

*Laboratório de Química
Ambiental e Geoquímica*

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

INVESTIGAÇÃO QUANTITATIVA E QUALITATIVA DA
MATÉRIA ORGÂNICA ASSOCIADA A SEDIMENTOS
MARINHOS, ESTUARINOS E SOLOS.

Rafael Guilherme Silva

Florianópolis-SC
2004



*Laboratório de Química
Ambiental e Geoquímica*

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

INVESTIGAÇÃO QUANTITATIVA E QUALITATIVA DA
MATÉRIA ORGÂNICA ASSOCIADA A SEDIMENTOS
MARINHOS, ESTUARINOS E SOLOS.

Relatório de Estágio Supervisionado
QMC 5510

Rafael Guilherme Silva

Orientadora: Prof. Dr^a. Maria Marta de Souza Sierra

Ao Deus do meu coração,
por me conferir a missão
de estudar o meio ambiente e
contribuir para a evolução
da espécie humana.

*“Conhecerás a felicidade se tua
existência estiver inserida no livro da natureza”
(Amenhotep IV)*

AGRADECIMENTOS

Quero expressar a minha profunda gratidão a todos que, direta e indiretamente, colaboraram para a execução do presente trabalho e contribuíram para que o mesmo fosse concluído. No entanto, devido a uma participação mais direta, sou especialmente grato:

A Professora Dra. Maria Marta de Souza Sierra, pelo apoio, amizade, confiança e orientação dada a este trabalho.

Ao Professor Dr. Eduardo Juan Soriano Sierra e ao NEMAR pela parceria na aquisição dos sedimentos marinhos estudados.

Aos Professores Dr. Luiz Augusto S. Madureira e Dr. Eduardo Carasek, pela ajuda prestada.

A Andreia Neves Fernandes, Thalita Grando Rauen e Janaína Heberle Bortoluzzi, pela amizade, confiança e parceria.

Aos colegas dos laboratórios 214 e 216, amigos de curso, em especial a Vanessa, Dilma e Denice pelo apoio e amizade.

A meus pais e familiares, pela atenção integral, muito carinho e apoio.

Aos Frateres e Sorores pelo amparo e proteção.

Ao Deus do meu coração, pela iluminação e serenidade nos momentos difíceis.

A UFSC e ao Departamento de Química.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE ABREVIATURAS	iv
RESUMO	v
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Formação da Matéria Orgânica.....	1
1.2 Classificação e Importância da Matéria Orgânica.....	1
1.3 Os Sedimentos de Ambientes Marinhos.....	3
1.3.1 Medidas de Carbono Orgânico em Sedimentos.....	4
1.4 Espectroscopia de Fluorescência.....	5
1.4.1 Os Tipos de Espectros de Fluorescência.....	6
1.5 A Micro-extração em Fase Sólida (SPME).....	7
2 OBJETIVOS	8
3 ÁREAS DE ESTUDO	9
4 SEÇÃO EXPERIMENTAL	11
4.1 Reagentes.....	11
4.2 Equipamentos.....	11
4.3 Amostragem.....	11
4.3.1 Coleta dos Sedimentos.....	11
4.3.2 Preparação e Secagem dos Sedimentos.....	12
4.4 Extração e Purificação das Substâncias Húmicas.....	12
4.5 Determinação do Carbono Orgânico nos Sedimentos Marinhos.....	13
4.6 Extração da Matéria Orgânica e Preparação das Amostras para Fluorescência... 14	14
4.6.1 Extração da Matéria Orgânica com Água Destilada.....	14

4.6.2 Extração da Matéria Orgânica com Água do Mar Artificial.....	14
4.7 Procedimentos de SPME.....	15
4.8 Cromatografia Gasosa.....	16
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	17
5.1 Determinação do Carbono Orgânico nos Sedimentos Marinhos.....	17
5.2 Extração e Purificação das Substâncias Húmicas.....	20
5.3 Fluorescência da Matéria Orgânica Associada a Sedimentos Marinhos, Estuarinos e Solos.....	21
5.4 Estudos Preliminares da Cromatografia em Fase Gasosa da Matéria Orgânica Liberada por Sedimentos e Solos para a Água.....	27
6 CONCLUSÃO.....	33
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

LISTA DE FIGURAS

1 Mecanismo de Formação das SH (adaptado de Stevenson, 1994).....	2
2 Transições eletrônicas responsáveis pela fluorescência.....	6
3 Pontos de coleta dos sedimentos na Bacia de Campos – RJ (Fonte: MAPEM).....	9
4 Vista aérea do Manguezal do Rio Ratoles. (cortesia NEMAR – UFSC).....	10
5 Fluxograma da separação das SH (IHSS).....	13
6 Ilustração do processo de pré-concentração por agitação magnética na técnica de micro-extração em fase sólida (SPME).....	16
7 Espectros de emissão de fluorescência do extrato aquoso e alcalino de uma amostra (4F) de sedimento marinho.....	23
8 Espectros de fluorescência dos extratos aquosos de amostra de sedimento marinho (4F), estuarino (3C) e de solo (Horto), assim como um AF (50 mg L ⁻¹) extraído de um sedimento marinho costeiro.....	24
9 Espectros de fluorescência dos extratos alcalinos de amostras de sedimentos marinho (4F), estuarino (3C) e de solo, assim como um AF (50 mg L ⁻¹) extraído de um sedimento marinho costeiro.....	25
10 Espectros de fluorescência dos extratos aquosos de amostras de sedimento marinho (4F), estuarino (3C) extraídos com água do mar artificial, assim como um AF marinho (50 mg L ⁻¹).....	26

11 Cromatograma gasoso do extrato aquoso da MO extraída por SPME de uma amostra de solo (Horto UFSC) em PA.....	28
12 Cromatograma gasoso do extrato aquoso da MO extraída por SPME de um sedimento marinho (4F) em PA.....	28
13 Cromatograma gasoso do extrato aquoso da MO extraída por SPME de um sedimento estuarino (3C) em PA.....	29
14 Cromatograma gasoso do extrato aquoso da MO extraída por SPME de uma amostra de solo (Horto UFSC) em PDMS.....	30
15 Cromatograma gasoso do extrato aquoso da MO extraída por SPME de um sedimento marinho (4F) em PDMS.....	30
16 Cromatograma gasoso do extrato aquoso da MO extraída por SPME de um sedimento estuarino (3C) em PDMS.....	31

LISTA DE TABELAS

1 Fibras comerciais utilizadas para SPME.....	8
2 Fórmula da água do mar artificial.....	15
3 MO e CO das amostras de sedimentos marinhos.....	18

LISTA DE ABREVIATURAS

- MO - Matéria Orgânica
- SH - Substâncias Húmicas
- CO - Carbono Orgânico
- AF - Ácido Fúlvico
- AH - Ácido Húmico
- CHN - Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio
- CT - Carbono Total
- DRIFTS - Espectroscopia de Reflectância no infravermelho com transformada de Fourier
- CI - Carbono Inorgânico
- MOD - Matéria Orgânica Dissolvida
- SPME - Micro-extração em fase sólida
- HS - *headspace*
- IHSS - Associação Internacional de Substâncias Húmicas
- NEMAR - Núcleo de Estudos do Mar – UFSC
- PA - Poliacrilato
- PDMS - Polidimetilsiloxano
- PMI - perda de massa por ignição
- PMI-AD - perda de massa por ignição após descarbonatação
- CHNS - análise elementar de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre
- CHNS-AD - análise elementar após descarbonatação
- MI - Matéria inorgânica
- CI - Carbono inorgânico
- CO-PMI-AD - carbono orgânico, perda de massa por ignição, após descarbonatação
- COD - Carbono orgânico dissolvido

RESUMO

A matéria orgânica (MO) existente em solos, sedimentos e águas naturais apresenta-se como um sistema complexo de substâncias, sujeitas a transformações químicas, físicas e biológicas. Este material pode ser dividido em dois grupos fundamentais, a MO de natureza individual e as substâncias húmicas (SH). O primeiro grupo é formado por restos orgânicos e por produtos do metabolismo animal. As SH são os componentes majoritários do carbono orgânico (CO) em águas, sedimentos e solos. Elas consistem em misturas polidispersas de macromoléculas com diferentes grupos funcionais e são responsáveis por inúmeros processos físicos, químicos e geoquímicos nesses ambientes.

Neste trabalho, características estruturais, espectrais (espectroscopia de fluorescência e cromatografia em fase gasosa) da MO foram analisadas a partir de extratos aquosos e alcalinos de sedimentos marinhos profundos provenientes da Bacia de Campos – RJ, sedimentos estuarinos provenientes do Manguezal de Ratoles (ilha de Santa Catarina), e de uma amostra de solo proveniente do Horto Florestal da UFSC. Especialmente para os sedimentos marinhos, um estudo detalhado da quantidade de CO foi igualmente realizado, avaliando os diferentes métodos adotados.

A técnica da espectroscopia de fluorescência mostrou ser bastante sensível, para identificar as fontes e a evolução da MO nestes ambientes. Extratos alcalinos e aquosos da MO associada aos sedimentos e ao solo mostraram diferenças importantes em suas características espectrais. Sendo que no primeiro caso, os espectros de fluorescência da MO de origem terrestre provocou um deslocamento do $\lambda_{M\acute{A}X}$ para a região do vermelho devido a maior quantidade de SH extraídas, enquanto, que a MO de origem marinha apresentou um $\lambda_{M\acute{A}X}$ mais curto. Esse estudo também demonstrou que a presença de sais podem alterar essas características causando um efeito contrário, deslocamento do $\lambda_{M\acute{A}X}$ para a região do azul.

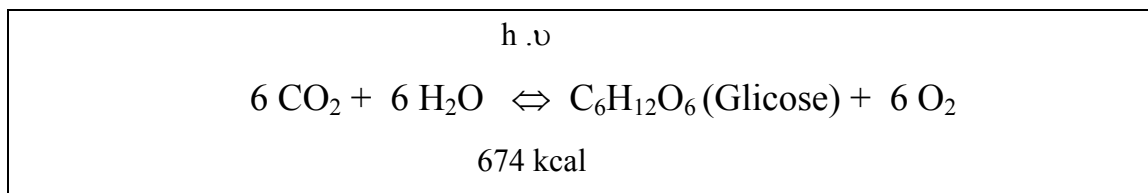
A técnica da micro-extração em fase sólida aliada à cromatografia em fase gasosa mostrou-se uma técnica promissora na identificação dos compostos presentes na MO associada a esse tipo de sedimentos. O uso de fibras comerciais com revestimentos de polaridade variável permitiu identificar a presença de compostos aromáticos e alifáticos em diferentes quantidades nesses sedimentos.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Formação da Matéria Orgânica

A fotossíntese é o processo básico de produção da matéria orgânica (MO) na Terra. Organismos autotróficos primitivos, tais como bactérias e algas foram os primeiros organismos responsáveis pela produção dessa massa. O pré-requisito básico para fotossíntese é a presença da clorofila, o pigmento verde absorvente de luz (Tissot & Welte, 1984).

A fotossíntese converte a energia luminosa em energia química, transferindo um próton da água para o dióxido de carbono para produzir MO na forma de glicose e oxigênio. O oxigênio é proveniente da água e não do dióxido de carbono. A partir da glicose, organismos autotróficos podem sintetizar polissacarídeos, tais como celulose e amido, e todos os constituintes necessários para seu metabolismo. Uma simples forma da equação da fotossíntese é mostrada no esquema abaixo.



1.2 Classificação e importância da Matéria Orgânica

A MO existente nos solos, sedimentos e águas naturais apresenta-se como um sistema complexo de substâncias, cuja dinâmica é governada pela adição de resíduos orgânicos de diversas naturezas e por uma transformação contínua, sob a ação de fatores biológicos, químicos e físicos (Manzatto *et al.*, 1990).

