

PROPRIEDADES ÁCIDO-BASE E DE COMPLEXAÇÃO DE ÁCIDOS HÚMICO E FÚLVICO ISOLADOS DE VERMICOMPOSTO

Sandro de Miranda Colombo, Luciana Bagdeve de Oliveira dos Santos e Jorge Cesar Masini*

Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, CP 26077, 05513-970 São Paulo - SP, Brasil

Gilberto Abate

Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, CP 19081, 81531-990 Curitiba - PR, Brasil

Recebido em 4/10/06; aceito em 1/12/06; publicado na web em 17/7/07

ACID/BASE AND COMPLEXATION PROPERTIES OF HUMIC AND FULVIC ACIDS ISOLATED FROM VERMICOMPOST. Proton binding properties of humic and fulvic acids were studied by potentiometric titration. Carboxylic groups were the predominant ionizable sites in comparison to phenolic and amine groups. Total acidity of fulvic acid was $12 \times 10^{-3} \text{ mol g}^{-1}$, a number significantly higher than that obtained for humic acid ($5.2 \times 10^{-3} \text{ mol g}^{-1}$). Copper ion binding was evaluated at pH 4, 5 and 6 by potentiometric titration with an ion selective electrode for Cu(II). Differential stability constants and complexation capacities were systematically higher for humic acid, despite its lower number of ionizable sites in comparison with fulvic acid.

Keywords: humic substances, proton binding, complexation.

INTRODUÇÃO

Substâncias húmicas são agregados moleculares heterogêneos que constituem a parte principal da matéria orgânica natural de ocorrência em águas naturais, solos e sedimentos^{1,2}. Tendências atuais apontam as substâncias húmicas como associações supramoleculares³ de moléculas com massas molares relativamente baixas que se estabilizam por interações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio, chegando a formar micelas³⁻⁵. Estas substâncias são formadas em ambientes aquáticos e terrestres por decomposição de restos de plantas e animais pela ação de microrganismos. As substâncias húmicas são divididas operacionalmente em ácido húmico, ácido fúlvico e humina, de acordo com sua solubilidade em diferentes condições de pH. Ácido húmico é solúvel em meio alcalino, mas insolúvel em meio ácido. Ácido fúlvico é solúvel, tanto em meio alcalino, como em meio ácido. Já a humina é o material húmico insolúvel, quer em meio alcalino ou em meio ácido. Substâncias húmicas têm um grande número de sítios ionizáveis, especialmente grupos carboxílicos e fenólicos, que lhes conferem uma apreciável capacidade de formarem complexos estáveis com cátions de metais pesados. Em função desta propriedade, as substâncias húmicas exercem importante papel na mobilidade, no transporte e na atividade de íons metálicos no meio ambiente^{1,2}.

Ácido fúlvico é uma fração com moléculas menores e maior quantidade de sítios ionizáveis por unidade de massa em comparação ao ácido húmico¹. Entretanto, poucos são os trabalhos que comparam as duas frações isoladas de uma mesma matriz. No presente trabalho será apresentada uma comparação das concentrações e constantes de dissociação dos sítios ionizáveis de ácidos húmico e fúlvico isolados de vermicomposto. A influência desta composição nas propriedades de complexação de íons Cu(II) foi estudada realizando-se titulações potenciométricas de complexação monitoradas com eletrodo seletivo a Cu(II) visando determinar parâmetros relacionados com as energias de ligação, bem como com a capacidade de ligação. Os resultados obtidos foram então

discutidos em relação a estudos da literatura efetuados tanto com outras substâncias húmicas, como com compostos modelos⁶⁻⁹.

PARTE EXPERIMENTAL

Aparelhos e reagentes

Todos os reagentes foram de grau analítico, adquiridos da Merck (Rio de Janeiro, RJ). Soluções de hidróxido de sódio foram preparadas isentas de CO_2 , nas concentrações de 0,10 ou 0,0020 mol L^{-1} com água destilada previamente fervida, e padronizadas com padrão primário de hidrogenoftalato de potássio. Estas soluções foram preparadas em meio de KNO_3 0,10 mol L^{-1} . Soluções padrão de Cu(II) foram preparadas a partir da diluição de um volume adequado da solução padrão para absorção atômica Carlo Erba 1000 mg L^{-1} (15,74 mmol L^{-1}) na concentração de 4,72 mmol L^{-1} em um balão volumétrico contendo água desionizada e uma massa de KNO_3 suficiente para deixar a força iônica em 0,10 mol L^{-1} .

