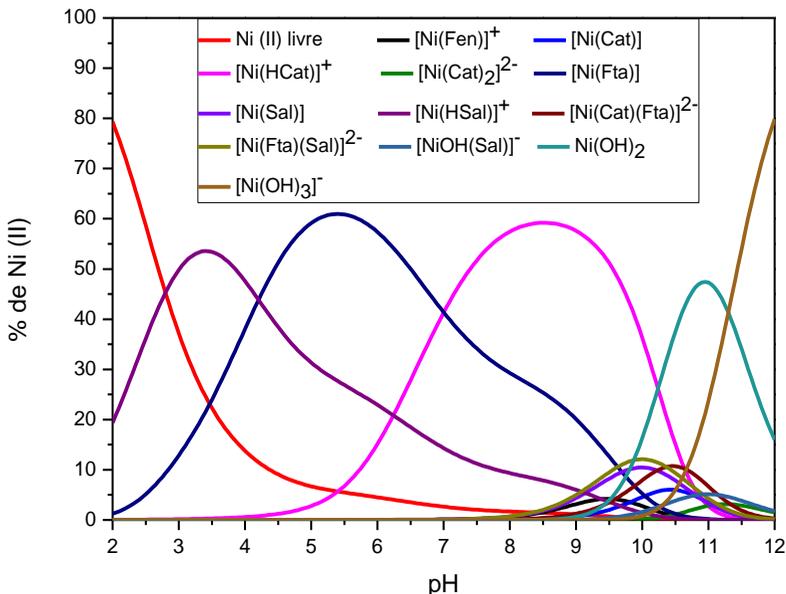
Tabela 11. Valores de log Q para as interações detectadas no sistema Ni(II) - HA.

Quociente	Log Q
$[\text{Ni}(\text{Fen})^+]/[\text{Ni}^{2+}][\text{Fen}^-]$	5,56
$[\text{Ni}(\text{Cat})]/[\text{Ni}^{2+}][\text{Cat}^{2-}]$	9,74
$[\text{Ni}(\text{HCat})^+]/[\text{Ni}(\text{Cat})][\text{H}^+]$	10,90
$[\text{Ni}(\text{Cat})_2^{2-}]/[\text{Ni}(\text{Cat})][\text{Cat}^{2-}]$	7,04
$[\text{Ni}(\text{Fta})]/[\text{Ni}^{2+}][\text{Fta}^{2-}]$	5,68
$[\text{Ni}(\text{Sal})]/[\text{Ni}^{2+}][\text{Sal}^{2-}]$	9,35
$[\text{Ni}(\text{HSal})^+]/[\text{Ni}(\text{Sal})][\text{H}^+]$	9,14
$[\text{Ni}(\text{OH})(\text{Sal})^-][\text{H}^+]/[\text{Ni}(\text{Sal})]$	-10,81
$[\text{Ni}(\text{Cat})(\text{Fta})^{2-}]/[\text{Ni}(\text{Cat})][\text{Fta}]$	4,66
$[\text{Ni}(\text{Fta})(\text{Sal})^{2-}]/[\text{Ni}(\text{Fta})][\text{Sal}^{2-}]$	8,16

Fonte: Elaborada pela autora (2018).

Utilizando das constantes de equilíbrio plotou-se o gráfico da distribuição das espécies para o sistema AH + Ni(II). O mesmo é apresentado na Figura 24.

Figura 24. Gráfico de distribuição das espécies em função da quantidade total de níquel. As constantes de hidrólise do níquel são: -18,25 e -29,55 para as espécies  $\text{Ni}(\text{OH})_2$  e  $\text{Ni}(\text{OH})_3$ , respectivamente.<sup>94</sup>



As principais interações que ocorrem entre o íon metálico bivalente níquel e o ácido húmico são com os grupos ftálico, catecol e salicílico. Nota-se que dos íons metálicos estudados até agora o níquel é o que mais interage com as espécies presentes no AH. O mesmo já interage bem desde a faixa de pH mais ácida. Tem-se nessa faixa de pH, interações com o grupo salicílico na forma protonada, o início das interações com o grupo catecol protonado e o com o grupo ftálico, que nessa faixa de pH estudada é o grupo que atinge 61% de formação. Posteriormente o íon metálico interage com fenol, com as formas combinadas de ftálico e catecol, ftálico e salicílico e também com 2:1 de catecol e a espécie que apresenta uma maior porcentagem de formação na faixa alcalina é a  $[\text{Ni}(\text{HCat})]^+$  que atinge cerca de 59% em pH 8,0. Acima de pH 11,0 as formas hidrolisadas de níquel prevalecem.

Na **Figura 25** é apresentado o espectro de FTIR para o AH e o AH complexado com o íon metálico  $\text{Ni}^{2+}$  em três diferentes regiões de pH (5,0, 7,0 e 9,0). Os descolamentos para os mesmos são exibidos na **Tabela 12**.

Figura 25. Espectro de FTIR (onde: • representa o AH e os sistemas Ni(II) + AH em • pH 9,0 • pH 7,0 e • pH 5,0).

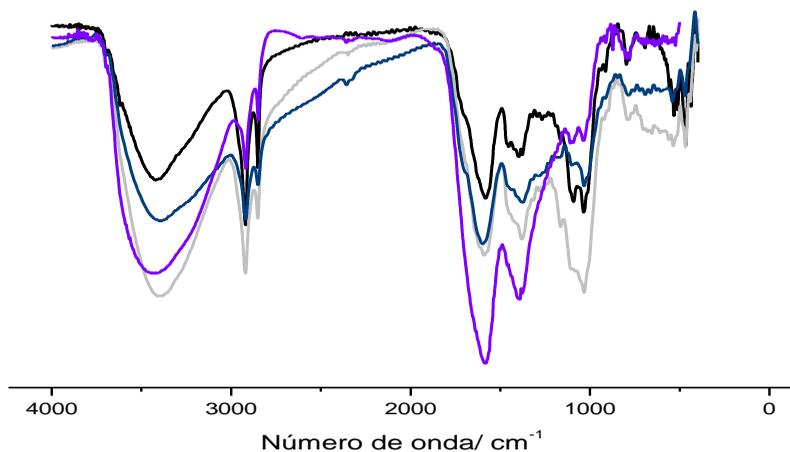


Tabela 12. Deslocamentos das bandas dos espectros de FTIR para o AH e o AH + Ni(II) para diferentes pHs.