Toda a variedade da MO pode ser dividida em dois grupos fundamentais, a MO de natureza individual e as substâncias húmicas (SH). O primeiro grupo é formado por restos orgânicos e produtos do metabolismo (proteínas e aminoácidos, carboidratos simples

e compostos, ácidos orgânicos, resinas, ligninas e outros). Estes compostos de natureza individual constituem 10 a 15 % da reserva total de MO (Manzatto *et al.*, 1990).

As SH são moléculas orgânicas complexas que são formadas pela decomposição da MO individual. Elas são produtos da degradação oxidativa e subsequente polimerização da MO animal e vegetal (Rauen *et al.*, 2002). A maior parte das SH está associada de diferentes formas com a parte mineral do substrato (solos e sedimentos). Apenas uma pequena porção está em estado livre. Para separá-las é necessário romper essa união. Em geral usa-se fortes soluções alcalinas, sendo que o processo de separação será apresentado posteriormente. Essas substâncias consistem de misturas de macromoléculas com diferentes massas molares e grupos funcionais distintos, sendo responsáveis por inúmeros processos físicos, químicos e geoquímicos nos ambientes naturais. As SH são os componentes majoritários (70 %) do carbono orgânico (CO). A Figura 1 mostra o processo de formação das SH.

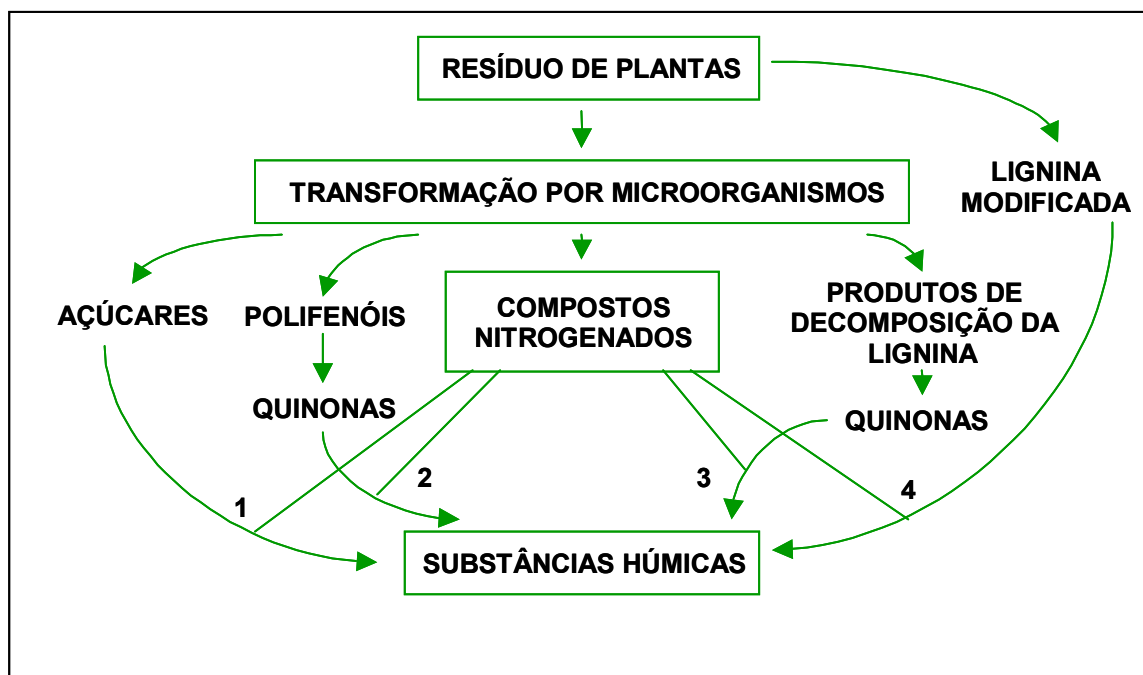


Figura 1 – Mecanismo de formação das SH (adaptado de Stevenson, 1994).

De acordo com suas características de solubilidade as SH são classificadas em: húmica (insolúvel em meio aquoso), ácidos fúlvicos (AF, solúveis em água em qualquer pH), ácidos húmicos (AH, solúveis em água em pH alcalinos e insolúveis em pH ácidos) (Rashid *et al.*, 1985).

As SH contribuem significativamente para a estabilidade e a fertilidade dos ambientes (solos, estuários e sedimentos) onde se encontram pois incrementam a absorção dos nutrientes, ajudam na germinação das sementes, e evitam o escoamento e a erosão. As substâncias adicionadas aos solos, sedimentos e águas naturais, produtos da decomposição dos resíduos orgânicos, ou agroquímicos, como herbicidas, fungicidas e inseticidas interagem com a MO destes ambientes. As SH podem concentrar esses compostos, através de mecanismos de adsorção, ou formar complexos solúveis controlando sua persistência, degradação, toxicidade, biodisponibilidade e mobilidade. As SH interagem igualmente com íons metálicos e formam complexos estáveis devido ao alto teor de grupos funcionais contendo oxigênio, como hidroxilas e carbonilas. As SH desempenham ainda um papel importante em vários setores da economia pela sua importância como fonte de energia (Barros & Rezende, 1994).

1.3 Os sedimentos de ambientes marinhos

Nos oceanos profundos onde a taxa de sedimentação é da ordem de $6 \text{ mg cm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$, apenas alguns centímetros de profundidade podem escrever a história de séculos de deposição de MO (Carvalho *et al.*, 1994). Assim os sedimentos aquáticos preservam um registro das condições ambientais predominantes da época em que a MO foi sedimentada.

A determinação das concentrações de MO em sedimentos é muito usada para explicar o ciclo do carbono em costas e sistemas oceânicos (Canuel & Martens, 1993). Em vista disso, existe um grande interesse em estudar esses sedimentos de modo a buscar a entender as fontes e a evolução da MO nestes ambientes. A estrutura dos sedimentos, os compostos orgânicos e os inorgânicos, assim como os restos de organismos preservados permitem interpretações sobre as condições do ambiente em estudo. Além disso, alguns compostos químicos presentes podem indicar a época da sedimentação e da formação da MO (Wakehan & Canuel, 1990).

Os resultados das análises químicas de constituintes orgânicos sedimentados podem diferenciar, por exemplo, se os compostos são oriundos de dentro ou de fora do ambiente. A matéria sedimentada é considerada autóctone, se ela se origina perto ou no lugar de deposição; ou alóctone, se transportada de outro ambiente. Entretanto, estes termos devem ser usados com cuidado, pois material de origem alóctone geralmente é confundido com plantas terrestres, o que não é verdade. Em manguezais por exemplo, plantas superiores têm grande contribuição autóctone. As partes autóctones normalmente incluem restos de fitoplâncton ou de organismos que se alimentam direta ou indiretamente de fitoplâncton que vive na coluna d'água ou nos primeiros centímetros dos sedimentos (Killops & Killops, 1993).

Não existe ainda um consenso sobre a maneira mais precisa para se avaliar quantitativamente a MO de sedimentos, e vários métodos são empregados.

1.3.1 Medidas de carbono orgânico em sedimentos

O carbono em sedimentos marinhos apresenta-se de duas formas, como carbonatos inorgânicos e na forma orgânica propriamente dita.

A composição elementar, principalmente no que se refere ao conteúdo em CO de sedimentos marinhos é uma informação útil no estudo de processos ambientais, incluindo os ciclos biogeoquímicos e a participação de eventuais contaminantes. A quantidade de CO de fato, reflete a demanda de oxigênio da MO sendo assim um importante parâmetro na estimativa da qualidade destes ambientes. A razão S/C é usada, por exemplo, na determinação da idade dos sedimentos enquanto o conhecimento da concentração de CO é parte fundamental no estudo da sedimentação de partículas em oceanos profundos (Ryba & Burges, 2002). Atualmente os diferentes métodos analíticos têm dado mais importância as concentrações de C e H e à sua biodisponibilidade nos sistemas aquáticos.

Tradicionalmente, o conteúdo de MO tem sido medido por calcinação de uma amostra previamente seca em estufa, com a diferença entre a massa antes e depois da calcinação sendo atribuída ao conteúdo de MO da amostra. Nos trabalhos mais recentes, analisadores de CHN têm sido os mais usados (Leong & Tanner, 1999; Lohse *et al.*, 2000; Ryba & Burgess, 2002; Papadimitrion *et al.*, 2002). Discussões acerca da validade destas

metodologias têm sido frequentemente levantadas (Leong & Tanner, 1999; Lohse *et al.*, 2000; Ryba & Burgess, 2002), principalmente pelo fato de algum carbono não orgânico ser inevitavelmente incluído nessas determinações. Assim tem-se adotado como prática comum acidificar as amostras de sedimentos para remover os carbonatos antes da determinação do CO. Contudo os efeitos da acidificação nas concentrações de H, N, S e O, ainda não foram bem explicados e alguns autores têm mesmo relatado a perda de compostos nitrogenados em amostras de sedimentos submetidos a etapas de descarbonatação com ácidos (Lohse *et al.*, 2000).

A oxidação por via úmida com dicromato de potássio em meio ácido também tem sido empregada por muitos autores há muitos anos (Walkley & Black, 1934; BSI, 1990). Entretanto este é um método dispendioso de tempo e também apresenta suas limitações, sendo uma delas a utilização de reagentes poluidores (Leong & Tanner, 1999).

Recentemente Tung e Tanner (2003) introduziram um método exclusivamente instrumental onde um analisador de CHN é usado para medidas de carbono total (CT) e a técnica de espectroscopia de reflectância difusa com transformada de Fourier (DRIFTS) é usada para avaliação do carbono inorgânico (CI). A diferença entre essas dois valores representa o conteúdo de CO. Este, parece ser, presentemente o método mais promissor, mas necessita evidentemente de equipamento adequado.

1.4 Espectroscopia de fluorescência

A matéria orgânica dissolvida (MOD) nas águas naturais apresenta propriedades óticas. Parte desse material absorve radiação luminosa e a reemite sob a forma de fluorescência. Como já foi mencionado, as SH representam 70 a 85 % da MO dissolvida nos sistemas aquáticos sendo, portanto, os principais responsáveis por este fenômeno (Sierra *et al.*, 1996).

A fluorescência é uma técnica analítica bastante sensível em que as moléculas são excitadas por absorção da radiação eletromagnética. A absorção de um quantum de luz promove a passagem dos elétrons a níveis superiores de energia. Durante o retorno ao estado fundamental, uma parte da energia absorvida é reemitida, sendo este fenômeno

conhecido como luminescência. Se a energia é reemitida a partir do primeiro estado singlete excitado (S_1), o fenômeno corresponde à fluorescência.

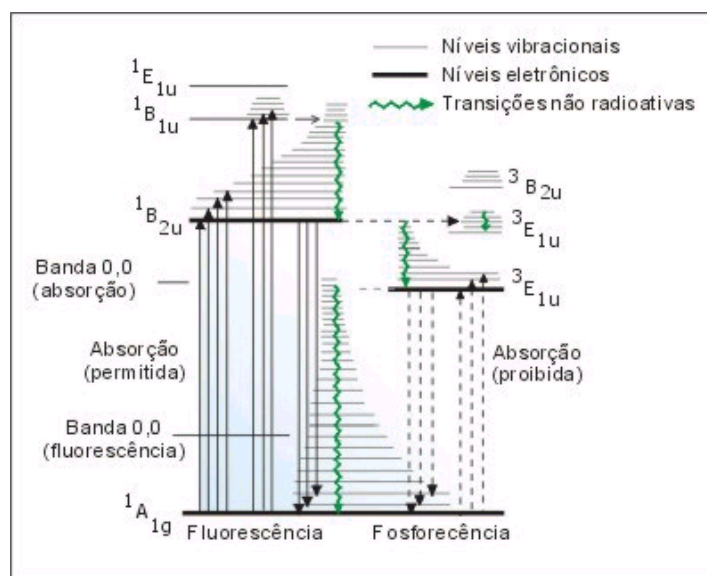


Figura 2 - Transições eletrônicas responsáveis pela fluorescência.