As medidas de potencial foram realizadas utilizando-se potenciômetros Metrohm B654, com resolução de 0,1 mV. No caso de titulações potenciométricas ácido base foi utilizado um eletrodo combinado de vidro com referência de Ag/AgCl (saturado em KCl e AgCl) Mettler Toledo calibrado em termos de concentração, conforme descrito em publicações prévias¹⁰. Incrementos da solução titulante de NaOH foram feitas utilizando-se a bureta automática do sistema de injeção seqüencial FIALab 3500. Para as titulações de complexação, dois potenciômetros foram utilizados. Um deles foi acoplado ao eletrodo íon-seletivo a Cu(II) Orion 9429 e ao eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl e AgCl saturado) Mettler Toledo modelo 405NS-S7/80. O outro potenciômetro foi acoplado ao eletrodo combinado de vidro para monitorar o pH durante a titulação com íons Cu(II). Incrementos de solução titulante de Cu(II) foram realizados com pipetas automáticas Gilson com volumes variáveis de 10 a 100 μL . O pH nestas soluções foi mantido constante nos valores de $4,00 \pm 0,05$, $5,00 \pm 0,05$, ou $6,00 \pm 0,05$ por adições de NaOH ou HNO_3 $2,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} , ambos em KNO_3 0,10 mol L^{-1} , após cada adição da solução titulante de Cu(II).

*e-mail: jmasini@iq.usp.br

A análise elementar das substâncias húmicas foi realizada em equipamento CHN 2400 da Perkin Elmer. Concentrações de Fe, Al e Cu nas amostras purificadas de ácidos húmico e fúlvico foram determinadas após digestão com ácido nítrico concentrado e peróxido de hidrogênio¹¹ por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido em um equipamento Spectro Cirrus CCD.

Extração e purificação

Os ácidos húmico e fúlvico foram extraídos de uma amostra de húmus de minhoca da marca West Garden, adquirido no comércio local. O procedimento utilizado foi baseado no método descrito pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas^{12,13}, porém com algumas modificações necessárias para adaptação aos materiais disponíveis no laboratório. Foram pesados 200 g de húmus previamente seco ao ar e transferido para um frasco de 4000 mL, no qual foram adicionados 1800 mL de HCl 0,10 mol L⁻¹. O sistema foi agitado por cerca de 1 h e submetido à centrifugação (2500 rpm), da qual se reservou o sobrenadante para posterior isolamento do ácido fúlvico.

Posteriormente, a suspensão contendo o vermicomposto teve o pH ajustado em 7,0 com NaOH 1,0 mol L⁻¹ e depois se adicionaram mais 200 mL de NaOH 0,10 mol L⁻¹ sob atmosfera de N₂. O sistema foi agitado durante 4 h, sendo em seguida deixado em repouso por uma noite. Na seqüência, o pH do sobrenadante foi abaixado até 1,0 com HCl 6,0 mol L⁻¹ e deixado em repouso por 16 h. Ao término desta etapa, o ácido húmico precipitado foi isolado por centrifugação (2500 rpm). A solução sobrenadante foi reservada para posterior isolamento do ácido fúlvico. O precipitado de ácido húmico foi dissolvido em KOH 0,10 mol L⁻¹ (sob N₂), seguindo-se a adição de KCl sólido a fim de se obter uma concentração do mesmo em 0,30 mol L⁻¹, possibilitando a floculação de colóides inorgânicos.

A separação destes colóides foi feita por centrifugação e, após descartar-se o sedimento, ajustou-se o pH do meio sobrenadante em 1,0 com HCl 6,0 mol L⁻¹ para precipitação do ácido húmico, seguindo-se outra etapa de centrifugação (2500 rpm). O sobrenadante que resultou desta última etapa de centrifugação também foi reservado para isolamento do ácido fúlvico. O sólido contendo o ácido húmico foi ressuspenso em 200 mL de HCl 0,10 mol L⁻¹ e HF 0,30 mol L⁻¹, os quais foram deixados sob agitação por uma noite, possibilitando a decomposição da sílica e silicatos.