Amostra	$\nu\text{O-H (cm}^{-1}\text{)}$	$\nu\text{CH}_2\text{CH}_3 \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	$\nu_{as}\text{COO}^-$ e $\nu\text{C=C (cm}^{-1}\text{)}$
<b>AH</b>	3428	2918 e 2849,6	1585
<b>Ni+ AH pH 5</b>	3398	2920 e 2851	1595
<b>Ni + AH pH 7</b>	3398	2920 e 2851	1590
<b>Ni + AH pH 9</b>	3410	2920 e 2851	1583

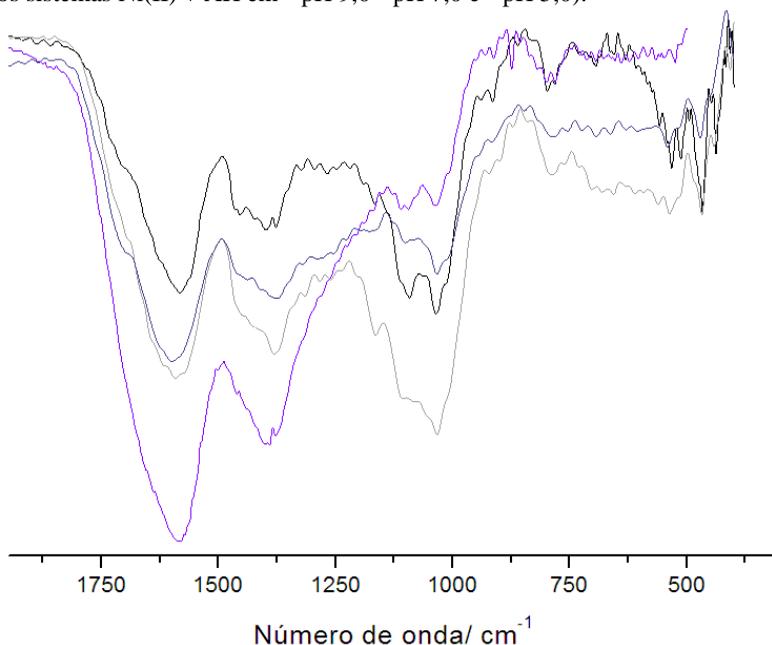
Fonte: Elaborada pela autora (2018).

Para as bandas referentes ao estiramento O-H, nota-se que para os pHs 5,0 e 7,0 os deslocamentos são idênticos (comparados com o estiramento OH do AH não complexado). Pode-se explicar isso através do gráfico de distribuição de espécies, onde para os dois pHs temos as mesmas espécies ( $[\text{Ni}(\text{HSal})]^+$ ,  $[\text{Ni}(\text{HCat})]^+$  e  $[\text{Ni}(\text{Fta})]$ ), porém em proporções diferentes. Nestas faixas de pH temos as espécies que encontram-se protonadas ligadas ao  $\text{Ni}^{2+}$  fazendo com que ocorra um

descolamento da banda para regiões de maior energia. Para o pH 9,0 observa-se um descolamento um pouco menor, pois o íon Ni(II) está complexado com espécies que já perderam seu próton e o grupo OH formando uma ligação O-Ni. Porém, o Ni(II) também está complexado com grupos protonados, mas em menor quantidade, assim ocorrendo um descolamento da banda, quando comparado aos outros pHs.

Observa-se que os deslocamentos referentes ao  $\nu\text{CH}_2\text{CH}_3$  não são significativos. Nota-se ainda que para os espectros complexados com o metal a presença de um ombro na região de  $1700\text{-}1705\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento C=O. Essa banda pode ser melhor observada na **Figura 26**, que foi ampliada da **Figura 25**.

Figura 26. Espectro na região do infravermelho, do sistema AH + Ni(II), com ênfase na parte de menores números de onda (onde:  $\bullet$  representa o AH e os sistemas Ni(II) + AH em  $\circ$  pH 9,0  $\square$  pH 7,0 e  $\blacktriangle$  pH 5,0).

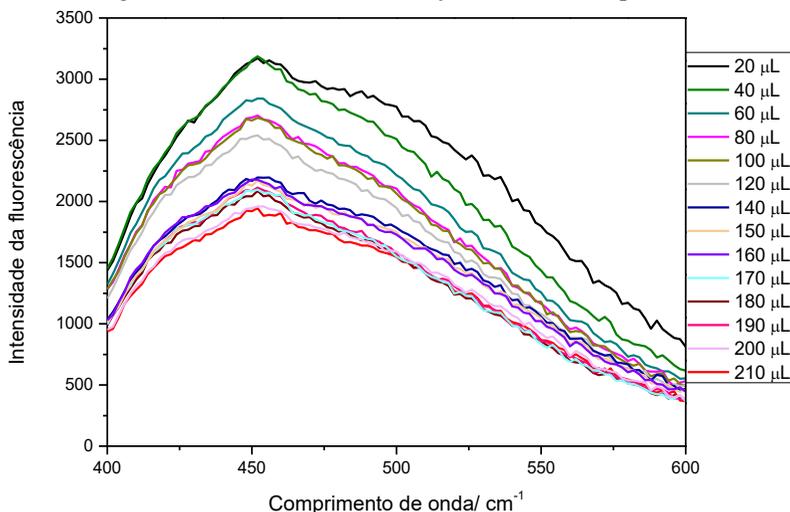


Bandas referentes aos números de onda em  $1100$  e  $1033\text{ cm}^{-1}$  sofrem alterações, mas em pH 5,0 não se nota uma mudança tão grande quanto para o pH 7,0. Em pH 7,0, tem-se o começo das espécies fenólicas sendo formadas, ( $[\text{Ni}(\text{HCat})]^+$  e  $[\text{Ni}(\text{Fen})]^+$ ) e em 9,0 tem-se também a

espécies [Ni(Cat)]. Por essa banda ser características de estiramentos C-O de álcoois e/ou fenóis, e neste caso temos grupos fenol complexando com o íon metálico, temos então uma alteração da banda proveniente da interação do fenol com o Ni. Observa-se ainda a presença de bandas bem no começo do espectro, nas regiões de  $616$  e  $530\text{ cm}^{-1}$ , quando é adicionado o metal. Estas são atribuídas aos estiramentos Ni-OH e Ni-O, respectivamente.<sup>93,95</sup>

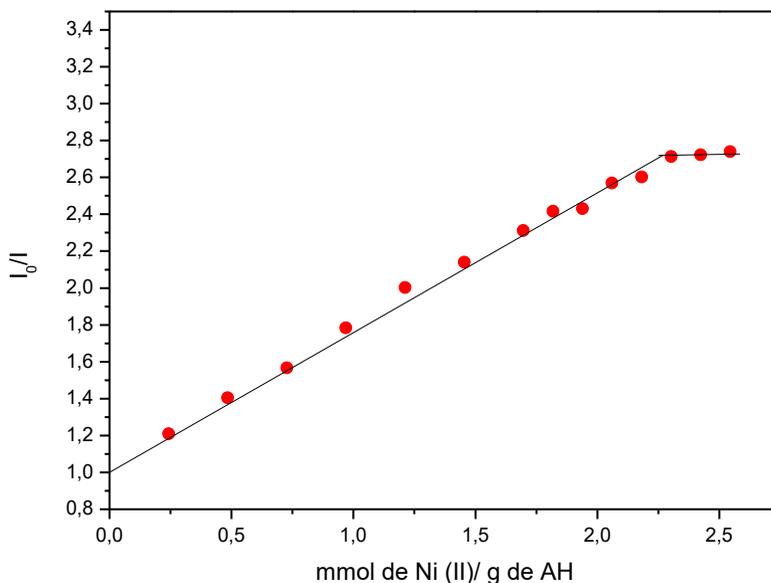
Outra análise realizada para a confirmação dos cálculos realizados para a especiação do sistema é através da técnica de fluorescência. O espectro de emissão de fluorescência é apresentado na **Figura 27**, onde o comprimento de onda de excitação é de  $366\text{ nm}$ .