No caso das águas naturais os fluoróforos (compostos naturais responsáveis pela emissão da fluorescência) são bastante diversificados, o que faz que os espectros de fluorescência destas amostras apresentem uma banda larga sem estrutura definida. Estudos nessa área mostram que o $\lambda_{MÁX}$ de fluorescência das águas naturais muda de amostra para amostra, sendo que, em geral, as águas de ambientes continentais apresentam intensidade máxima em comprimentos de onda mais longos do que as dos ambientes marinhos, quando um λ_{EXC} 313 nm é usado (Sierra *et al.*, 1996). Entre os fatores externos passíveis de influenciar a emissão de fluorescência, estão a composição da MO, a temperatura do ambiente, os efeitos dos substituintes e os contaminantes.

1.4.1 Os tipos de espectros de Fluorescência

O Espectro de Emissão: Para obter um espectro de emissão de fluorescência irradia-se a amostra com um comprimento de onda de excitação fixo e mede-se a

intensidade da luz reemitida numa faixa de comprimento de onda. O λ_{EXC} mais adequado para um determinado composto é escolhido de acordo com seu espectro de absorção. Um máximo na absorção corresponde ao comprimento de onda mais adequado para excitação.

O Espectro de Excitação: Para um espectro de excitação de fluorescência, faz-se variar o comprimento de onda de excitação enquanto o de emissão é mantido constante. O λ ideal é aquele que corresponde ao máximo de intensidade do espectro de emissão do composto conhecido.

Em estudos com amostras de águas naturais os λ de emissão e excitação mais utilizados tem sido, respectivamente 313 e 445 nm, por serem os λ mais sensíveis para detectar diferenças na MO associada a estes ambientes (Sierra *et al.*, 1996).

1.5 A micro-extração em fase sólida

A microextração em fase sólida (SPME) é uma técnica de extração introduzida por Arthur e Pawliszyn em 1990. Trata-se de recobrir uma fina haste de sílica fundida de diâmetro de 0,3 mm com um adsorvente. Exemplificando seria como uma coluna capilar de sílica invertida, onde o filme polimérico fica do lado de fora. A técnica envolve duas etapas; estabelecer o tempo de equilíbrio entre a fase estacionária e a matriz da amostra (partição) e otimizar as condições cromatográficas.

A primeira etapa consiste em expor a fibra revestida diretamente à amostra ou ao seu *headspace* (HS), sendo que nesta etapa ocorre a partição dos analitos alvo entre a matriz da amostra e o revestimento. Na segunda etapa, a fibra contendo os analitos concentrados é transferida para o instrumento analítico onde ocorre a dessorção, separação e quantificação dos analitos extraídos. A etapa de dessorção dos analitos geralmente é realizada colocando a fibra no injetor do cromatógrafo aquecido (Motlagh & Pawliszyn, 1993), (Peñalver & Marcé, 1999).

A quantidade de analitos extraídos pela fibra em SPME pode ser afetada por alguns parâmetros, tais como, as características do revestimento, a temperatura e o tempo do processo de extração, a adição de sal ou um solvente orgânico na amostra, modificações de pH, agitação e volume da amostra.

A escolha do revestimento apropriado é muito importante para alcançar uma boa seletividade dos analitos alvo. O princípio “semelhante dissolve semelhante” pode ser aplicado à seleção da fibra. Na Tabela 1 estão representadas, algumas fibras comerciais de SPME.

Tabela 1 - Fibras comerciais utilizadas para SPME.

Composição Química do Recobrimento	Aplicação
Polidimetilsiloxano (PDMS)	Compostos orgânicos pouco polares como COV, HPA e BTEX
Poliacrilato (PA)	Compostos orgânicos polares como triazinas e fenóis

COV = compostos orgânicos voláteis, HPA = hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, BTEX = mistura de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno.

Um dos caminhos que aumenta a quantidade de analitos retidos no revestimento da fibra é o ajuste do pH. O pH da amostra pode ser ajustado para valores que aumentam a presença da forma neutra na extração de analitos ácidos ou básicos como os fenóis e aminas. A adição de sal usualmente aumenta a força iônica da amostra, levando a redução na solubilidade dos analitos que são mais facilmente retidos pela fibra. No entanto, a presença de solventes orgânicos na amostra aquosa usualmente reduz a quantidade de analito extraído devido à competição entre os analitos e o solvente orgânico pela fibra de SPME (Djozan & Hosseinzadeh, 2001).

2. OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são:

- Quantificar o CO presente nos sedimentos marinhos, estuarinos e em solos. Extrair e purificar SH sedimentares, de acordo com o processo recomendado pela Associação Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS).

- Analisar por espectroscopia de fluorescência e por micro-extração em fase sólida (SPME) a MO associada a estes sedimentos.

3. ÁREAS DE ESTUDO

3.1 Bacia de Campos (RJ)

A área conhecida pelo nome da Bacia de Campos tem cerca de 100 mil quilômetros quadrados e se estende do Espírito Santo (próximo a Vitória) até Cabo Frio, no litoral norte do Estado do Rio de Janeiro. Em terra, os limites da bacia podem ser definidos pelos morros que a cercam. Da mesma forma que as cidades, os sítios geológicos e as bacias sedimentares recebem nomes de cidades próximas e a Bacia se encontra próxima a cidade de Campos dos Goytacazes no litoral do estado (Assunção & Aquino, 1981).

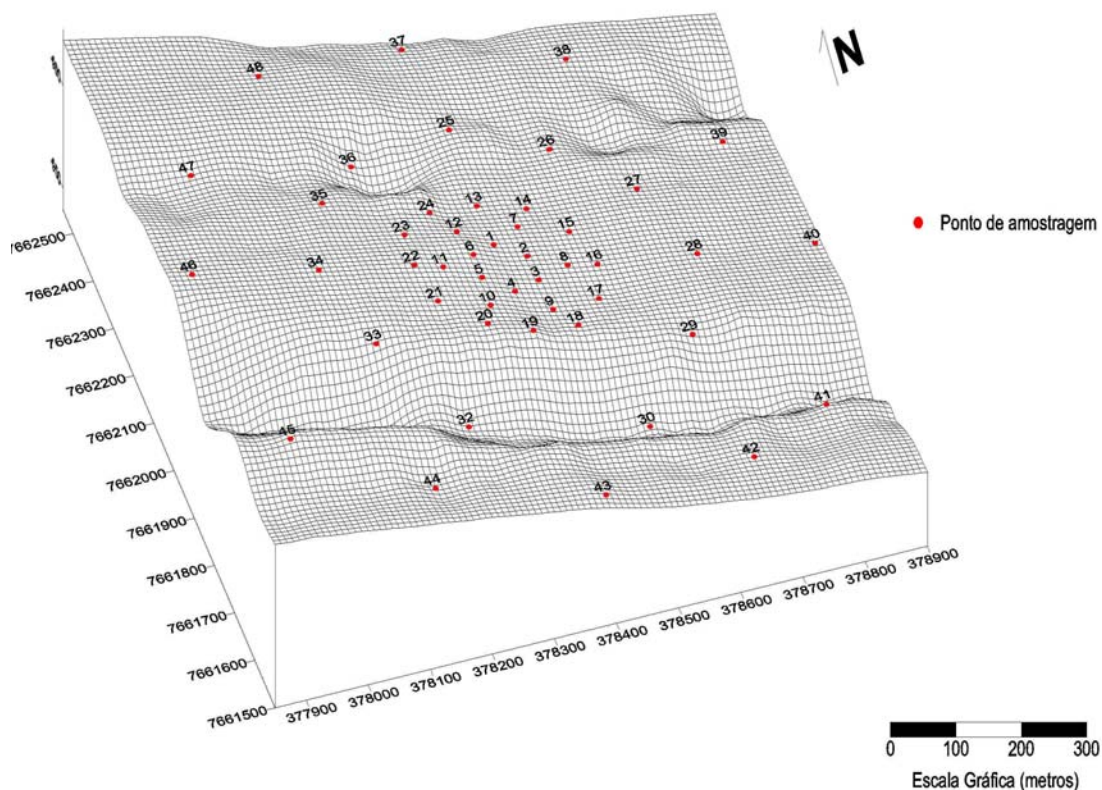


Figura 3 – Pontos de coleta dos sedimentos na Bacia de Campos – RJ (Fonte: MAPEM)

3.2 Manguezal de Ratonés

O manguezal do Rio Ratonés localiza-se ao norte da Ilha de Santa Catarina, ocupando uma área de 6,25 km² fazendo parte da Estação Ecológica de Carijós. Os principais rios que o atravessam são o rio Ratonés e o rio Veríssimo. A vegetação ocorrente é típica do ambiente, onde predominam *Avicennia Schaueriana*, *Laguncularia Racemosa* e *Rhizophora Mangle*. Esse ecossistema apresenta suas características naturais relativamente bem preservadas em função de sua localização (Silva *et al.*, 1990). As amostras provenientes dos pontos de coleta 1, 2, 3 e 7 foram estudadas no presente trabalho.



Figura 4 - Vista aérea do Manguezal do Rio Ratonés. (cortesia NEMAR – UFSC)

Uma amostra de solo foi coletada no Horto Florestal da UFSC.

4. SEÇÃO EXPERIMENTAL

4.1 Reagentes

Os reagentes de grau P.A HCl, HF, NaOH foram adquiridos da Carlo Erba Reagenti. Foram também utilizados: NaCl, Na₂SO₄, KCl, KBr, NaHCO₃, HBO₃ MgCl₂.6H₂O, CaCl₂.2H₂O, SrCl₂.6H₂O para a preparação de água do mar artificial.

4.2 Equipamentos

Utilizou-se um agitador mecânico modelo MQAME 1000-MP da marca Microquímica, rotoevaporador da marca Fisatom, espectrofluorímetro (modelo LS 5B) da Perkin-Elmer

4.3 Amostragem

Os sedimentos foram coletados em pontos distintos da Bacia de Campos (RJ), do Manguezal de Ratonos (ilha de Santa Catarina) e uma amostra de solo proveniente do Horto Florestal da UFSC também foi usada.

4.3.1 Coleta dos sedimentos

Os sedimentos marinhos provenientes da Bacia de Campos (RJ) foram coletados pela equipe do projeto MAPEM – *Monitoramento Ambiental em Atividades de Perfuração Exploratória Marítima*, uma parceria UFRGS/IGEO/CECO e UFSC.

Foram coletados 24 testemunhos de sedimentos com 40 cm de comprimento e 5 cm de diâmetro na região da Bacia de Campos no estado do Rio de Janeiro, dentro de uma área de 20 km² (Figura 3). Cada amostra foi subdividida em duas, a superior (S) compreendendo os primeiros 5 cm e a inferior (F) compreendendo os 35 cm restantes. Devido a semelhanças entre as suas características os testemunhos foram misturados em grupos de

três de acordo com a proximidade dos pontos de coleta. Um conjunto de 8 amostras do tipo (S) e 8 do tipo (F) foram então estudadas.

As amostras do Manguezal de Ratonos foram coletadas em diferentes pontos (Figura 4), do fundo da bacia, da desembocadura do Rio Ratonos e da superfície do Manguezal. As amostras de águas profundas foram coletadas por um mergulhador, munido de um cano de PVC de 100 mm de diâmetro por 100 mm de altura. As amostras da superfície foram coletadas com uma espátula de teflon, por raspagem da superfície do solo. As amostras estudadas neste trabalho foram: 1C, 2C, 3C e 7C.

4.3.2 Preparo e Secagem dos Sedimentos

As amostras dos sedimentos do Manguezal de Ratonos foram processadas no Laboratório de Sedimentologia do Núcleo de Estudos do Mar (NEMAR), sendo as mesmas peneiradas e analisadas granulométricamente.