A penúltima etapa consistiu de centrifugação (2500 rpm) e posterior descarte do sobrenadante. Finalmente, o conteúdo obtido foi dialisado em membranas com corte de massa molar de 1000 Daltons até não se detectar cloreto na solução externa à membrana, o que foi verificado pelo teste de precipitação de AgCl mediante adição de solução de AgNO₃ 0,050 mol L⁻¹, ou seja, até a concentração livre de Cl⁻ ser menor que 10⁻⁵ mol L⁻¹. Finalmente, a suspensão de ácido húmico foi transferida para um balão volumétrico de 250,0 mL. A determinação da concentração de ácido húmico foi obtida pela massa seca contida em alíquotas de 5,00 mL da suspensão, pipetadas imediatamente após intensa homogeneização. Para isso, as alíquotas foram transferidas para béqueres previamente tarados que foram então levados para estufa mantida a 60 °C até evaporação da água. Em seguida aqueceu-se a estufa até 100 °C, mantendo-se esta temperatura por cerca de 2 h. Os béqueres foram transferidos para um dessecador até atingirem a temperatura ambiente, procedendo-se então a pesagem. O processo de secagem a 100 °C foi repetido até obtenção de massa constante.

Para isolar o ácido fúlvico, primeiramente se fez o condicionamento de uma resina de adsorção XAD-7, que consistiu em mergulhar a mesma em um béquer de 500 mL contendo NaOH 0,1 mol L⁻¹. Esta solução foi trocada diariamente em um período de 5 dias. Em seguida, 200 mL da resina foram colocados em uma coluna de

vidro, sendo que nesta foram passados volumes alternados de NaOH e HCl, ambos a 0,10 mol L⁻¹, por três vezes. Após a última lavagem com HCl, a resina foi lavada cinco vezes com água desionizada.

Os sobrenadantes obtidos do procedimento de extração do ácido húmico foram filtrados e posteriormente passados pela coluna de resina XAD-7, a qual adsorve o ácido fúlvico. O conteúdo retido na XAD-7 foi posteriormente eluído com 2 volumes da coluna de solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹, seguindo-se lavagens com 3 volumes da coluna de água desionizada. As soluções eluídas da coluna de XAD-7 foram combinadas e então passadas por outra coluna contendo resina trocadora catiônica fortemente ácida Amberlyst 15 na forma protonada. Com isso, o excesso de hidróxido de sódio é neutralizado e os sítios ionizáveis do ácido fúlvico são protonados. A solução resultante foi armazenada em geladeira e a concentração de ácido fúlvico foi determinada a partir da massa seca de alíquotas de 25,00 mL desta solução, utilizando-se o mesmo procedimento descrito para a suspensão de ácido húmico.

Titulações potenciométricas

Todas as titulações foram efetuadas em uma cela de vidro com capacidade volumétrica de 50,0 mL dotada de uma “camisa” externa para a circulação de água termostatizada a 25,0 ± 0,1 °C com o auxílio de um banho termostático Ética 521D. Foi acoplada uma tampa contendo aberturas suficientes para a adaptação de eletrodos, o conector da bureta automática do sistema FIALab 3500 e o tubo que injetava nitrogênio previamente borbulhado em água desionizada. Titulações ácido base foram realizadas com 25,00 mL de solução de ácido fúlvico ou suspensão de ácido húmico, ambos na concentração de 0,500 g L⁻¹ e em meio iônico predominante de KNO₃ 0,10 mol L⁻¹. Incrementos de 10 a 100 µL de solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹ foram utilizados, cobrindo-se a faixa de pH entre 3,0 e 11,5 para o ácido húmico e entre 2,5 e 11,5 para o ácido fúlvico. Cerca de 100 pontos de volume e potencial foram tomados por titulação^{10,11}.

Nos estudos de complexação, 25,00 mL da suspensão de ácido húmico, ou solução de ácido fúlvico, ambos na concentração de 30,0 mg L⁻¹, foram titulados com a solução de Cu(II) 4,72 mmol L⁻¹ mantendo-se o meio iônico composto predominantemente por KNO₃ 0,10 mol L⁻¹. A faixa de concentrações totais de Cu(II) variou de 6,66 x 10⁻⁸ a 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ para o ácido húmico e entre 9,96 x 10⁻⁹ a 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ para o ácido fúlvico. Os incrementos de Cu(II) variaram de 10 a 100 µL e entre 20 e 30 pontos foram tomados por titulação^{10,11}.

Métodos de cálculo

O tratamento dos dados de titulações potenciométricas ácido base foi realizado por linearização das curvas de titulação pelo método das funções de Gran modificadas, cuja descrição aparece em publicações anteriores¹⁴.

No caso das titulações de complexação, os tratamentos de dados para calibração do eletrodo íon seletivo a Cu(II), cálculo de concentração de Cu(II) livre, [Cu(II)], e complexado, [CuL], também podem ser encontrados em publicações anteriores^{11,15,16}.

