

Doi: 10.5212/Publ.Exatas.v.15i1.019024

## ESTABILIDADE DE FRAÇÕES DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DE TURFA OBTIDAS EM UM EQUIPAMENTO COMERCIAL DE ULTRAFILTRAÇÃO

### STABILITY OF FRACTIONS OF HUMIC SUBSTANCES OF PEAT PRODUCED IN A COMMERCIAL EQUIPMENT FOR ULTRAFILTRATION

Sandro Xavier de Campos<sup>1</sup>, Eny Maria Vieira<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Campus Central - Bloco B - sala 113, Praça Santos Andrade s/nº Centro, CEP: 84010-790, Ponta Grossa, PR.

E-mail: campos@uepg.br

<sup>2</sup> Universidade de São Paulo (USP/São Carlos), Av. Trabalhador São-carlense, 400, CEP: 13560-970, São Carlos, SP.

*Recebido para publicação em 12/01/2009*

*Aceito para publicação em 02/04/2009*

#### RESUMO

A ultrafiltração (UF) por meio de membranas poliméricas tem sido bastante utilizada como ferramenta para o fracionamento de substâncias húmicas (SH) em diferentes pesos moleculares. Neste trabalho, realizou-se uma investigação sobre o tempo que frações < 30 kDa, 30-100 kDa e > 100 kDa de substâncias húmicas obtidas de turfa permaneceriam estáveis após seu fracionamento em um equipamento comercial de UF. Para tanto, foram realizadas análises de carbono orgânico dissolvido (COD) e ultravioleta/visível (UV/Vis). Os resultados demonstraram que as frações de substâncias húmicas de menor peso (30-100 kDa e < 30 kDa) apresentaram maior tempo de estabilidade.

**Palavras-chave:** Substâncias húmicas. Frações. Ultrafiltração. Estabilidade.

#### ABSTRACT

The ultrafiltration (UF) by means of polymeric membranes has been used as a tool for the fractionation of humic substances (HS) in different molecular weights. This work was carried out an investigation on the time fractions < 30 kDa, 30-100 kDa and > 100 kDa of humic substances obtained from peat would remain stable after their fractionation on a comercial equipment from UF. To this, were analyzed for dissolved organic carbon (DOC) and ultraviolet/visible (UV/Vis). The results showed that the fractions of humic substances with lower weight (30-100 kDa and <30 kDa) were longer for stability.

**Keywords:** Humic substances. Fractions. UF. Stability.

## 1 Introdução

A matéria orgânica (MO) presente no solo, na água e em sedimentos consiste de uma complexa mistura de produtos orgânicos em diferentes estágios de decomposição. Essa mistura pode ser dividida genericamente em substâncias húmicas (SH) e não húmicas. Estas últimas substâncias se caracterizam por exibir características físicas e químicas específicas e serem de natureza definida, como carboidratos, aminoácidos, proteínas, lipídios, ácidos graxos, entre outros. Já as SH, ou húmus, são estruturas indefinidas altamente complexas, de grande peso molecular e com a presença de vários grupos orgânicos funcionais, como cetonas, ésteres, fenóis, alcoóis, aminas, entre outros. (MACCARTHY et al., 1990).

As SH exercem um papel fundamental no ambiente, especialmente na retenção de calor pelo solo (devido à sua coloração escura), influenciando na germinação de sementes e no crescimento de raízes, e sua alta capacidade de retenção de água. Além disso, as SH podem combinar-se com moléculas orgânicas, como pesticidas, afetando a bioatividade, biodegradação, persistência e mobilidade destes compostos. Assim, as SH são responsáveis pela maioria das reações que ocorrem nos solos. (SCHINITZER; KHAN, 1972).

A ultrafiltração (UF) tem sido bastante utilizada como ferramenta para o fracionamento de SH em diferentes pesos moleculares, envolvendo diversos estudos em relação à distribuição de metais nestas frações e suas diferentes características, como também os melhores parâmetros para sua utilização.

Burba et al. (2001) determinaram a constante de estabilidade de frações de substâncias húmicas aquáticas (SHA) obtidas por UF, complexadas com zinco (Zn) e cobre (Cu). Os autores observaram que a constante de estabilidade mostrou ser dependente do peso molecular das SHA. Os altos valores encontrados para as constantes, tanto do Cu quanto do Zn, foram observados para frações com peso molecular maior do que 105 kDa.