4.4 Extração e Purificação das Substâncias Húmicas

As SH foram extraídas e purificadas a partir das amostras secas de sedimentos conforme protocolo recomendado pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS).

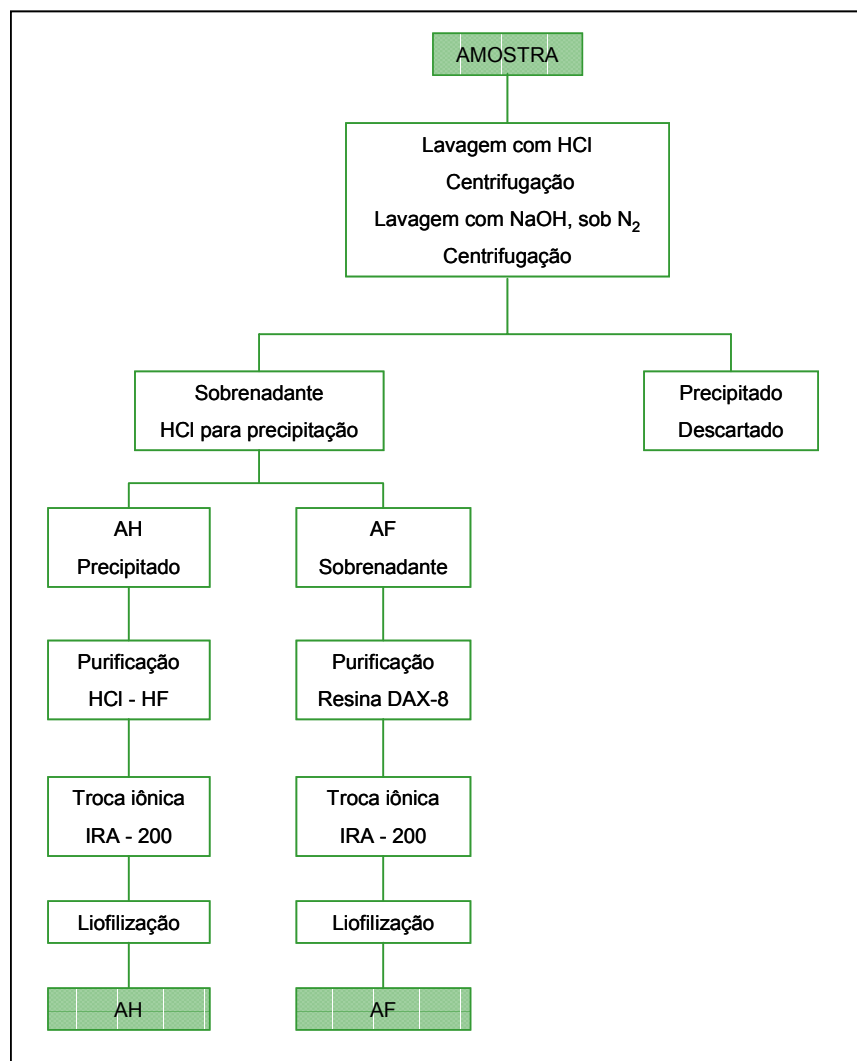


Figura 5 – Fluxograma da separação das SH. (IHSS)

4.5 Determinação do CO nos sedimentos marinhos

O processo da determinação do CO foi realizada de quatro formas diferentes.

Primeiro, amostras de 1 g de sedimento previamente secos em estufa (60 °C) até massa constante foram submetidas a calcinação em mufla à 500 °C por 2 horas.

Segundo, as amostras de sedimentos foram previamente descarbonatadas pela adição de HCl (2 mol L^{-1}), seguido de calcinação à $500 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 horas.

Terceiro, as amostras foram submetidas em estado bruto à análise elementar num analisador de CHNS e finalmente as amostras foram descarbonatadas (HCl, 2 mol L^{-1}) seguido de secagem em estufa ($60 \text{ }^\circ\text{C}$) antes de serem encaminhadas a análise elementar de CHNS.

4.6 Extração da MO e preparação das amostras para fluorescência

A MO associada aos sedimentos marinhos, estuarinos e ao solo foi extraída adotando o processo recomendado pela IHSS (Figura 5).

4.6.1 Extração da MO com água destilada

Em 10 ml de água destilada e fervida foram adicionados 10 g de sedimento, as suspensões foram colocadas sob atmosfera de N_2 por 1 hora e deixadas em repouso por 24 horas. Após esse período a água sobrenadante foi cuidadosamente retirada com ponteiros de vidro, armazenada e submetida a análise por espectroscopia de fluorescência. Foram preparadas no total 22 amostras, 16 amostras de extratos de sedimentos marinhos, 5 de extratos de sedimentos estuarinos e 1 de extrato de solo.

4.6.2 Extração da MO com água do mar artificial.

Foi preparado 1 L de solução de água do mar artificial (Quigley & Vernon, 1996) usando os seguintes reagentes: **Tabela 2** – Fórmula da água do mar artificial.

Parte A – Sais Gravimétricos

Componente	Concentração (g / kg de solução)
NaCl	23,926
Na_2SO_4	4,008
KCl	0,677
NaHCO_3	0,196

KBr	0,098
HBO ₃	0,026

Parte B - (sais volumétricos)

Componente	Concentração (mol / kg de solução)
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,05327
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,01033
SrCl ₂ .6H ₂ O	0,00009

O mesmo procedimento realizado na extração com água destilada foi repetido para a água do mar artificial, e as amostras também foram submetidas a análise por espectroscopia de fluorescência. Foram preparadas no total 22 amostras.

4.7 Procedimentos de SPME

Fibras comerciais de SPME recobertas com poli(acrilato) (PA), de 85 µm de espessura e poli(dimetilsiloxano), (PDMS) de 100 µm de espessura foram obtidas da Supelco (Oakville, ON, Canadá).

As etapas de sorção dos compostos nas fibras de PA comercial e PDMS foram conduzidas por 1 hora onde a fibra foi exposta diretamente a solução que estava em constante agitação.

As etapas de dessorção térmica dos compostos nas fibras de PA e PDMS comercial foram conduzidas por 5 minutos no injetor do cromatógrafo.

Um agitador magnético modelo 257 FANEM foi usado para experimentos de SPME com amostra aquosas dos sedimentos. A fibra de SPME foi colocada ligeiramente ao lado do vórtex formado pela agitação da amostra no frasco, (conforme indicado na Figura 6). A profundidade de imersão foi mantida constante e a solução foi vigorosamente agitada com o auxílio de uma barra magnética; a taxa de agitação foi constante para todas as extrações,

as quais foram conduzidas à temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$). Aos frascos de 16 mL foram adicionados 10 mL de amostra aquosa, e aos frascos de 4 mL foram adicionados 3 mL. Após o período de extração pré-determinado, os compostos contidos na fibra foram termicamente dessorvidos no injetor aquecido do cromatógrafo a gás.

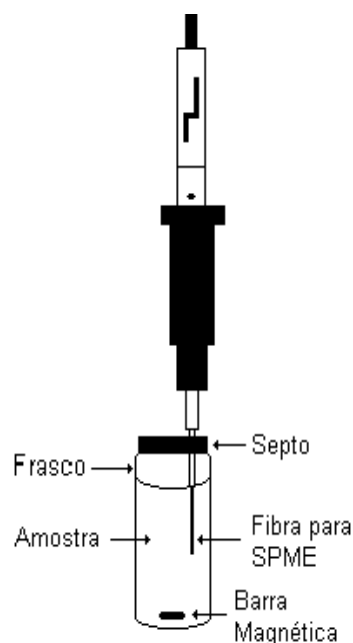


Figura 6 – Ilustração do processo de pré-concentração por agitação magnética na técnica de micro-extração em fase sólida (SPME).

4.8 Cromatografia Gasosa (GC)

As análises para o estudo dos compostos presentes no sedimento foram conduzidas num cromatógrafo a gás Shimadzu 14B, equipado com um detector por ionização em chama (FID) e injetor “split-splitless”. Foi usada uma coluna capilar de sílica fundida BP-1 de $25\text{ m} \times 0,25\text{ mm ID}$ e com a fase de recobrimento de $0,25\text{ }\mu\text{m}$. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio. O programa de temperatura otimizado foi: temperatura inicial de 30°C mantida por 3 minutos; em seguida, a temperatura foi elevada até 280°C a $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e foi mantida nesta temperatura por 3 minutos. O tempo total da corrida cromatográfica foi de 31 minutos. As temperaturas do injetor e detector foram de 280°C .

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação do CO nos sedimentos marinhos

Como citado na introdução, o primeiro dado ou informação que normalmente se busca no estudo da MO de sedimentos é a quantificação do CO, o qual reflete a demanda de oxigênio. Sendo este um importante parâmetro na estimativa da qualidade dos sedimentos. Neste estudo a quantificação de CO das amostras de sedimentos foi feita de quatro modos distintos:

- 1) calcinação direta da amostra seca (perda de massa por ignição PMI).
- 2) calcinação após descarbonatação com HCl (PMI-AD).

Estes dois métodos fornecem uma avaliação quantitativa da MO mais do que do CO uma vez que N, S e P também são perdidos por ignição. Para efeitos práticos considera-se então que a MO é composta de 58 % de CO.

- 3) análise elementar da amostra seca (CHNS).
- 4) análise elementar da amostra seca e descarbonatada (CHNS-AD)

No último caso supõe-se que somente o CO esteja sendo medido. Este método tem sido usado como padrão em alguns trabalhos comparativos (Leong & Tanner, 1999; Ryba & Burgers, 2002). Os valores determinados estão na Tabela 3.

As amostras de sedimentos foram misturadas em grupos de três, devido a pouca quantidade de material e às semelhanças nas suas características gerais. Sempre que possível e quando a quantidade de material permitiu, as medidas foram feitas em triplicata. Estão faltando alguns dados referentes ao CHN, pois o equipamento apresentou problemas na época das análises. Entretanto, com os dados disponíveis já se pôde ter uma idéia da faixa de concentrações das amostras e das diferenças entre os diferentes métodos.

Tabela 3. MO e CO das amostras de sedimentos marinhos. Os valores representam percentuais em massa. Para as abreviações ver o texto.

Amostra	Pontos de Coleta	PMI ¹	PMI-AD	CO-PMI-AD	CHNS	CHNS-AD ²
1F	2-3-5	17,7 ± 0,7	8,3	4,8	3,7	0,8
1S		15,4 ± 0,8	7,1	4,1	3,4	0,9
2F	13-15-17	17,3 ± 0,3	6,6	3,8	3,2	nd
2S		17,9 ± 0,4	7,7	4,5	3,2	1,4
3F	9-17-29	17,4 ± 0,7	6,9	4,0	3,6	0,8
3S		17,4 ± 1,0	7,8	4,5	3,6	0,6
4F	33-21-19	16,7 ± 0,3	8,9	5,2	3,4	1,6
4S		17,3 ± 0,8	7,2	4,2	3,4	nd
5F	35-23-11	17,5 ± 0,7	8,5	4,9	3,2	nd
5S		16,5 ± 0,7	8,9	5,2	3,6	0,9
6F	27-38-39	14,6 ± 0,8	9,2	5,3	3,3	nd
6S		22,4 ± 0,9	12,0	7,0	3,3	nd
7F	42-43-53	20,5 ± 0,5	11,0	6,4	3,6	nd
7S		18,5 ± 0,9	10,0	5,8	3,1	nd
8F	49-50-51	18,6 ± 0,6	7,8	4,5	3,7	nd
8S		17,8 ± 0,3	7,2	4,2	3,1	nd

¹Os desvios padrão são relativos a três replicatas. ²nd = não determinado

O método da calcinação direta em mufla (PMI) é o método mais comumente utilizado na determinação do CO em sedimentos. A temperatura utilizada na calcinação em mufla foi de 500°C por 2 horas (Leong & Tanner, 2003). A perda de massa por ignição variou entre 14,6 % e 22,4 %, valores estes considerados altos para sedimentos marinhos.