Figura 27. Espectro de emissão de fluorescência ( $\lambda_{\text{EXC}} = 366\text{ nm}$ ) para AH ( $0,0398\text{ g L}^{-1}$ ) com diferentes concentrações de Ni(II) em pH 6,0.



Nota-se que maiores volumes de níquel vão inibindo a fluorescência, como ocorreu para os outros metais estudados. Através deste espectro plotou-se o gráfico de S-V para esse sistema (**Figura 28**).

Figura 28. Gráfico de Stern-Volmer para o sistema AH-Ni(II) em pH 6,0.



Através da intersecção das retas obtidas do gráfico de S-V, obtém-se o valor de 2,26 mmols de níquel por grama de AH. Isso significa que a partir dessa quantidade do metal forma-se um platô indicando que os grupos ftálicos, salicílicos e catecol foram saturados de metal (**Figura 23**, p.71). A soma dos mmols dos grupos ftálico, salicílico e catecol é de 2,23 mmols (**Tabela 5**, p. 55), que é próxima ao valor encontrado pelo gráfico de S-V.

#### 5.2.4 Sistema AH+ Mn(II) + Co(II) +Ni(II)

Com os resultados de todas as matrizes, inseriu-se as constantes de formação de todos no programa SPECIES e observou-se a competição dos três metais pelos sítios de coordenação do AH. As condições colocadas no programa são as mesmas dos sistemas anteriores (0,03 mmols de cada metal e os mmols para cada espécie encontrados através do cálculo da matriz orgânica sozinha). As **Figuras 29-32** demonstram a distribuição das espécies observadas.

Figura 29. Distribuição da espécie fenol mostrando a competição entre os metais Mn(II), Co(II) e Ni(II).

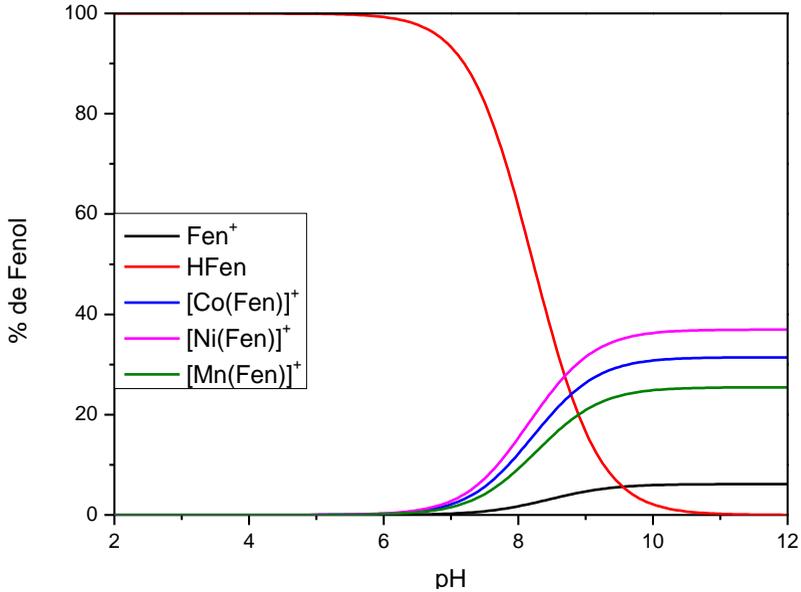


Figura 30. Distribuição da espécie catecol mostrando a competição entre os metais Mn(II), Co(II) e Ni(II).

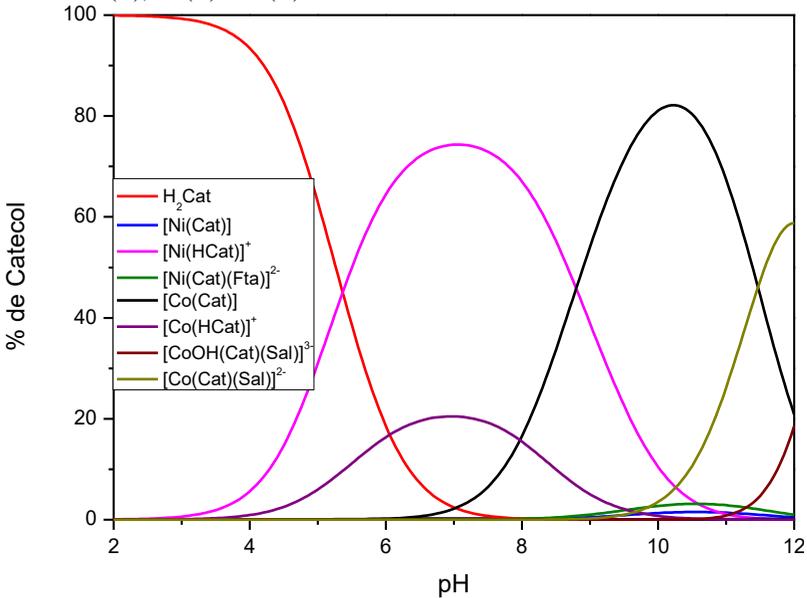


Figura 31. Distribuição da espécie ftálico mostrando a competição entre os metais Mn(II), Co(II) e Ni(II).