Rocha et al. (1999) utilizaram a UF para verificar a distribuição de metais em relação a diferentes pesos moleculares de SHA extraídas do Rio Negro. Foi verificado que os metais Mn, Cu e Cd estavam preferencialmente ligados a frações de SHA com maior peso molecular (10-100 kDa). Os autores fizeram também um estudo espectroscópico utilizando

do ressonância magnética nuclear no estado sólido (RMN-C<sup>13</sup>) e ultravioleta/visível (UV/vis) e concluíram que estas SHA possuíam alta aromaticidade com pequena substituição e também apresentavam baixo número de grupos carboxílicos.

Ludwig et al. (1997) observaram a relação entre poluentes orgânicos e os diferentes pesos moleculares da matéria orgânica utilizando a UF para o fracionamento. Os autores concluíram que ácidos sulfônicos estão ligados mais estavelmente às frações com maior peso molecular.

Christl et al. (2000) investigaram as diferenças químicas de ácidos húmicos e fúlvicos extraídos de SH de gleise solos em relação ao peso molecular, utilizando diferentes técnicas analíticas, tais como: análise elementar, infravermelho (IF), UV/Vis, RMN-C<sup>13</sup> e espectroscopia de fluorescência. Verificou-se que as frações de ácidos húmicos de pesos moleculares menores continham maior porcentagem de carbonos aromáticos do que as frações de maiores pesos, enquanto que nestas de maior peso a porcentagem de carbonos alifáticos é maior. Observaram também que a composição química dessas frações de ácidos húmicos difere das de ácidos fúlvicos, apesar de serem similares na quantidade de grupos carboxílicos nas frações menores. Nas frações de menor peso, os ácidos húmicos apresentam mais carbonos aromáticos e menos alifáticos do que os ácidos fúlvicos. Em outro trabalho, Sanches, Campos e Vieira (2007) mostraram que frações de SH, extraídas de turfa e analisadas por IF, análise elementar, UV/Vis e espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR) apresentaram maior concentração de carbonos aromáticos nas frações com maior peso molecular, o que demonstra a complexidade no estudo destas SH, que dificilmente apresentam similaridades em sua composição.

Burba et al. (1998) apresentaram uma revisão com 75 artigos a respeito do fracionamento de substâncias húmicas aquáticas (SHA) em diferentes pesos moleculares utilizando a UF. Os autores apresentam algumas limitações da técnica, como: a) grande dependência da qualidade das membranas utilizadas; b) no caso de um aumento da concentração ou coagulação do material na superfície das membranas, pode haver falsificação dos resultados; c) sorção das moléculas de SH na superfície polimérica da membrana; d) o fracionamento através de membranas

com pesos moleculares menores que 5 kDa pode ser muito lenta; e) a classificação dos pesos moleculares usando UF é dependente da escolha dos parâmetros e os resultados não são facilmente comparados com outros sistemas. Entretanto, os últimos sistemas projetados para a UF, utilizando-se fluxo tangencial, já minimizam grande parte desses efeitos. Em outro trabalho, Burba, Shkinev e Spivakov (1995) relatam os melhores parâmetros para o ultrafracionamento de SH por meio de membranas de *polyethersulfone*. Os autores concluíram que, para um fracionamento eficiente das SH, estas deveriam possuir concentração menor ou igual a 1 mg/ml em pH sempre acima de 4,0.

Apesar de vários trabalhos serem encontrados na literatura a respeito do uso da UF no fracionamento de SH, poucos se referem à SH de solos e menos ainda discutem se o tempo de uso dessas membranas pode influenciar em mudanças nas principais características estruturais das frações obtidas. Assim, este trabalho teve como objetivo verificar a influência do volume de amostra de SH filtrada por membranas de *polyethersulfone* de um equipamento comercial de UF (Vivaflow 50 da Sartorius).

## 2 Materias e métodos

### 2.1 Fracionamento das SH

As SH utilizadas neste estudo foram extraídas de uma turfeira localizada às margens do rio Mogi-Guaçu, no km 40 da rodovia SP-255, no município de Luís Antônio. A coleta foi feita a uma profundidade de cerca de 40 cm. Depois de coletada, a turfa foi secada ao ar livre, para posterior trituração e extração das SH. O processo de extração das SH está descrito em detalhes em Campos et al. (2007) e Campos, Bernardo e Vieira (2005).