Como pode ser visto na Tabela 3, após descarbonatação os valores caíram para 6,6 % a 12 % (redução de 50 %, em média), o que indica que, no primeiro caso, os altos valores eram devido à presença de carbonatos e silicatos, característica essa comprovada pelo aspecto físico dos sedimentos, arenosos e constituídos de restos de conchas e carcaças de moluscos. Fica assim evidente a influência da matéria inorgânica (MI) na quantificação de MO por calcinação direta. Efetivamente, foi observada uma grande efervescência durante o processo de descarbonatação com ácido.

De fato, esses dados mostram que a calcinação direta em mufla não é um método preciso, pois a ignição das frações inorgânicas e orgânicas ocorrem na mesma temperatura (superior a 450°C). Testes com diferentes regimes de aquecimento levaram à conclusão que a perda de carbonato de magnésio, pode iniciar-se já em 400°C de modo que as temperaturas de degradação de CO e de carbono inorgânico (CI) se sobrepõem acima desses valores e a água que ainda pode estar associada ao sedimento também se perde em temperaturas elevadas. Estudos também mostraram que quanto maior a temperatura

utilizada maior a porcentagem de queima de massa (Leong & Tanner, 1999). Consequentemente, uma parte significativa de CI deve estar incluída nos valores obtidos.

Para efeitos práticos considera-se que 58 % da MO é constituída de CO, então os valores de CO encontrados variaram entre 3,8 % e 7 % e estão apresentados na 5ª coluna da Tabela 3, designados como CO-PMI-AD. Estes ainda são considerados altos para sedimentos de ambientes marinhos, considerando as características físicas apresentadas pelas amostras.

Os sedimentos marinhos em estado bruto também foram submetidos à análise elementar de CHNS. Os valores variaram de 3,1 % a 3,7 % (CHNS). Análises elementares envolvem a oxidação da amostras em altas temperaturas (1000°C), incluindo, portanto, espécimes inorgânicos de carbono nas medidas. Além disso a água que ainda pode estar associada ao sedimento também se perde. Assim, uma descarbonatação prévia por acidificação foi novamente realizada e os valores obtidos ficaram entre 0,6 % a 1,6 % (CHNS-AD). Esses valores relativamente baixos estão de acordo com as características físicas apresentadas pelos sedimentos e também comprovados pelo baixo rendimento de SH extraídas. Dados desse tipo tem sido usados como padrão (Tanner *et al.*, 2003). De fato, valores baixos de CO são mais adequados para as amostras estudadas, as quais provém de um ambiente afastado da costa com pouco aporte de MO de origem continental e com baixo nível de produção primária. Tomando os últimos valores como padrão, o conjunto de informações nos leva a concluir que:

→ As medidas de PMI com ou sem descarbonatação não são confiáveis para a determinação de CO em sedimentos marinhos. Não somente CI é perdido durante a calcinação, juntamente com CO, mas também outras espécies inorgânicas como fosfatos, sulfatos e nitratos podem ser parcialmente oxidados nas altas temperaturas levando a uma sobre-estimativa do conteúdo de CO das amostras.

→ O conteúdo de CO dos sedimentos estudados é reduzido (em torno de 1%), o que está de acordo com dados da literatura para sedimentos de águas profundas deste tipo (Tanner *et al.*, 2003)

→ Finalmente, estudos como esse reforçam a necessidade da padronização dos métodos de quantificação de CO, principalmente em amostras de baixos teores de carbono, como sedimentos marinhos profundos. Nesse sentido, o trabalho mais promissor parece ser

aquele recentemente publicado por Tung & Tanner (2003), no qual medidas de CO de sedimentos marinhos por meio de métodos exclusivamente instrumentais são apresentados. Os autores usam um analisador de CHN para as medidas de carbono total (CT) e a técnica de espectroscopia de reflectância difusa com transformada de Fourier (DRIFTS) para as medidas de CI. A diferença entre esses dois valores representa o conteúdo de CO da amostra. Este parece ser, presentemente o método mais preciso para este tipo de análise, necessitando entretanto equipamento adequado.

Nas águas naturais cerca de 30 a 50% do carbono orgânico dissolvido (COD) são representados pelas SH (Thurman, 1985). Mantendo-se esta proporção e considerando-se as perdas operacionais e levando-se em conta o conteúdo medido pelo analisador de CHN após descarbonatação, o percentual de SH dos sedimentos estudados deve-se situar em torno de 0,3 à 0,5 % em massa.

5.2 Extração e purificação das SH

Inicialmente a intenção deste trabalho era extrair SH dos sedimentos marinhos, mas como a quantidade de CO é muito baixa para se obter SH a partir de pequenas quantidades de sedimento, não foi possível obter uma quantidade significativa de SH. Numa amostra de sedimento ou de solo rica em MO, por exemplo, a primeira etapa de extração produz, normalmente, uma solução escura com grande concentração de SH. No caso dos sedimentos marinhos aqui estudados as soluções de extração forma praticamente translúcidas, com pouquíssimo material orgânico, impossibilitando a obtenção de SH na forma sólida, como foram obtidas em amostras de solo e de estuários. Sendo assim o processo de extração recomendado pela IHSS (Figura 5) não pôde ser concluído, sendo efetuado apenas até a extração propriamente dita, sem a purificação dos subprodutos. Alternativas de analisar a MO associada aos sedimentos foram estudadas a fim de tentar identificar os compostos presentes, bem como as fonte da MO nestes ambientes. Considerando-se que um dos processos de maior importância em ambientes aquáticos é a redistribuição da MO entre a fase sólida e a solução através da **floculação-adsorção-desorção** foi feito um estudo deste material em solução, como será mostrado a seguir.

Foram obtidos diferentes extratos desses sedimentos, em água pura, água do mar artificial e em soluções alcalinas (NaOH 0,1 mol L⁻¹), sob atmosfera de N₂. Nos extratos aquoso a intenção foi investigar a natureza espectral da MO liberada em meio aquoso e a pH neutro, e a possível influência dos sais presentes na água do mar artificial. No caso dos extratos alcalinos a busca foi pelas SH propriamente ditas. Para efeitos comparativos, amostras de solo e de sedimentos estuarinos foram também investigadas do mesmo modo. Esses extratos foram submetidos à análise por espectroscopia de fluorescência e micro-extração em fase sólida (SPME) seguida de cromatografia gasosa, a fim de, avaliar as propriedades espectrais e as fontes e a evolução da MO nestes ambientes.

5.3 Fluorescência da MO associada a sedimentos marinhos, estuarinos e solo

As SH são consideradas as principais responsáveis pela fluorescência das águas naturais e estudos realizados com matrizes de excitação-emissão, têm apontado a existência de pelo menos cinco tipos de fluoróforos em águas naturais. Estes fluoróforos ou grupos de fluoróforos se manifestam através de cinco regiões de emissão/excitação chamadas de picos α' , α , β , γ , e δ (Parlanti *et al.*, 2000). Os picos α' e α parecem estar presentes em todas as amostras de águas naturais, independentemente da fonte de MO, sendo que seus pares de Ex/Em são ~ 260 nm/460 nm e ~ 310 nm/440nm, respectivamente. Pequenas variações são observadas entre uma amostra e outra. Estes fluoróforos são atribuídos às SH propriamente ditas. Os picos β , γ , e δ dependem da origem e do grau de humificação (ou amadurecimento) da MO, sendo que o primeiro ($Ex/Em \sim 320$ nm/420 nm) têm sido associado à incidência de material húmico marinho e os outros dois ($Ex/Em \sim 275$ nm/320 nm) têm sido associados à fluorescência de derivados de proteínas tais como os aminoácidos triptofano e tirosina (Parlanti *et al.*, 2000). Por meio da fluorescência clássica como a deste trabalho, não seria possível observar todas essas características, entretanto alguns estudos têm sido mostrado que com λ_{EXC} e λ_{EMI} selecionados, espectros simples de fluorescência têm sido eficientemente usados para localizar massas de água em mar aberto, ao longo de gradientes continentais \rightarrow oceano, assim como para estudar as características de SH de diferentes ambientes. (Sierra *et al.*, 1994, 1997, 1996 e 2000).

Em geral, espectros de emissão de águas naturais e SH extraídas apresentam uma única banda larga cujo $\lambda_{MÁX}$ desloca-se de acordo com o λ_{EXC} adotado (Sierra *et al.*, 1994 e 1997). Quando o $\lambda_{EXC} = 313$ nm, as amostras de água de mar aberto fluorescem menos intensamente e em λ mais curtos ($\lambda_{MÁX} \sim 410$ nm) do que as amostras de águas de ambientes continentais cujos $\lambda_{MÁX}$ situam-se na faixa de 420-450 nm. Em águas intersticiais marinhas o $\lambda_{MÁX}$ pode também chegar a 420 nm. Para este mesmo λ_{EXC} , AF extraídos de águas doces fluorescem com maior intensidade e λ mais curtos ($\lambda_{MÁX} \sim 437$ nm) do que em AH ($\lambda_{MÁX} \sim 456$ nm) da mesma origem (Sierra *et al.*, 2000).

A Figura 7 mostra os espectros de emissão de fluorescência dos extratos aquoso e alcalino da amostra 4F dos sedimentos marinhos. Os espectros são bastante semelhantes entre si, ambos apresentando uma única banda larga. Entretanto, pode-se observar diferenças nos $\lambda_{MÁX}$. O espectro do extrato alcalino apresentou um $\lambda_{MÁX}$ mais deslocado para o vermelho (419 nm) do que o espectro do extrato aquoso (414 nm). Isto indica que a solução básica extraiu componentes com maior incidência de grupos aromáticos e de maior massa molar do que a água pura, como seria de se esperar, ou seja, mais SH. A conjugação de ligações π nestes compostos mais aromáticos são as responsáveis pelo efeito batocrômico na emissão de fluorescência. Uma maior proximidade de cromóforos aromáticos e, conseqüentemente, uma maior probabilidade de desativação dos estados excitados pela atenuação ('quenching') interna da fluorescência em moléculas orgânicas de grande massa molar diminuem a intensidade de fluorescência e deslocam o máximo para λ maiores (Ewald *et al.*, 1998; Senesi, 1990). Os componentes predominantes nos extratos aquosos, por outro lado, devem apresentar um caráter mais alifático e massas molares menores o que faz com que o $\lambda_{MÁX}$ seja ligeiramente deslocado para o azul. Belin *et al.*, (1996) chamaram estes grupos de *substâncias hidrofílicas*, e supõe-se que delas façam parte compostos tais como ácidos carboxílicos, fenóis, aminoácidos, carboidratos, entre outros, todos precursores das SH propriamente ditas.

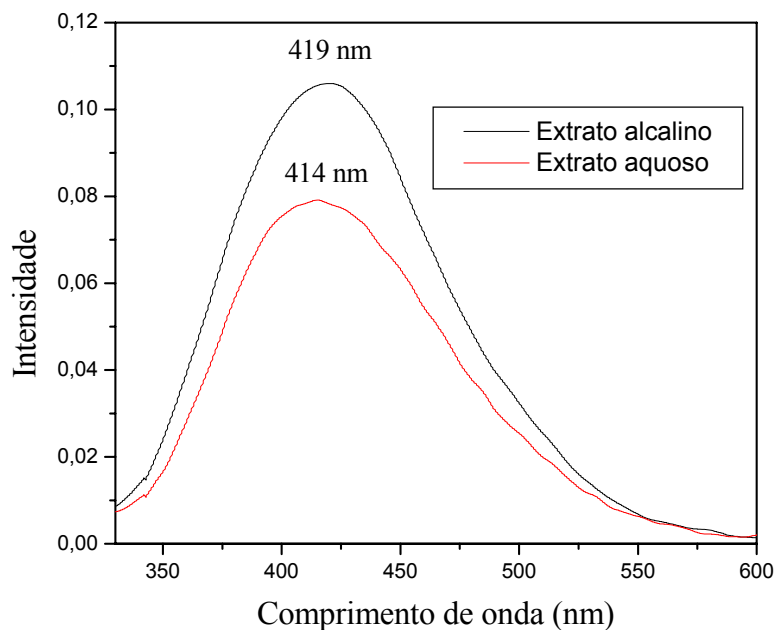


Figura 7 – Espectros de emissão de fluorescência do extrato aquoso e alcalino de uma amostra (4F) de sedimento marinho. λ_{EXC} 313 nm.