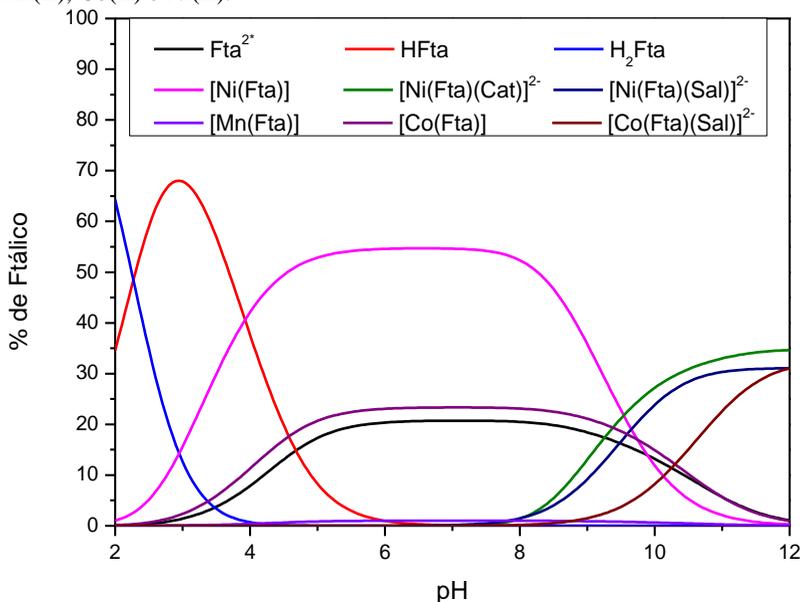
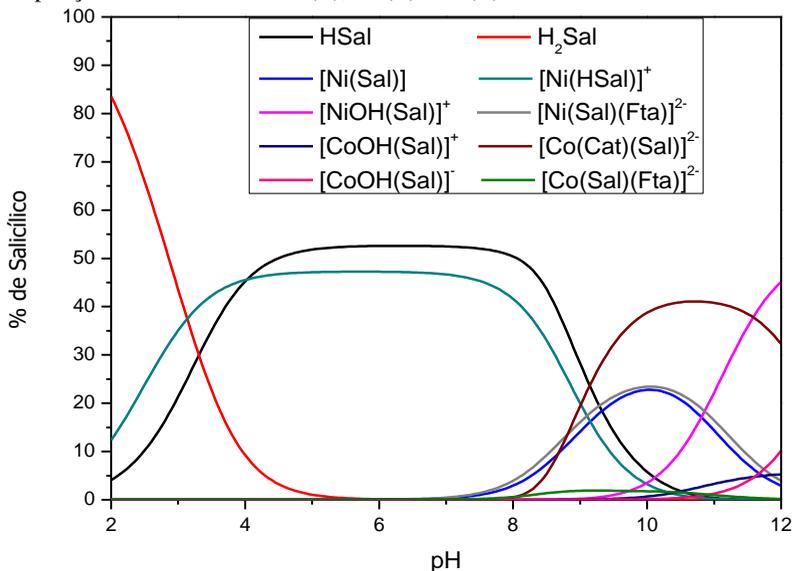
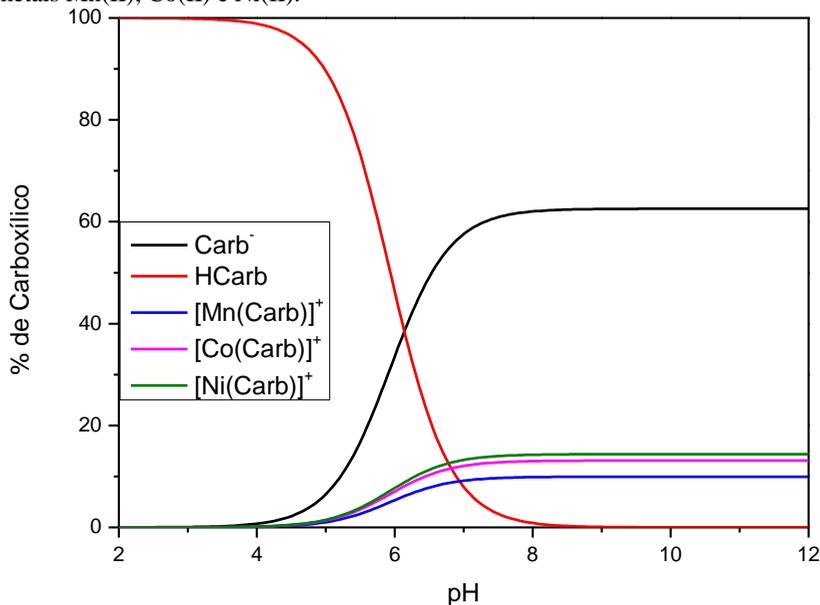


Figura 32. Distribuição das interações do grupo salicílico mostrando a competição entre os metais Mn(II), Co(II) e Ni(II).



Nas condições impostas nos sistemas calculados para as espécies anteriores a formação com o grupo carboxílico não ocorre, porém, quando se adiciona uma maior quantidade dos metais, essas interações começam a aparecer. Como a soma de todas as espécies é igual a 4,00 mmols, colocou-se 4,00 mmols de cada metal para poder ver a competição entre eles com o carboxílico. Esta distribuição das espécies em função da quantidade de grupos carboxílicos totais é apresentada na **Figura 33**.

Figura 33. Distribuição da espécie carboxílico mostrando a competição entre os metais Mn(II), Co(II) e Ni(II).



Nota-se que, como esperado, as interações entre o fenol e os metais começam a aparecer na faixa de pH alcalino (**Figura 29**). Sendo que o íon metal que interage mais fortemente com o fenol é o níquel, posteriormente o cobalto e por último manganês.

Na **Figura 30**, para as interações entre o grupo catecol nota-se que os íons níquel e cobalto interagem tão fortemente que não aparecem espécies complexadas com o manganês. Essa situação se repete com o grupo salicílico (**Figura 32**). Para o ftálico, a espécie  $[Mn(Fta)]$  forma-se com um quantidade muito insignificante, as espécies formadas com os outros íons metálicos prevalecem (**Figura31**).

Para o sistema com o grupo carboxílico, observa-se que todos os metais interagem com a espécie (**Figura 33**). Porém, foi necessário um excesso de metal para as mesmas começarem a aparecer. Pois as outras espécies complexam-se muito mais do que o ácido carboxílico.

Um fato relevante das competições entre as espécies é que as espécies biquelantes formam-se em uma maior porcentagem (interagem mais fortemente) do que as espécies monodentadas. Isso é esperado, e esse acontecimento ocorre devido ao efeito termodinâmico de entropia. Uma vez que, entropicamente falando, espécies bidentadas aumentam a entropia do sistema quando fazem a substituições de dois ligantes no complexo, liberando-os para o meio, enquanto ocorre a entrada de apenas um ligante na molécula.

Para os sistemas, também, observa-se o efeito entálpico causado pela matriz orgânica. Pegando os valores das constantes de formação retiradas da literatura<sup>83</sup> e os valores obtidos neste trabalho, temos a **Tabela 13**.

Tabela 13. Constantes de formação retiradas da literatura para os grupos fenol, carboxílico, catecol, ftálico e salicílico com os íons metálicos Mn(II), Co(II) e Ni(II) e as obtidas neste trabalho. (25°C e força iônica 0,1).

Espécie	Fenol	Carboxílico	Catecol	Ftálico	Salicílico
$\frac{[MnL]}{[Mn][L]}$	2,60 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	7,86 <sup>a</sup>	1,92 <sup>a</sup>	5,9 <sup>a</sup>
$\frac{[MnL_2]}{[MnL][L]}$	-/-	-/-	5,46 <sup>a</sup>	-/-	3,7 <sup>a</sup>
$\frac{[CoL]}{[Co][L]}$	2,72 <sup>a</sup>	0,86 <sup>a</sup>	8,84 <sup>a</sup>	2,03 <sup>a</sup>	7,2 <sup>a</sup>
$\frac{[CoL_2]}{[CoL][L]}$	-/-	-/-	6,46 <sup>a</sup>	-/-	3,7 <sup>a</sup>
$\frac{[NiL]}{[Ni][L]}$	2,78 <sup>a</sup>	0,88 <sup>a</sup>	9,23 <sup>a</sup>	2,17 <sup>a</sup>	7,4 <sup>a</sup>
$\frac{[NiL_2]}{[NiL][L]}$	-/-	-/-	6,16 <sup>a</sup>	-/-	4,6 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> NIST<sup>85</sup>

<sup>b</sup> Este trabalho.