Após extraídas, as SH foram fracionadas utilizando-se um equipamento sequencial de ultrafracionamento (Vivaflow 50), fabricado pela Vivascience, equipado com membranas de *polyethersulfone*, bomba peristáltica e reservatório da amostra. As membranas foram dispostas duas a duas, com mesmo tamanho de poro e em paralelo com fluxo tangencial do filtrado.

Para realizar-se a UF das SH, depois de extra-

ídas, estas foram diluídas para 1 mg/mL e filtradas, inicialmente em papel de filtro grosseiro de 3 µm e depois em membranas de 0,45 µm. Assim, a amostra foi fracionada nas faixas de peso molecular de < 30 kDa, 30-100 kDa, 100-0,45 µm. Foi mantido o pH de filtração da amostra natural (7,0), já que este satisfaz as exigências para esse tipo de membrana. (BURBA et al., 1998). Depois de utilizadas, as membranas foram limpas com solução de NaOH 0,5 M e água deionizada. Para estocagem das membranas, estas eram preenchidas com uma solução 10% de álcool etílico e armazenadas em geladeira a 4 °C.

### 2.2. Verificação da estabilidade das frações de SH por COD e UV/Vis

Para verificar a estabilidade das frações de SH, com diferentes pesos moleculares em relação ao tempo, fracionou-se quantidade suficiente de amostra de SH necessária para obter-se 2 L de cada fração. A amostra permaneceu em ambiente condicionado em uma temperatura de 25 °C e pH = 7. Para evitar-se o efeito de diluição, pela água que permanecia dentro do sistema, filtrou-se cerca de 30 mL de cada fração. Depois de eluído esse volume, filtrou-se mais 50 mL das frações < 30 kDa, 30 kDa-100 kDa e de > 100 kDa.

Para verificação da estabilidade das frações, foram realizadas análises de carbono orgânico dissolvido (COD- TOC- V CPH/CPN/P da Shimadzu) e ultravioleta/visível (UV/Vis – modelo U3501) no comprimento de onda de 254 nm. Essas medidas são amplamente citadas na literatura para identificação de SH. Para as análises de UV/Vis das frações > 100 kDa, foi realizada uma diluição na razão de 1/10 para, assim, atingir-se uma absorbância menor do que 1 e, desta forma, a lei de Beer-Lambert ser validada. (SILVERSTEIN; BOWLER; MORRIL, 1994). Para as outras frações esse procedimento não foi necessário. Tais medidas foram repetidas diariamente em um período de 23 dias para as frações < 30 kDa e 30-100 kDa e por um período de 15 dias para a fração de > 100 kDa. Depois de cada coleta, as membranas de UF eram lavadas com uma solução de NaOH 0,5 M e água deionizada.

### 3 Resultados e discussão

A absorção de luz em específicos comprimentos de onda tem sido amplamente utilizada para quantificar o COD em águas naturais. O comprimento de onda que tem sido mais utilizado é o de 254 nm. (BERTHE; REDONB; FEUILLADE, 2008; GRAYA et al., 2007). Dessa forma, utilizou-se esse comprimento de onda como parâmetro para verificar a estabilidade das frações de SH. Utilizou-se também tal procedimento com o intuito de que, se houvesse mudanças significativas nas frações com o tempo, os valores de COD e UV/Vis poderiam sofrer alterações. Por exemplo: se as estruturas das frações de SH fizessem algum rearranjo, levando a pesos moleculares maiores ou menores, estas ficariam mais ou menos retidas nas membranas e assim ocasionariam mudanças substanciais nas medidas de COD e de absorção no UV/Vis, já que todo o carbono da amostra é proveniente das SH.

As Tabelas 1-3 apresentam os resultados de COD e UV/vis em 254 nm para as frações de < 30 kDa, 30-100 kDa e de > 100 kDa.

**Tabela 1** - Valores de carbono orgânico total dissolvido (COD) e absorbâncias no UV/Vis para o comprimento de onda de 254 nm, para a fração de > 100 kDa.