A Figura 8 mostra os espectros de emissão de fluorescência dos extratos aquosos de um sedimento marinho, um estuarino, uma amostra de solo e, como referência, o espectro de um AF extraído de um sedimento marinho costeiro. Essa comparação foi feita pois a maior parte (90 %) das SH de origem marinha é constituída de AF (Rocha & Rosa *et al.*, 2003). De um modo geral os espectros se assemelham na forma, mas pode-se notar diferenças importantes nos $\lambda_{\text{MÁX}}$. A amostra de solo, por exemplo, apresentou um $\lambda_{\text{MÁX}}$ cerca de 26 nm mais longo do que a amostra de sedimento marinho. Nessa amostra, o efeito batocrômico é também consequência de uma maior incidência de grupamentos aromáticos e de moléculas com massas molares maiores (Senesi *et al.*, 1990.)

Por outro lado, o extrato aquoso da amostra de sedimento estuarino apresentou um valor $\lambda_{M\acute{A}X}$ intermediário entre a amostra de solo e a marinha, devido provavelmente à influência mista de MO neste ambiente, o qual tem aporte marinho e continental (Sierra *et al.*, 2000).

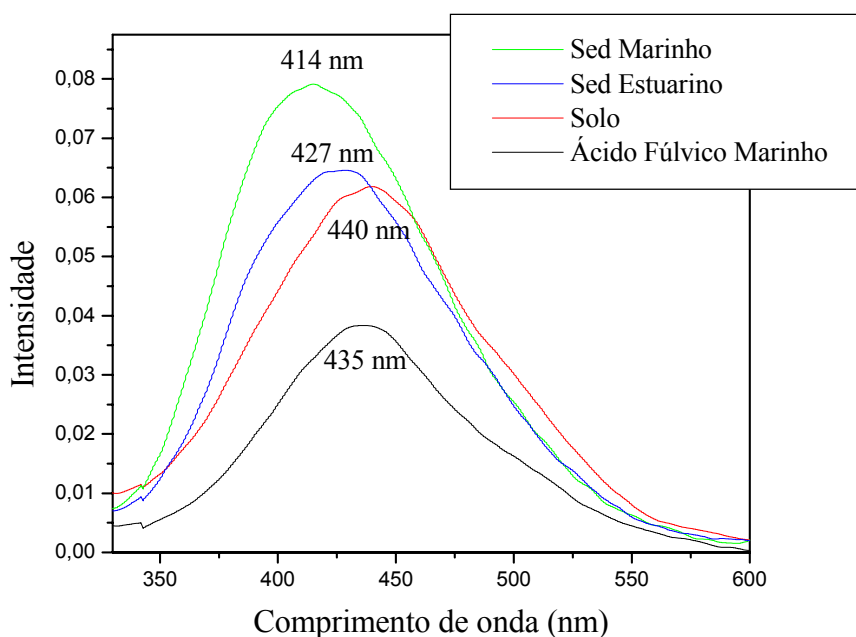


Figura 8 – Espectros de fluorescência dos extratos aquosos de amostra de sedimento marinho (4F), estuarino (3C) e de solo (Horto), assim como um AF (50 mg L^{-1}) extraído de um sedimento marinho costeiro. $\lambda_{EXC} = 313 \text{ nm}$.

O espectro do AF de origem costeira apresenta um $\lambda_{M\acute{A}X}$ bastante deslocado para o vermelho, quando comparado a um extrato aquoso de um sedimento marinho oceânico. Assim, pode-se comprovar que a MO liberada do sedimento marinho para as águas subjacentes contém outros compostos além dos húmicos propriamente ditos. Estes compostos, aparentemente predominam nas características da fluorescência destas águas. Resultados semelhantes foram mostrados por Belin *et al.* (1993) e por Sierra *et al.*, (2000). Nos extratos de solo, entretanto, a fluorescência das SH, de grande massa molar, parece prevalecer sobre os outros.

A Figura 9 apresenta os espectros de emissão de fluorescência dos extratos alcalinos das mesmas amostras. O extrato alcalino da amostra de solo apresentou um importante efeito batocrômico, seu λ_{MAX} foi de 455 nm, ou seja, 15 nm maior em relação ao seu extrato aquoso. Mais uma vez a presença de maior quantidade de compostos aromáticos extraídos pela solução básica, provenientes das SH são responsáveis por este deslocamento. A amostra teve, inclusive que ser diluída 20 vezes até que uma intensidade comparável à dos outros espectros fosse obtida. No extrato aquoso diluições não foram necessárias. Os espectros dos sedimentos marinhos e estuarinos seguem as mesmas tendências dos extratos aquosos e também são mais deslocados para λ maiores.

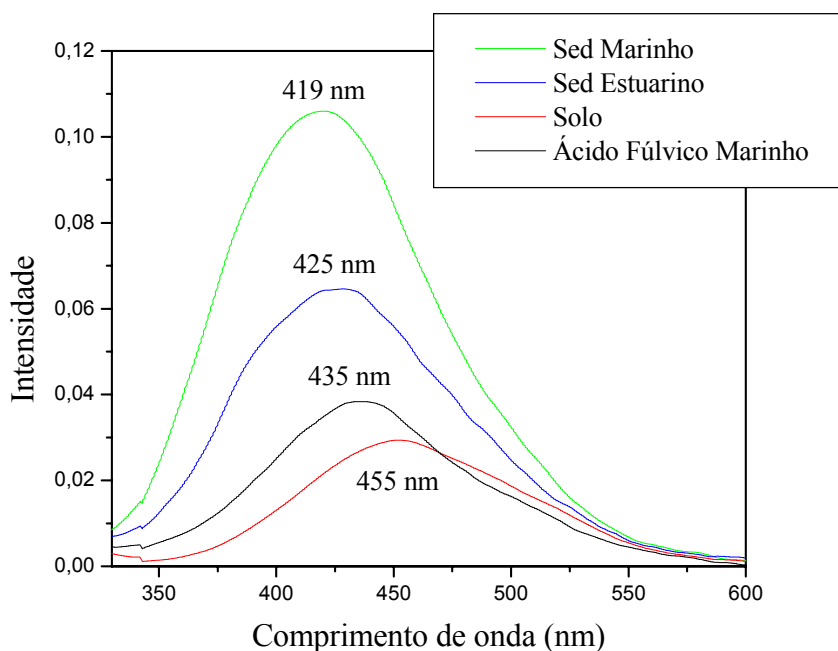


Figura 9 – Espectros de fluorescência dos extratos alcalinos de amostras de sedimentos marinho (4F), estuarino (3C) e de solo, assim como um AF (50 mg L^{-1}) extraído de um sedimento marinho costeiro. λ_{EXC} 313 nm.

De formas a poder avaliar o efeito do solvente nas características de fluorescência da MO dissolvida, uma série de experimentos foi feita usando-se água do mar artificial

(Quigley & Vernon, 1996) no lugar de água pura. A Figura 10 mostra esses espectros. Nesse caso houve um deslocamento hipsocrômico nos espectros dos sedimentos marinho e estuarino. Uma possível explicação para este efeito pode ser a precipitação (floculação) parcial das moléculas devido ao efeito das força iônica (Sierra *et al.*, 1994). Isso claramente indica que a presença de sais altera as características espectrais da MO.

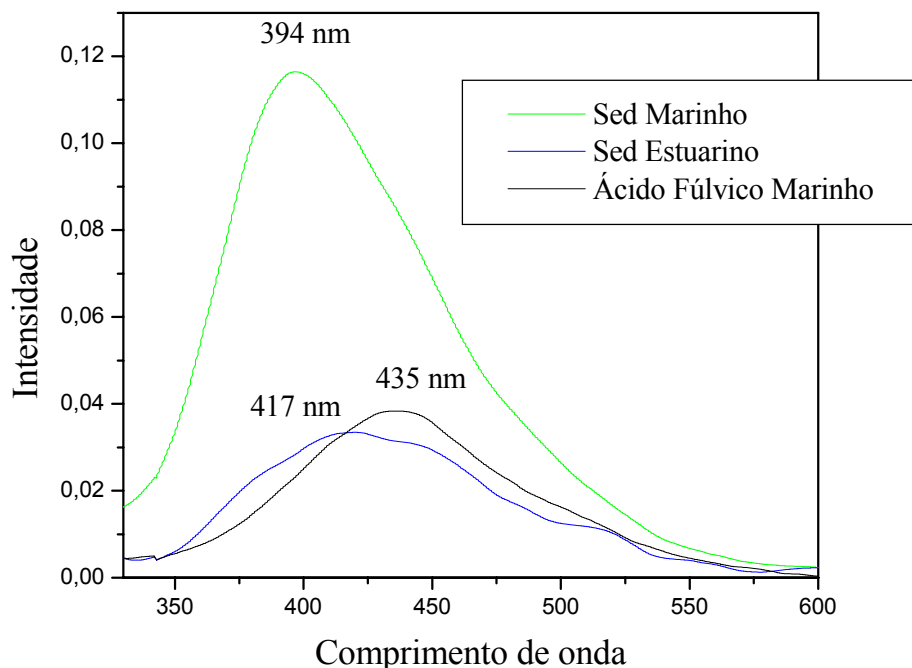


Figura 10 – Espectros de fluorescência dos extratos aquosos de amostras de sedimento marinho (4F), estuarino (3C) extraídos com água do mar artificial, assim como um AF marinho (50 mg L^{-1}). $\lambda_{\text{EXC}} 313 \text{ nm}$.

O conjunto de informações assim obtidas permitiu chegar às seguintes conclusões:

→ A fluorescência mostrou-se um método simples e sensível o suficiente para avaliar as propriedades gerais da MO associada a solos e sedimentos sem a necessidade de etapas químicas que venham a comprometer as características naturais do material.

→ A MO associada a sedimentos e solos pode ser facilmente liberada para as águas adjacentes mesmo em condições de neutralidade indicando que no ambiente natural há uma

troca constante entre a MO na fase sólida e a MO na fase líquida, ou seja, nas águas intersticiais e adjacentes aos sedimentos e solos.

→ Se uma solução fortemente alcalina for usada na extração, um percentual de SH maior é extraído simultaneamente.

→ A avaliação das características de fluorescência do material liberado para a água a partir de sedimentos marinhos indica a presença de compostos orgânicos mais alifáticos e de massa molar menor do que as SH. Desse grupo de substâncias devem fazer parte compostos tais como ácidos carboxílicos, carboidratos, fenóis e aminoácidos. No caso dos extratos de solo as SH parecem predominar. Nos sedimentos estuarinos as características de fluorescência indicam uma MO mista.

5.4 Estudos preliminares de cromatografia em fase gasosa da MO liberada por sedimentos e solos para a água

De modo a tentar conhecer mais detalhadamente a natureza da MO liberada pelas amostras de sedimentos e de solo para a água, foi realizado um experimento visando pré-concentrar este material com o mínimo possível de modificação de suas características químicas. Para isto foi usada a técnica da micro-extração em fase sólida (SPME) com fibras comerciais. Dois tipos de adsorventes foram usados neste trabalho. No primeiro caso a fibra foi revestida com poliacrilato (PA) o qual é direcionado à extração de compostos polares como tiazinas e fenóis. No segundo caso, o revestimento usado foi o polidimetilsiloxano (PDMS) o qual é mais direcionado à adsorção de compostos orgânicos pouco-polares como hidrocarbonetos aromáticos, por exemplo.