Comparando as constantes de formação obtidas neste trabalho e as retiradas da literatura observa-se um aumento em todas as constantes. Assim, associando o efeito entrópico causado pela matriz, uma vez que temos menos moléculas de água solvatando a matriz orgânica do que para os ligantes sozinhos. Portanto, tem-se uma menor energia de solvatação para o AH.

Comparando os resultados obtidos com a série de Irving-Williams (onde a ordem de estabilidade é  $Ba(II) < Sr(II) < Ca(II) < Mg(II), Mn(II) < Fe(II) < Co(II) < Ni(II) < Cu(II) > Zn(II)$  <sup>96</sup> e com a teoria de ligação do campo ligante<sup>97</sup>, através das energias de estabilização do campo ligante (EECL) (para o:  $Mn^{2+}$ , em um sistema  $d^5 (t_2g^3 eg^2)$  octaédrico, a  $EECL = 0 \Delta_o$ ;  $Co^{2+}$ , um sistema  $d^7 (t_2g^5 eg^2)$  octaédrico, a  $EECL = -0,8 \Delta_o$  e  $Ni^{2+}$ , um sistema  $d^8 (t_2g^6 eg^2)$  octaédrico, a  $EECL = -1,2 \Delta_o$ ), observa-se que os resultados obtidos são consistentes com as teorias. Na série de Irving-Williams,  $Ni(II)$  é o metal com a maior constante de estabilidade, seguido pelo  $Co(II)$  e por fim o  $Mn(II)$ , quando analisam-se os mesmos grupos funcionais, também é observado a maior estabilidade do níquel, seguido de cobalto e por fim manganês na formação de complexos.

## 6 CONCLUSÃO

O programa BEST7 mostrou-se uma boa ferramenta para determinar os mmols de cada grupo orgânico presente no AH. Essa quantidade foi confirmada por inibição da fluorescência. E sendo observadas as bandas características dos mesmos através da espectroscopia de FTIR. O software, também demonstrou-se um bom mecanismo para determinar as constantes de formação das interações entre esses grupos orgânicos com os íons metálicos, utilizando os dados obtidos da titulação potenciométrica.

O software Species mostrou-se um bom recurso para a obtenção dos gráficos de distribuição das espécies de formação entre o AH e os íons metálicos.

Ao adicionar os íons metálicos na matriz orgânica, notou-se que a curva de titulação desloca, significando que os mesmos interagem com o AH. Dentre os metais estudados o íon metálico bivalente Ni(II) demonstrou-se possuir uma maior interação com a MO, seguido pelo Co(II) e o Mn(II).

As principais espécies formadas para o Ni(II) foram: [Ni(Fta)] em pH ácido, chegando a atingir 61% de formação e [Ni(HCat)]<sup>+</sup> em pH alcalino, com o máximo de 59% de formação. Esse cátion em pH 2 encontra-se 80% livre e vai diminuindo em valores de pH mais elevados.

Para o Co(II) as principais espécies foram: [Co(Fta)] em pH ácido, atingindo 54% de formação, e [Co(Cat)] em pH básico, com 67%. O Co(II) em pH 4,0 ainda encontra-se 90% na sua forma livre.

Para o Mn(II) a espécie que atinge uma maior formação (50%) é com o fenolato ([Mn(Fen)]<sup>+</sup>), em pH alcalino. Em pH 6,5 este ainda se encontra 90% livre.

Os dados obtidos mostram que o íon metálico Ni(II) é o melhor ácido de Lewis quando comparado com os outros dois íons metálicos estudados, pois esse começa a interagir em pHs mais ácidos.



## REFERÊNCIAS

1. AHMED, S. E. et al. Scientists and software – surveying the species distribution modelling community, **Diversity and Distributions**, v. 21, p.258–267, 2015.
2. STEVENSON, F. J. **humus Chemistry: genesis, composition and reaction**. 2. Ed. New York: John Wiley & Sons, 1994.
3. BRADY, N.C.,WEIL R.R. **The Nature and Properties of Soils**, 14 Ed. Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall, 2008.
4. SYLVIA, D.M., et al. **Principles and Applications of Soil Microbiology**, Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall, 1998
5. PRAKASH, A., MACGREGOR, D.J., **Aquatic and Terrestrial Humic Materials**, Woburn: Ann Arbor Science 1983
6. LOBARTINI, J. C., et al The geochemical nature and agricultural importance of commercial humic matter, **The Science of the Total Environment**, v.113: p.1-15, 1992.
7. ZHOU, P. et al. Competitive complexation of metal ions with humic substances. **Chemosphere**, v.58, p.1327–1337, 2005.
8. SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. **A state of the art structural concept for humic substances**. *Naturwissenschaften*, v.80, p. 29-30. 1993.
9. KONOVA, M. M., **Soil Organic Matter, its nature, its role in soil formation and soil fertility**: Pergamon Press, Oxford, 1966.
10. KORDEL, W., et al, The Importance of Natural Organic Matter for Environmental Processes in Waters and Soils. **Pure and Applied Chemistry**, v.69, p.1571-1600, 1997.
11. PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais** :São Paulo: Nobel, 1979
12. ALLOWAY, B.J. **Heavy metals in soils**. London: Blackie Academic & Professional, 1995.

13. FRANCHI, J. G. et al. Turfa utilizada na recuperação ambiental de áreas mineiradas: Metodologia para avaliação laboratorial. **Revista Brasileira de Geociências**. v.33(3), p.255-262. 2003
14. KRUPEK, F. S., et al, Procedimento analítico para classificação de substâncias húmicas empregadas em fertilizantes organominerais, Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas: Matéria orgânica e qualidade ambiental, 10, 2013, Santo Antônio de Goiás, Anais Brasília: Embrapa, 2013, 401-404p.
15. MELO, C. A., et. al, Capacidade de complexação e de liberação de micronutrientes em amostras de substancias húmicas de turfas, Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas: Matéria orgânica e qualidade ambiental, 10, 2013, Santo Antônio de Goiás, Anais Brasília: Embrapa, 2013, 377-381p.
16. SOUZA, J. S. I. et al, **Enciclopédia agrícola brasileira: S-Z**, São Paulo: EdUSP, 1995.
17. FRANCHI, J. G. **A utilização da turfa como adsorvente de metais pesados: o exemplo de contaminação da bacia do rio Ribeira de Iguape por chumbo e metais associados**. 2004. Tese (Doutorado em Geoquímica e Geotectônica) – Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
18. SIERRA, M. M. S. Application of potentiometry to characterize acid and basic sites in the humic substance. Testing the BEST7 program with a weak- acid mixtures. **Analítica Chimica Acta**, v.445, p. 89-98, 2001.
19. SHOTYK, W. Review of the inorganic geochemistry of the peats and peatland waters. **Earth-Science Reviews**. v. 25, p. 25-176. 1988
20. CUNHA, T. J. F., *et al*. Fracionamento químico da matéria orgânica e características de ácidos húmicos de solos com horizonte a antrópico da Amazônia (Terra Preta). **Acta Amazônica**. v 37(1), p. 91-98. 2007.