Dias	COD (mg/L)	UV/vis Absorbância em 254 nm (u.a)
1	279,5	0,301
2	289,8	0,319
3	283,1	0,286
4	261,1	0,288
7	280,5	0,283
8	275,3	0,279
9	271,8	0,288
10	260,5	0,286
11	268,5	0,278
14	245,3	0,246
15	205,3	0,236
16	198,4	0,231

**Tabela 2** - Valores de carbono orgânico total dissolvido (COD) e absorbâncias no UV/Vis para o comprimento de onda de 254 nm, para a fração de 30-100 kDa.

Dias	COD (mg/L)	UV/vis Absorbância em 254 nm (u.a)
1	29,29	0,889
2	30,40	1,000
3	29,34	0,906
4	30,33	0,978
7	29,05	0,862
8	28,31	0,803
9	27,22	0,791
10	29,35	0,921
11	30,34	0,957
14	30,73	1,000
15	29,77	0,931
16	29,12	0,879
17	28,35	0,842
18	29,5	0,926
21	28,5	0,861
22	25,6	0,760
23	22,0	0,750
24	20,92	0,700

**Tabela 3** - Valores de carbono orgânico total dissolvido (COD) e absorbâncias no UV/Vis para o comprimento de onda de 254 nm, para a fração de < 30 kDa.

Dias	COD (mg/L)	UV/vis Absorbância em 254 nm (u.a)
1	19,66	0,500
2	19,40	0,500
3	19,58	0,500
4	18,46	0,490
7	18,72	0,493
8	18,51	0,491
9	18,42	0,490
10	19,26	0,500
11	18,28	0,480
14	18,76	0,500
15	18,38	0,485
16	18,35	0,480
17	18,00	0,472
18	17,39	0,450
21	17,13	0,461
22	16,89	0,450
23	15,78	0,430
24	15	0,420

Com os dados obtidos, calculou-se o desvio padrão relativo (DPR) e o desvio padrão (DP) para todos os dias e para os 16 primeiros dias para as frações < 30 kDa e 30-100 kDa, e para os 11 primeiros dias para a fração de > 100 kDa. Isso foi feito devido à constatação de que houve uma mudança substancial nos valores após esses dias. As Tabelas 4-6 apresentam os resultados.

**Tabela 4** - Valores do DPR e do DP, para o COD e para UV/vis da fração de > 100 kDa, utilizando-se os dados de todos os dias e para os valores até o dia 11.

DP e DPR	COD	UV/Vis
DP - 16 dias	29,65	0,026
DP - 11 dias	9,92	0,012
DPR - 16 dias	11,40%	9,28%
DPR - 11 dias	3,61%	4,48%

**Tabela 5** - Valores do DPR e do DP, para o COD e para UV/vis da fração de 30-100 kDa, utilizando-se os dados de todos os dias e para os valores até o dia 16.

DP e DPR	COD	UV/Vis
DP - 24 dias	2,75	0,084
DP - 16 dias	0,82	0,044
DPR - 24 dias	9,76%	9,61%
DPR - 16 dias	4,35%	4,77%

**Tabela 6** - Valores do DPR e do DP, para o COD e para UV/vis da fração de < 30 kDa, utilizando-se os dados de todos os dias e para os valores até o dia 16.

DP e DPR	COD	UV/Vis
DP - 24 dias	1,26	0,025
DP - 16 dias	0,515	0,007
DPR - 24 dias	6,96%	5,2%
DPR - 16 dias	2,74%	1,58%

Observa-se nas Tabelas 4-6 que os valores do DPR e DP são relativamente menores quando se considera apenas os 11 e 16 primeiros dias. Isso indica que deve-se utilizar as amostras de SH depois de fracionadas no equipamento de UF Vivaflow 50 por um tempo de 11 dias para a fração > 100 kDa e por um tempo de 16 dias para a fração de 30-100 kDa e para a de < 30 kDa. Dessa forma, os resultados podem ser confiáveis em relação à estabilidade da fração.

Müller, Schmitt e Frimmel (2000) estudaram a estabilidade de frações de matéria orgânica natural obtidas de um lago no sul da Alemanha. As frações foram obtidas por cromatografia de exclusão por tamanho. A estabilidade foi verificada apenas utilizando UV/vis no comprimento de onda de 254 nm. As amostras fracionadas foram reinjetadas depois de um dia, uma semana, duas semanas e cinco semanas. Os autores verificaram que as frações permaneceram estáveis durante esse período de tempo, com uma variação nos resultados em cerca de 5%.