As Figuras 11, 12 e 13 mostram os cromatogramas dos extratos aquosos das amostras de solo (Horto UFSC), sedimentos marinho (4F) e de estuário (3C), extraídos por SPME com a fibra revestida com PA (eixo x = tempo de retenção e eixo y = intensidade de cromatografia). Quando este tipo de adsorvente é usado a MO liberada pelo sedimento estuarino é mínima. Provavelmente essa uma característica específica desta amostra e outras amostras estuarinas serão testadas futuramente. Os extratos do sedimento marinho e da amostra de solo apresentaram dois picos com tempos de retenção semelhantes, sendo que no extrato de solo a intensidade é bem maior (observe que neste caso a escala é diferente) como consequência de uma maior quantidade de MO nesta amostra. Estes compostos com características mais polares devem estar presentes em todos os tipos de ambientes e sua detecção, ou não, por adsorção também deve ser consequência do pH da solução. De fato, a protonação ou desprotonação de grupos funcionais como os carboxílicos, fenólicos e aminas pode alterar as características de hidrofobicidade/hidrofilicidade da MO e, conseqüentemente as interações com o adsorvente. Estudos estão sendo realizados no sentido de investigar essa possibilidade.

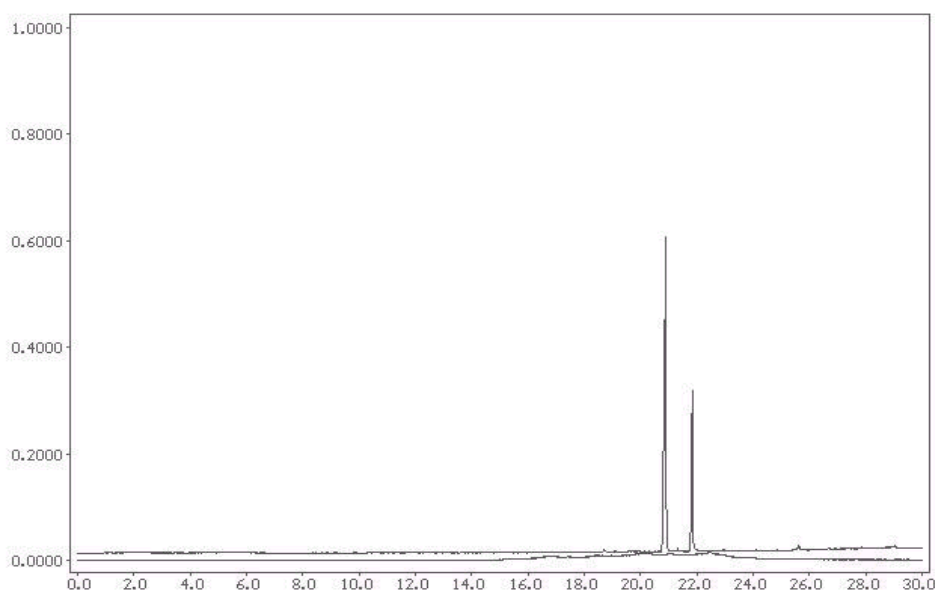


Figura 11 – Cromatograma gasoso do extrato aquoso da MO extraída por SPME de uma amostra de solo (Horto UFSC) em PA.

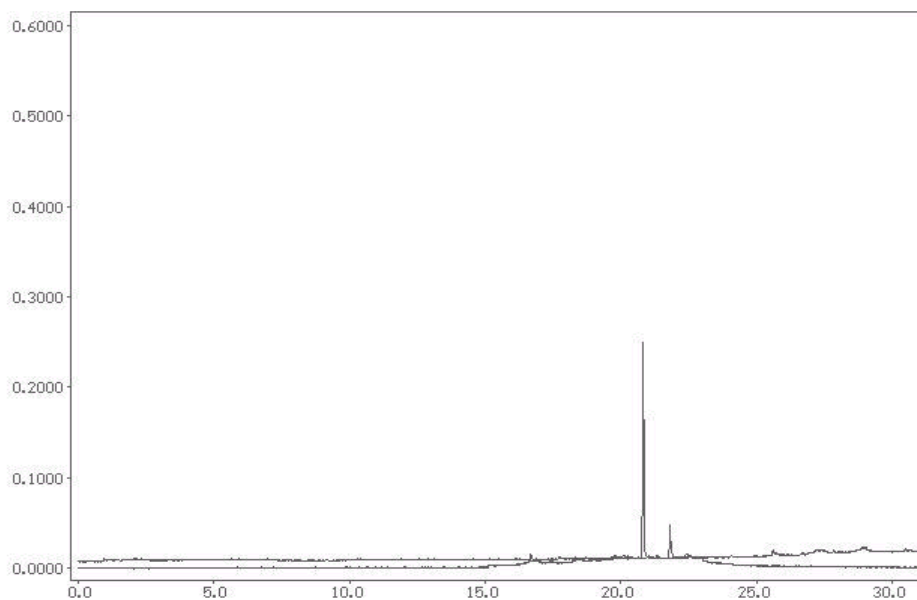


Figura 12 – Cromatograma gasoso do extrato aquoso da MO extraída por SPME de um sedimento marinho (4F) em PA.

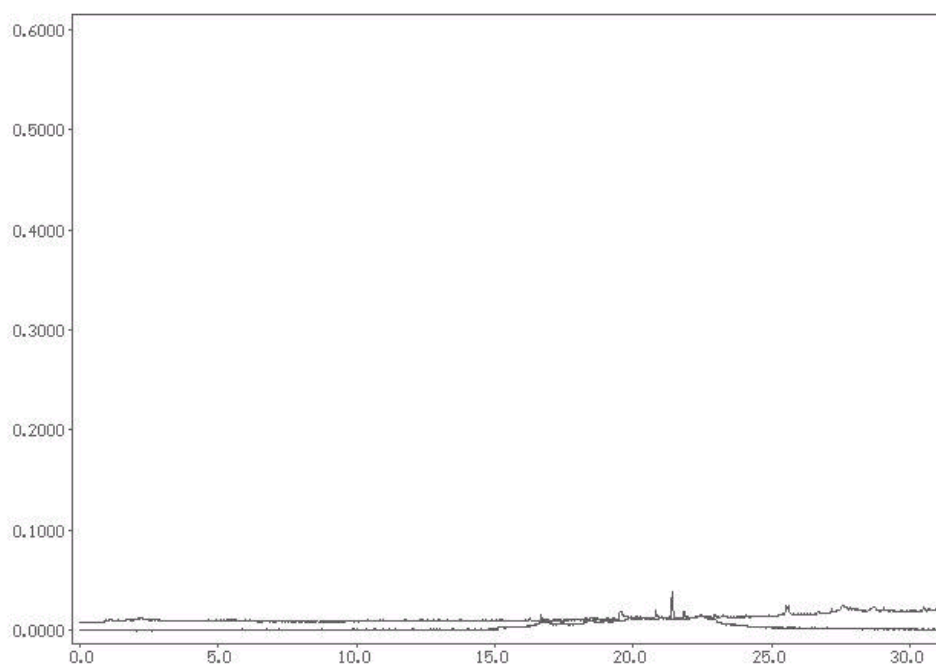


Figura 13 – Cromatograma gasoso do extrato aquoso da MO extraída por SPME de um sedimento estuarino (3C) em PA.

Nos cromatogramas das Figuras 14, 15 e 16 obtidos através da extração por SPME com a fibra revestida com PDMS, também podemos notar de sinais de compostos orgânicos. Através desses cromatogramas pode-se deduzir que o PDMS tem capacidade de extrair uma maior variedade de compostos que o PA. De um modo geral os cromatogramas apresentam o mesmo aspecto, para as três amostras, com a desorção acontecendo aproximadamente nos mesmos intervalos de tempo, indicando que as famílias de compostos adsorvidas têm as mesmas características de polaridade, independentemente da origem da amostra. Comparando com o PA o revestimento PDMS parece, portanto, ser mais apropriado se a intenção é extrair uma maior variedade de materiais.

Aqui, como no caso da fluorescência, fica evidente a incidência de compostos mais hidrofóbicos na amostra de solo. Observe que no maior tempo de retenção (~26 min), ou seja, maior afinidade dos adsorvatos (pouco polares) pelo adsorvente (PDMS, pouco polar) a MO proveniente do extrato de solo apresenta um pico de intensidade comparável àquele de menor tempo de retenção (~22 min). No caso dos extratos de sedimentos marinho e estuarino, ao contrário o pico relativo ao menor tempo de retenção (menor afinidade pelo revestimento pouco polar) é o mais evidenciado.

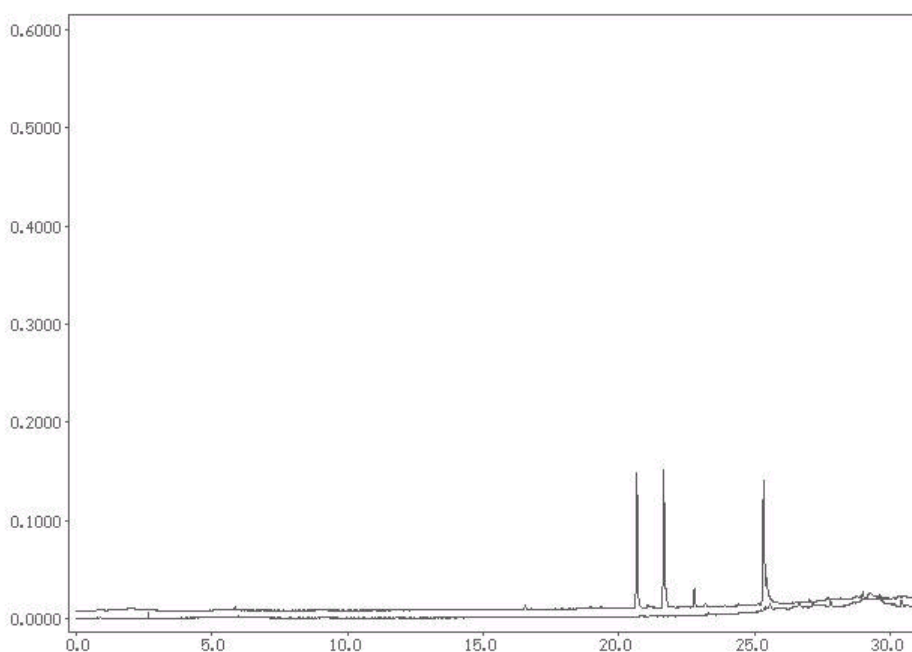


Figura 14 – Cromatograma gasoso do extrato aquoso da MO extraída por SPME de uma amostra de solo (Horto UFSC) em PDMS.