21. STEVENSON, F. J. **Humus chemistry**. New York: John Wiley & Sons .1982.
22. BLOOM, P. R. et al. Aluminum organic matter in acid soils: buffering and solution aluminum activity. **Soil Science Society of America Journal.**, v.43. p.488-493. 1979.
23. THOMAS, F. et al. Aluminum (III) speciation with hydroxy carboxylic acid. <sup>27</sup>Al NMR study. **Environmental Science & Technology.**, v.27, p.2511-2516. 1993.
24. COSTA, T.G. et al. Equilibrium studies of the interactions of Zn (II) and Cu (II) ions with humic acid by potentiometric titration, IR and fluorescence spectroscopy. **Southern Brazilian Journal of Chemistry**. v. 16, p.1-10. 2008
25. ZANG, J. et al. Mechanism study of humic acid functional groups for Cr(VI) retention: Two-dimensional FTIR and <sup>13</sup>C CP/MAS NMR correlation spectroscopic analysis. **Environmental Pollution**. v.255. p.86-92. 2017.
26. BARCELÓ, D. Occurrence, handling and chromatographic determination of pesticides in the aquatic environment. **Analyst**, v.116, p.681-689. 1991.
27. SANTOS, T. C. R., et al. Multiresidue analysis of pesticides in water from rice cultures by on-line solid phase extraction followed by LC-DAD. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v.70, p.19-28, 1998.
28. NIEDERER, C., et al. Sorption equilibrium of a wide spectrum of organic vapors in Leonardite humic acid: experimental setup and experimental data. **Environ Sci Technol.** ,v.40, p.5368-5373. 2006
29. ROCHA, J. C., et al. Reduction of Mercury (II) by tropical river humic substances (Rio Negro) – A possible of the mercury cycle in Brazil. **Talanta**, v.53, p.551-559, 2000.
30. WERSHAW, R. L. Model for humus in soils and sediments. **Environmental Science & Technology** , v.27, p.814-816, 1993

31. TIPPING, E. **Cation binding by humic substances** (Cambridge environmental chemistry series, Vol. 12). New York: Cambridge University Press, 2002.
32. MACCHARTHY P. The principles of humic substances an introduction to the first principles. In: GHABBOUR, E. A., DAVIES, G. **Humic substances- Structure, models and functions**:. Special Edtion. Cambridge: Royal Chemistry Society, 2001.
33. MINDERMAN, G. Addition, decomposition and accumulation of organic matter in forests. **Journal of Ecology**.v.56(2), p.355-362, 1968.
34. De MENEZES, C. R., BARRETO, A. R. Biodegradação de resíduos lignocelulósicos por fungos basidiomicetos: Caracterização dos resíduos e estudo do complexo enzimático fúngico. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**. v.19(2), p. 1365-1391, 2015.
35. CARDOSO, E. J. B. N. *et al.* **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, 1992.
36. STEVENSON, F. J.; COLE, M. A. **Cycles of soils: carbon, nitrogen, phosphorus, surfur, micronutrientes**: New York John Wiley & Sons, 1999.
37. MALCOLM, R. L. The uniqueness of humic substances in each of soil, stream, and marine environments. **Analítica Chimica Acta**, v.232, p.19-30, 1990.
38. ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. **Substâncias Húmicas aquáticas. Interação com espécies metálicas**: São Paulo, UNESP, 2003.
39. STEVENSON, F. J. **Humus chemistry, composition and reaction**. New York: John Wiley & Sons .1982.
40. CALDERONI, G., SCHNITZER, M. Effects of age on the chemical structure of paleosol humic acid and fulvic acid. **Geochimica et Cosmochimica Acta.**, v.48, p.2045-2051, 1984.

41. SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. **A state of the art structural concept for humic substances**. *Naturwissenschaften*, v.80, p. 29-30. 1993.
42. SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. **Three dimensional models for humic acid and soil organic matter** *Naturwissenschaften*, v.82, p.487-498. 1995
43. Da SILVA, M. R. **Estudos Potenciométricos e Fluorométricos dos Equilíbrios Ácido-Bases e da Complexação de Metais com o Obisdien e Substâncias Húmicas. Contaminação pelos Metais em Sedimentos da Ilha De Santa Catarina (Brasil)**. 1996. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina
44. PICCOLO, A. Differences in high performance size exclusion chromatography between humic substances and macromolecular polymers. In: GHABBOUR, E. A., DAVIES, G. **Humic substances versatile compinents of plants, soil and water**. Cornwall: Royal Society of Chemistry, 2000.
45. PICCOLO, A., CONTE, P. Molecular size of humic substances. Supramolecular associations versus macromolecular polymers. **Advances in Environmental Research**, v.3(4), p.508-521, 2000.
46. HAYES, M. H. B.; CLAPP, C. E. Humic Substances: considerations of compositions, aspects of structure, and environmental influences. **Soil Science**, v.166, p.723-737, 2001.
47. ZHOU, P. et al. Competitive complexation of metal ions with humic substances. **Chemosphere**, v.58, p.1327–1337, 2005.
48. LIPPOLD, H. et al. Competitive effect of iron(III) on metal complexation by humic substances: Characterization of ageing processes, **Chemosphere**, v.67, p.1050–1056, 2007.
49. YOUNG, S. D. Chemistry of heavy metals and metalloids in soils. In: ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils. Trace metals and metalloids in soils and their bioavailability**. 3ªEd: Springer, Dordrecht. 2013.

50. BERNAUS, A., et al. Analysis of sorption and bioavailability of different species of Mercury on model soil components using XAS techniques and sensor bacteria. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.382, p.1541–1548, 2005.
51. MARTELL, A. E., HANCOCK, R. D. **Metal Complexes in Aqueous Solutions**, New York: Springer Science & Business Media, 1996.
52. MARTELL, A. E. Chemistry of Carcinogenic Metals. **Environmental Health Perspectives**, v. 40, p. 207-226, 1981
53. SILVA, I. R; MENDONÇA, E. S. Matéria orgânica do solo. In: NOVAIS, Roberto Ferreira et al. **Fertilidade do solo: Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007.
54. MARTELL, A. E. et al. Structure-stability relationships of metal complexes and metal speciation in environmental aqueous solutions **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.7, p.417-431, 1988.
55. MARTELL, A.E.; MOTEKAITIS, R.J., **Determination and use of stability constants**, New York: VCH Publishers, 1992.
56. KIRKBY, E. A.; RÖMHELD, V. **Micronutrients in plant physiology: functions, uptake and mobility**. Cambridge: Proceedings 543, The International Fertiliser Society, 2004.
57. SARRET G., et al. Zn speciation in the organic horizon of a contaminated soil by micro- X-ray fluorescence, micro- and powder-EXAFS spectroscopy, and isotopic dilution. **Environmental Science and Technology**, v.38, p.2792–2801, 2004.
58. PALÁGYI, S., et al. Sorption desorption and extraction of cadmium from some arable and forest soils. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.269, p.103–113, 2006.