Pode-se observar nas Tabelas 4-6 que os valores de DPR, para os valores de COD e UV/vis em 254 nm, para os 16 ou 11 primeiros dias, também não ultrapassaram uma diferença de 5%.

#### 4 Conclusões

As frações obtidas no equipamento comercial sequencial de ultrafracionamento (Vivaflow 50) apresentaram estabilidade em relação ao tempo. A fração com maior peso (> 100 kDa) apresentou menor estabilidade (11 dias) e as frações de menor peso (30-100 kDa e < 30 kDa) mostraram maior estabilidade (16 dias). Esses resultados são importantes, pois contribuem com dados inéditos sobre o estudo da utilização de diferentes sistemas de UF no fracionamento de SH.

#### Referências

- BERTHE, A. C.; REDONB, E. G.; FEUILLADE A. Fractionation of the organic matter contained in leachate resulting from two modes of landfilling: an indicator of waste degradation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 154, p.262-271, 2008.
- BURBA, P.; ASTER, B.; NIFANT'EVA, T.; SHKINEV, V.;

SPIVAKOV, B. Ya. Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: a concise overview. Part 1. Analytical fractionation by means of sequential-stage ultrafiltration. **Talanta**, v.45, p.977-988, 1998.

BURBA, P.; FEDOROVA, O.; NIFANT'EVA, T.; SHKINEV, V.; SPIVAKOV, B. Ya. Ultrafiltration and determination of Zn- and Cu-humic substances complexes stability constants. **Talanta**, v.53, p.1127- 1131, 2001.

BURBA, P.; SHKINEV, V.; SPIVAKOV, B. Ya. On-line fractionation and characterization of aquatic humic substances by means of sequential-stage ultrafiltration. **Fresenius Journal Analytic Chemistry**, v. 351, p.72-82, 1995.

CAMPOS, S. X.; VIEIRA, E. M.; AZEVEDO, E. R.; BON-AGAMBA, T. J. DI BERNARDO, L. Color removal by coagulation, flocculation and sedimentation from water containing humic substances with different apparent molecular sizes. **Journal of Water Supply: Research and Technology –AQUA**, v.56, n.5, p. 327-333, 2007.

CAMPOS, S. X.; BERNARDO, L.; VIEIRA, E. M. Influência das características das substâncias húmicas na eficiência da coagulação com sulfato de alumínio. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 3, p.194– 199, 2005.

CHRISTL, I.; KNICKER, H.; KOGEL-KNABNER, I.; KRETZSCHMAR, R. Chemical heterogeneity of humic substances: characterization of size fractions obtained by hollow-fibre ultrafiltration. **European. Journal. Soil Science**, v.51, p.617-625, 2000.

GRAYA, R.; RITCHIEB, C. B.; TRANC, T.; BOLTOC, B. A. Effect of NOM characteristics and membrane type on microfiltration performance. **Water Research**, v.41, p. 3833 – 3841, 2007.

LUDWIG, U.; GRISCHEK, T.; NEITZEL, P.; NESTLER, W. Ultrafiltration: a technique for determining the molecular-mass distribution of group parameters of organic pollutants in natural waters. **Journal Chromatography A**, v. 763, p.315-321, 1997.

MACCARTHY, P.; CLAPP, L. E.; MALCOLM, R. L.; BLOOM, P. R., Eds. **Humic substances in soil and crop sciences: selected readings**. Madison, American Society of Agronomy, 1990. p.1-12.

MÜLLER, M. B.; SCHMITT, D.; FRIMMEL, F. H. Fractionation of natural organic matter by size exclusion chromatography: properties and stability of fractions. **Environmental Science & Technology**, v.34, p.4867-4872, 2000.

SANCHES, S. M.; CAMPOS, S.X.; VIEIRA, E. M. Caracterização das frações das substâncias húmicas de diferentes tamanhos moleculares. **Eclética Química**, v. 32, p.49-56, 2007.

SILVERSTEIN, R. M.; BOWLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 387p.

SCHINITZER, M. M.; KHAN, S. U. **Humic substances in the environment**. New York, Marcel Dekker, 1972. 327p.

ROCHA, J. C.; SARGENTINI, Jr.; TOSCANO, I. A. S.; ROSA, A. H.; BURBA, P. Multi-method study on aquatic humic substances from the “Rio Negro”- Amazonas state/ Brazil. Emphasis on molecular size classification of their metal contents. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v.10, p.169-175, 1999.