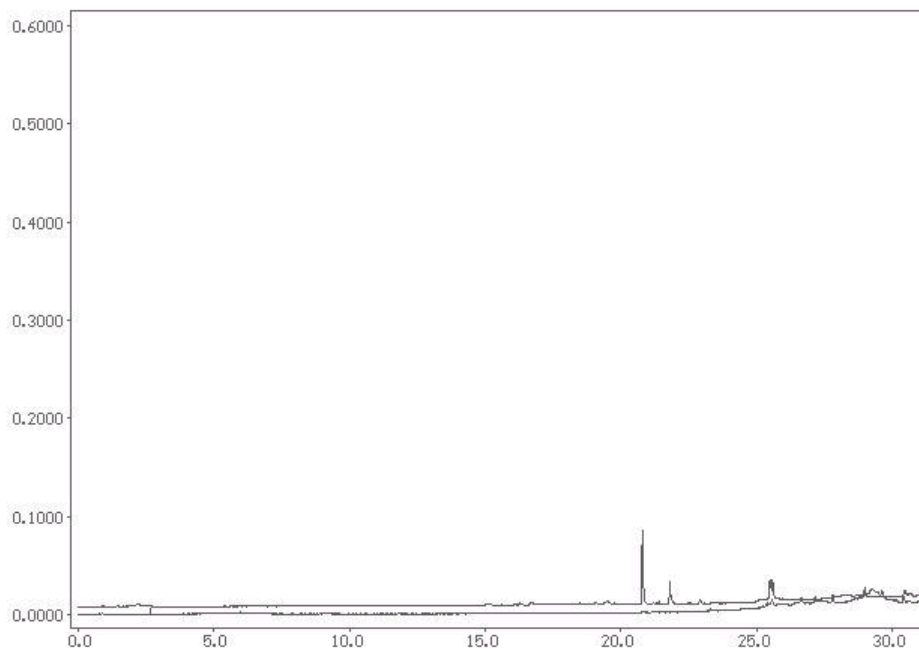


Figura 15 – Cromatograma gasoso do extrato aquoso da MO extraída por SPME de um sedimento marinho (4F) em PDMS.

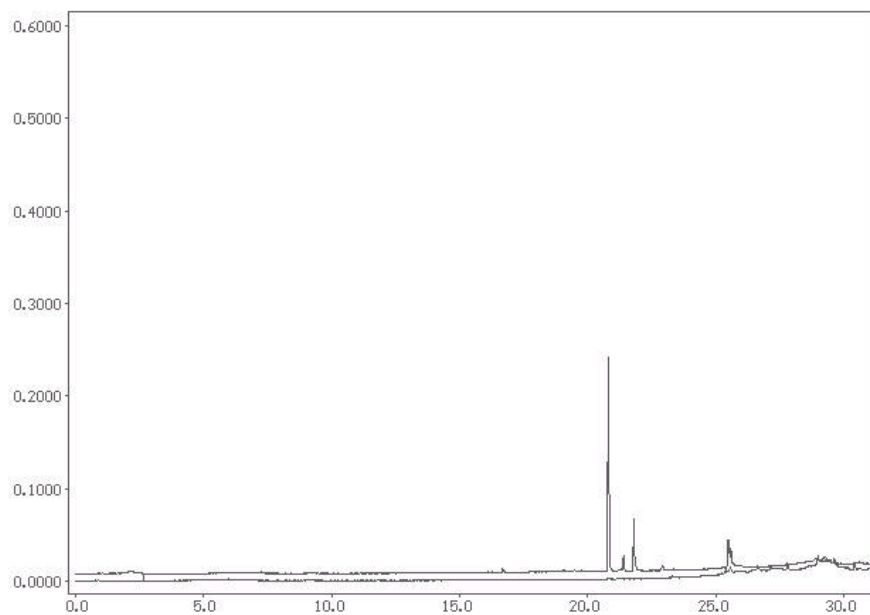


Figura 16 – Cromatograma gasoso do extrato aquoso da MO extraída por SPME de um sedimento estuarino (3C) em PDMS.

O conjunto de informações assim obtidas nos levou às seguintes conclusões:

→ Os dados obtidos através da SPME seguida de cromatografia confirmaram os dados obtidos por fluorescência, ou seja, a MO presente nos sedimentos marinhos tem características mais alifáticas e mais polares do que a MO presente em solos.

→ Estes dados também permitiram concluir que o revestimento mais adequado para a extração de MO de sedimentos marinhos é o poliacrilato (PA), enquanto que para a extração da MO proveniente de solos o mais adequado é o polidimetilsiloxano (PDMS). Futuras investigações incluindo estudos do efeito do pH e espectroscopia de massa estão sendo planejados para refinar estas informações.

6 CONCLUSÃO

Entre todos os métodos utilizados na determinação do CO nos sedimentos marinhos, a descarbonatação com ácido seguida de análise elementar (CHNS-AD), representou os valores mais próximos dos valores reais, 0,6 % a 1,6 %. Esses valores relativamente baixos estão de acordo com as características físicas apresentadas pelas amostras, constituídas de um alto teor de calcários e silicatos. Isso também foi comprovado pelo baixo rendimento de SH extraídas. A análise por fluorescência mostrou que nos espectros da MO de origem terrestre há um deslocamento do $\lambda_{MÁX}$ para a região do vermelho, quando comparados com os espectros dos sedimentos marinhos, devido a um aumento da aromaticidade da amostra. A micro-extração em fase sólida (SPME) mostrou ser um método prático e sensível à natureza dos compostos presentes nas amostras. O uso de fibras comerciais com revestimentos de polaridade variável (PA e PDMS) permitiu identificar a presença de compostos aromáticos e hidrofílicos em diferentes quantidades nesses sedimentos, de acordo com a natureza da MO destes ambientes, tornando-se um método promissor nesse tipo de estudo.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1–ASSUMPÇÃO, D. T. G. & AQUINO, V. A. **Levantamento Ecológico da Bacia de Campos – RJ, Caracterização e Parâmetros Ambientais.** Ciência e Cultura , 33(8), 1096-1101, 1981.

2–BARROS, M. C. P., PAULA, J. R., REZENDE, M. O. **Caracterização Físico-Química do Ácido Húmico de Solo da Ilha de Cananéia e da sua Interação com Fe (III), Cu (II) e Cd (II).** Química Nova, v.22, 376-380, 1994.

3–BELIN, C., QUELLEC, C., LAMOTTE, M., EWALD, M., SIMON, PH. **Characterization By Fluorescence of the Dissolved Organic Matter in Natural Water. Application to Fractions Obtained by Tangential Ultrafiltration and Xad Resin Isolation.** Environmental Technology, v.14, 1131-1144, 1993.

4–CANUEL, E. A. & MARTENS, C. S. **Reactivity of recently deposited Organic Matter: Degradation of lipid compounds near the sediment-water interface.** Geochim. Cosmochim. Acta, v. 60 (10), 1793-1806, 1996.

5–CARVALHO, N. O. **Hidrossedimentologia Prática.** CPRM, Rio de Janeiro, 372, 1994.

6–DJOZAN, D., ASSADI, Y., HOSSEINZADEH, S., **Anodized aluminum wire as a solid-phase microextraction fiber,** Analytical chemistry, v.73, 4054, 2001.

7–KILLOPS, S.D. & KILLOPS, V. J. **Organic Geochemistry,** John Wiley, NY, 95-106, 1993.

8–LEONG, L. S. & TANNER, P. A. **Comparison of Methods for Determination of Organic Carbon in Marine Sediment**. Marine Pollution Bulletin, v.38 (10), 875-879, 1999.

9-LOHSE, L., KLOOSTERHUIS, R. T., STIGTER, H. C., HELDER W., RAAPHORST, W., WEERING, T.C.E. **Carbonate removal by Acidification cause loss of nitrogenous compounds in continental margin**. Marine Chemistry, v.69 (3-4), 193-201, 2000.

10–MANZATTO, H. R. H. **Dinâmica da matéria orgânica em solo glei pouco húmico cultivado com arroz inundado no vale do rio São João (RJ)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo) Universidade Federal Rural do RJ, 45-76, 1990.

11-MOTLAGH, S. & PAWLISZYN, J. **On-line monitoring of flowing samples using solid phase microextraction-gas chromatography**, Analytical Chimica Acta, v.284, 265, 1993.

12-PAPADIMITRIOU, S., KENNEDY, H., BENTALEB, I., THOMAS, D.N. **Dissolved Organic Carbon in sediments from the eastern North Atlantic**. Marine Chemistry, v.79, 37-47, 2002.

13-PARLANTI, E., WÖRZ, K., GEOFFROY, L., LAMOTTE, M. **Dissolved Organic Matter Fluorescence Spectroscopy as a tool estimate biological activity in a coastal zone submitted to antropogenic inputs**. Organic Geochemistry, v.31, 1765-1781, 2000.

14-PEÑALVER, A., POCURULL, E., BORRULL, F., MARCÉ, R.M. **Trends in solid-phase microextraction for determining organic pollutants in environmental samples**. Trends in analytical chemistry, v.18 (8), 557, 1999.

15-QUIGLEY, M. & VERNON, F. **Determination of Trace Metal Ion Concentration in Seawater**, Journal of Chemical Education, v.73 (7), 1996.

16-RASHID, M. A. **Geochemistry of Marine Humic Compounds**. Springer-Verlag, NY, 67-96, 1985.

17-RAUEN, T. G., DEBACHER, N. A., SIERRA, M. M. D. **Tensoatividade de Ácidos Húmicos de procedências distintas**. Química Nova, v.25 (06), 909-913, 2002.

18-RYBA, S. A. & BURGESS, R.M. **Effects of sample preparation on the measurement of Organic Carbon, Hydrogen, Nitrogen, Sulfur, and Oxygen concentrations in Marine Sediments**. Chemosphere, v.48, 139-147, 2002.

19-ROCHA, J. C. & ROSA, A. H. **Substâncias Húmicas Aquáticas**. Editora da UNESP, Araraquara – SP, 40-45, 2003.

20-SENESE, N. **Fluorescence Spectroscopy applied to the study of Humic Substances from Soil and Soil related systems: A Review**. American Chemical Society, v.30 (01), 79-82, 1990.

21-SIERRA, M. M. D., GIOVANELA, M., DONARD, O. F. X., BELIN, C. **A Utilização da Espectroscopia de Fluorescência no Estudo da Matéria Orgânica dissolvida nas águas naturais: Evolução e Perspectivas**. Química Nova, v.19 (3), 294-301, 1996.

22-SIERRA, M. M. D., DONARD, O. F. X., ETCHEBER, H., SORIANO-SIERRA, E.J., EWALD, M. **Fluorescence and DOC contents of pore waters from coastal and deep-sea desiments in the Gulf of Biscay**. Organic Geochemistry, v.32, 1319-1328, 2001.

23-SIERRA, M. M. D., DONARD, O. F. X., LAMOTTE, M. **Spectral identification and behaviour of dissolved organic fluorescent material during estuarine mixing processes**. Marine Chemistry, v.58, 51-58, 1997.

24-SIEERA, M. M. D. & DONARD, O. F. X. **Simulation of Fluorescence variability in Estuaries**. *Oceanologica Acta*, v.SP (11), 275-284, 1991.

25-SIERRA, M. M. D., DONARD, O. F. X. , LAMOTTE, M., BELIN, C., EWALD, M. **Fluorescence Spectroscopy of coastal and Marine Sediments**. *Marine Chemistry*, v.47, 127-144, 1994.

26-SIEERA, M. M. D., GIOVANELA, M., SORIANO-SIERRA, E.J. **Fluorescence Properties of well-characterized sedimentary estuarine humic compounds and surrounding pore waters**. *Environmental Technology*, v.21, 979-988, 2000.

27-SILVA , A. D. **Estudo Geo-Estrutural do Manguezal de Ratoes na Ilha de Santa Catarina**. Dissertação de Mestrado em Geografia Descritiva, UFSC, 126, 1990.

28-TUNG, J. W. T. & TANNER, P.A. **Instrumental Determination of Organic Carbon in Marine Sediments**. *Marine Chemistry*, v.80, 161-170, 2003.

29-WAKEHAN, S. G. & CANUEL, E.A . **Fatty Acids and Steroids of Particulate Matter in a Brackish and Seasonally Anoxic Coastal Salt Pond**. *Organic Geochemistry*, v.16 (4-6), 703-713, 1990.

30-WALKLEY A. & BLACK. A.I. **An examination of the Degtjareff Method for determining soil organic matter , and a proposed modification of the chromic and titration method**. *Soil Science*, v.37, 29-38, 1934.