59. LAIR, G. J., et al. Retention of copper, cadmium and zinc in soil and its textural fractions influenced by long term field management. **European Journal of Soil Science**, v.58, p.1145– 1154, 2007
60. ROCHA, J. C., et al. **Introdução a química ambiental**, 2 Ed, Porto Alegre: Bookman, 2009.
61. LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. São Paulo: Edgard Blucher, 2003.
62. UREN, C. N. Cobalt and manganese In: ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils. Trace metals and metalloids in soils and their bioavailability**.3ªEd: Springer, Dordrecht. 2013.
63. PILON-SMITS, E. A., et al. Physiological functions of beneficial elements. **Current Opinion in Plant Biology**, v.12, p.267–274, 2009.
64. ADRIANO, D. C. **Trace elements in terrestrial environments**, 2Ed, New York: Springer, 2009.
65. GONNELLI, C., RENELLA, G., Chromium and Nickel In: ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils. Trace metals and metalloids in soils and their bioavailability**.3ªEd: Springer, Dordrecht. 2013.
66. LOFTS, S., & TIPPING, E. Modelling the solid-solution partitioning of metals in environmental systems. **Environmental Geochemistry and Health**, v.21, p299–304, 1999.
67. WENG, L., et al. Complexation with dissolved organic matter and solubility control of heavy metals in a sandy soil. **Environmental Science and Technology**, v.36, p.4804–4810, 2002
68. TIPPING, E. Humic ion binding model VI: An improved description of the interactions of protons and metal ions with humic substances. **Aquatic Geochemistry**, v.4, p. 3–48, 1998.

69. TIPPING, E. wham--a chemical equilibrium model and computer code for waters, sediments, and soils incorporating a discrete site/electrostatic model of ion-binding by humic substances, **Computers & Geosciences** v, 20, pp. 973-1023, 1994.
70. KOOPAL, L. K., et al. Ion binding to natural organic matter: General considerations and the NICA-Donnan model. **Colloids and Surfaces A**, v.265, p.40–54, 2005.
71. RIEMSDIJK, V. W. H., et al. Modeling the interactions between humics, ions, and mineral surfaces. **Environmental Science and Technology**, v.40, p.7473–7480, 2006.
72. DOIG, L. E., LIBER, K. Nickel speciation in presence of different sources and fractions of dissolved organic matter, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 66, p.169–177, 2007.
73. WORMS, I. A. M.; WILKINSON, K. J., Determination of Ni<sup>2+</sup> using an equilibrium ion exchange technique: Important chemical factors and applicability to environmental samples, **Analytica chimica acta**, v.616, p. 95–102, 2008.
74. INGLE, J.D., CROUCH, S.R. **Spectrochemical analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1988.
75. SCHULMAN, S.G. **Fluorescence and phosphorescence spectroscopy: physicochemical principles and practice**. New York: Pergamon Press, 1977
76. LUIZ, F. C. L. **Estudos de fluorescência estacionária e resolvida no tempo de anestésicos locais e de antibióticos da classe das fluoroquinolonas**. 2009. Tese (Doutorado em Física) - Departamento de Física- PUC-Rio, Rio de Janeiro.
77. VALEUR, B., BERBERAN-SANTOS, M. N. **Molecular Fluorescence. Principles and applications**. 2 Ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH e Co. KGaA, 2012.
78. TCHAIKOVSKAYA, O. N., et al. Quenching of fluorescence of phenolic compounds and modified humic acids by cadmium ions, **Luminescence**, v.31, p. 1098–1102, 2016.

79. SCHWARZENBACH, G; FLASCHKA, H. **Complexometric titrations**. 2. Ed. Great Britain: Methuen & CO LTD, 1969.
80. SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de química analítica**. 8. ed. São Paulo: Cengage, 2010.
81. SZPOGANICZ, B., et al. Caracterização Direta de uma Turfa por Titulação Potenciométrica. Disponível em: <<http://sec.s bq.org.br/cdrom/35ra/resumos/T0091-1.pdf>>. Acesso em: 19 dez. 2017.
82. MOTEKAITIS, R. J., MARTELL, A. E. Program PKAS: a novel lgorithm for the computation of successive protonation constants. **Can. J. Chem.**, v.60, p.168-173, 1982.
83. LEGGETT, D. J. **Computational methods for the determination of formation constants**, New York, Springer Science & Business, 2013.
84. SPECIES: A **spreadsheet program for modeling speciation of soil solution**. Disponível em: <<http://soils.wisc.edu/facstaff/barak/species.htm>> Acesso em: 20 dez. 2017
85. NIST, **NIST Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes Database**, versão 8.0 para Windows, 2004. Software.
86. ALMEIDA, V. R., et al., Equilibrium and Out-Of-Equilibrium Investigation of Proton Exchange and Cu(II) and Zn(II) Complexation on Fungal Mycelium (Trametes hirsuta). **J. Braz. Chem. Soc.**, v.00, p.1-15, 2015.
87. LIU, C., HUANG, P. M. The influence of catechol humification on surface properties of metal oxides In: GHABBOUR, E. A., DAVIES, G. **Humic substances- Structure, models and functions**:. Special EDITION. Cambridge: Royal Chemistry Society, 2001.

88. PERÉZ, M. G., et al. Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, <sup>13</sup>C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy, **Geoderma**, v.118, p.181–190, 2004.
89. SANCHEZ-CORTES, S. et al. pH-Dependent Adsorption of Fractionated Peat Humic Substances on Different Silver Colloids Studied by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy, **Journal of Colloid and Interface Science**, v.198, p. 308–318, 1998.
90. FRANCIOSO, O. et al. Infrared, Raman, and Nuclear Magnetic Resonance (<sup>1</sup>a, <sup>13</sup>C, and <sup>31</sup>p) Spectroscopy in the Study of Fractions of Peat Humic Acids. **Applied Spectroscopy**, v. 50, p.1165-1174. 1996.
91. LIU, Y, et al, Structure-Property Relationship of Manganese Oxides: Highly Efficient Removal of Methyl Orange from Aqueous Solution, **Journal Material Chemistry A**. v.37, p. 19000-19010, 2015.
92. CHEN, H, HE, J. Facile Synthesis of Monodisperse Manganese Oxide Nanostructures and Their Application in Water Treatment. **J. Phys. Chem. C**, v.112, p.17540–17545, 2008.
93. K. NAKAMOTO, **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds**, 6 Ed.:John Wiley & Sons., 2009.
94. BAES, C. F., **The hydrolysis of cations**, New York: John Wiley & Sons, 1976.
95. RAHDAR, A. et al. NiO nanoparticles: synthesis and characterization. **Journal of Nanostructures** v.5, p.145-151, 2015.
96. IRVING,H.; WILLIAMS,R. J. P.; The stability of transition-metal complexes. **Journal of the Chemical Society**, p.3192-3210, 1953.
97. HUHEEY, J. E., et al, **Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity**, 4 Ed: Pearson Education, 2008.

## ANEXO A – INTERFACE DO SOFTWARE BEST 7 (1)

```

MS-DOS Prompt - best7
Microsoft(R) Windows DOS
(C)Copyright Microsoft Corp 1990-2001.

C:\USERS\LAB\DESKTOP\THUAN\PS3204~1\PESQUI~2>Copy Ni(II).txt for004.dat
1 arquivo(s) copiado(s).

C:\USERS\LAB\DESKTOP\THUAN\PS3204~1\PESQUI~2>best7
PROGRAM "BEST"
RAMUNAS J. MOTEKAITIS
VERSION 10/10/91
REAL=8 VARIABLES

FILE USAGE:
FOR001.DAT - OUTPUT
FOR002.DAT - SCRATCH (components)
FOR003.DAT - SCRATCH (log beta values)
FOR004.DAT - INPUT (original data)
ERROR.DAT - (logging OPTION 31)

Do you want input file ECHO (Y/N) ?
OPTIONS:
14=REMOVE OR ADD DATA
16=SILENT MODE(15=RESTORE)
17=SPEED FACTOR( 0)
18=POINTS( 1 53 1)
19=BETA VALUES
20=MILLIMOLLES
21=NORMALITY BASE( .09737)
22=MILLIMOLLES EXCESS ACID( .00000)
23=INITIAL VOLUME( 43.00000)
24 (RETURN)=END OF CHANGES ?
25=PARABOLIC FUNCTION ?
26=APPORTION REMAINDER HYDROGEN TO EXCESS ACID ?
27=READ CURRENT LOG BETA VALUES ?
28=READ CURRENT MILLIMOLLES ?
29-CORRECTION ON PH CALCD( .012)?
30=AUTOREFINE MILLIMOLLES ?
31=ERROR ANALYSIS ?
10 1 .000 3.660 3.713 -.053
4 2 .050 3.760 3.789 -.029
3 3 .100 3.871 3.873 -.002
3 4 .150 3.987 3.965 -.022
3 5 .200 4.106 4.068 -.038
4 6 .250 4.233 4.181 -.052
4 7 .300 4.360 4.307 -.053
4 8 .350 4.491 4.444 -.047
4 9 .400 4.622 4.597 -.025
4 10 .450 4.761 4.765 -.004
4 11 .500 4.908 4.953 -.045
4 12 .550 5.062 5.159 -.097
5 13 .600 5.226 5.375 -.149
5 14 .650 5.405 5.583 -.178
5 15 .700 5.589 5.775 -.186
5 16 .750 5.790 5.951 -.161
4 17 .800 6.010 6.117 -.107
4 18 .850 6.246 6.280 -.034
4 19 .900 6.491 6.448 -.043
4 20 .950 6.762 6.629 -.133
4 21 1.000 7.041 6.835 -.206
5 22 1.050 7.316 7.082 -.234
5 23 1.100 7.582 7.389 -.193
7 24 1.150 7.837 7.752 -.085
5 25 1.200 8.101 8.111 -.010
5 26 1.250 8.353 8.416 -.063
9 27 1.300 8.595 8.666 -.071
5 28 1.350 8.808 8.873 -.065
4 29 1.400 8.999 9.050 -.051
4 30 1.450 9.162 9.286 -.044
4 31 1.500 9.321 9.349 -.028
3 32 1.550 9.472 9.481 -.009

```

## ANEXO B – INTERFACE DO SOFTWARE BEST 7 (2)

```

MS-DOS Prompt - best7
16=SILENT MODE(15=RESTORE)
17=SPEED FACTOR( 0)
18=POINTS( 1 53 1)
19=BETA VALUES
20=MILLIMOLES
21=NORMALITY BASE( .09737)
22=MILLIMOLES EXCESS ACID( .00000)
23=INITIAL VOLUME( 43.00000)
24 <RETURN>=END OF CHANGES ?
25=PARABOLIC FUNCTION ?
26=APPORTION REMAINDER HYDROGEN TO EXCESS ACID ?
27=READ CURRENT LOG BETA VALUES ?
28=READ CURRENT MILLIMOLES ?
29=CORRECTION ON PH CALCD( .012)?
30=AUTOREFINE MILLIMOLES ?
31=ERROR ANALYSIS ?
18 1 -.000 3.660 3.713 -.053
4 2 -.050 3.760 3.789 -.029
3 3 -.100 3.871 3.873 -.002
3 4 -.150 3.987 3.965 -.022
3 5 -.200 4.106 4.068 -.038
4 6 -.250 4.233 4.181 -.052
4 7 -.300 4.360 4.307 -.053
4 8 -.350 4.491 4.444 -.047
4 9 -.400 4.622 4.597 -.025
4 10 -.450 4.761 4.765 -.004
4 11 -.500 4.908 4.953 -.045
4 12 -.550 5.062 5.159 -.097
5 13 -.600 5.226 5.375 -.149
5 14 -.650 5.405 5.583 -.178
5 15 -.700 5.589 5.775 -.186
5 16 -.750 5.790 5.951 -.161
4 17 -.800 6.010 6.117 -.107
4 18 -.850 6.246 6.280 -.034
4 19 -.900 6.491 6.448 -.043
4 20 -.950 6.762 6.629 -.133
4 21 1.000 7.041 6.835 -.206
5 22 1.050 7.316 7.082 -.234
5 23 1.100 7.582 7.389 -.193
7 24 1.150 7.837 7.752 -.085
5 25 1.200 8.101 8.111 -.010
5 26 1.250 8.353 8.416 -.063
9 27 1.300 8.595 8.666 -.071
5 28 1.350 8.808 8.873 -.065
4 29 1.400 8.999 9.050 -.054
4 30 1.450 9.162 9.206 -.044
4 31 1.500 9.321 9.349 -.028
3 32 1.550 9.472 9.481 -.009
3 33 1.600 9.614 9.608 -.006
4 34 1.650 9.753 9.730 -.023
4 35 1.700 9.878 9.849 -.029
4 36 1.750 9.994 9.964 -.030
4 37 1.800 10.102 10.075 -.027
4 38 1.850 10.195 10.179 -.016
4 39 1.900 10.283 10.276 -.007
4 40 1.950 10.365 10.364 -.001
3 41 2.000 10.440 10.444 -.004
3 42 2.050 10.509 10.515 -.006
3 43 2.100 10.573 10.580 -.007
3 44 2.150 10.632 10.638 -.006
3 45 2.200 10.686 10.690 -.004
3 46 2.250 10.735 10.738 -.003
3 47 2.300 10.780 10.782 -.002
3 48 2.350 10.820 10.822 -.002
3 49 2.400 10.857 10.859 -.002
3 50 2.450 10.892 10.893 -.001
3 51 2.500 10.925 10.925 -.000
3 52 2.550 10.957 10.955 -.002
3 53 2.600 10.987 10.983 -.004

SIGMA PH FIT = .028464
27=TOP 36=OUTPUT 45=REFINE 54=OPTIONS 63=COMPUTE 72=STOP ?

```