No presente trabalho adotou-se que os dados experimentais de complexação podem ser descritos pela equação da isoterma de Langmuir, que assume que os complexos formados têm estequiometria 1:1 e que o experimento é conduzido em força iônica e temperatura constantes, de modo que a carga elétrica sobre a superfície mantém-se constante, assim como sua conformação espacial. Neste caso a relação entre o cátion complexado e o cátion livre é descrita pela Equação¹⁷:

$$[CuL] = \sum_{j=1}^2 \frac{L_j K_j [Cu(II)]}{1 + K_j [Cu(II)]} \quad (1)$$

onde: L_j é a concentração total de sítios de ligação da classe j e K_j é um parâmetro relacionado com a constante de estabilidade média dos complexos formados entre Cu(II) e ácido fúlvico, ou da constante de adsorção destes íons com o ácido húmico. O termo j refere-se ao número de classes de sítios de complexação/adsorção. Geralmente 1 ou 2 classes de sítios, um de forte e outra de fraca interação, têm sido suficientes para descrever as propriedades de complexação/adsorção de Cu(II) em substâncias húmicas. Como a massa molar das substâncias húmicas não é definida por um valor único, mas sim por uma distribuição de massas molares, a concentração total de sítios de ligação, que é obtida em unidades de mol L⁻¹, pode ser convertida em unidades de mol g⁻¹ de substância húmica, pela Equação:

$$C_{C_j} = \frac{L_j}{C_{SH}} \quad (2)$$

onde: C_{C_j} é a chamada capacidade de complexação ou adsorção da classe de sítios j e C_{SH} a concentração de substância húmica dada em unidades de massa por volume (g L⁻¹, por ex.)¹⁷.

Os dados das titulações foram tratados por regressão não linear usando o método de Levenberg Marquadt do programa Microcal Origin® 6.0 com a Equação de Langmuir, onde $[CuL]$ foi considerada a variável dependente e $[Cu(II)]$ a variável independente.

Funções de equilíbrio diferenciais (DEF)

Devido à heterogeneidade química dos sítios de ligação, não há como caracterizar uma constante de equilíbrio para cada sítio. Os valores de K determinados pela Equação de Langmuir são valores médios e muitas vezes, mistos entre os sítios de maior e menor afinidade pelo cátion metálico. Devido a estas limitações, a interpretação dos dados de titulação de um sistema altamente heterogêneo levou à definição do parâmetro de equilíbrio diferencial (K_{DEF}) dado pela média aritmética ponderada das constantes de equilíbrio condicionais K_j para todos os sítios do tipo j envolvidos na complexação^{18,19}, que pode ser resumido pela Expressão:

$$K_{DEF} = -\frac{\alpha^2}{C_{Cu(II)}} \left[\frac{1}{1 + (\alpha - 1) \left(\frac{d \ln C_{Cu(II)}}{d \ln \alpha} \right)} \right] \quad (3)$$

onde: $\alpha = \frac{C_{Cu(II)}}{[Cu(II)]}$, sendo que $C_{Cu(II)}$ é a concentração total de Cu(II) em cada ponto da titulação. Como não existe uma expressão analítica relacionando $C_{Cu(II)}$ com α , o termo derivada $\ln C_{Cu(II)}/\ln \alpha$ é encontrado por ajuste polinomial.

Os valores de K_{DEF} podem ser relacionados com o grau de ocupação, θ , dos sítios de complexação pela Equação:

$$\log \theta = \Gamma \log K_{DEF}^0 - \Gamma \log K_{DEF} \quad (4)$$

onde: $\theta = \frac{[CuL]}{L_T}$; K_{DEF}^0 = valor de K_{DEF} quando todos os sítios complexantes estão ocupados, ou seja, quando $\theta = 1$; Γ = parâmetro de heterogeneidade (igual a 1 para ligante simples e igual a zero para um ligante totalmente heterogêneo); L_T = concentração total de sítios de ligação, definida neste trabalho como a acidez total determinada na caracterização ácido base.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise elementar e teor em cinzas

A Tabela 1 apresenta os resultados de percentagem em massa dos elementos C, H, N, Cu, Al e Fe, além do teor de cinzas nas amostras de ácido húmico e fúlvico. A comparação destes resultados com valores relatados na literatura^{1,17} para composição de C, H e N em substâncias húmicas isoladas de solos indica que os valores obtidos para as amostras estudadas estão dentro da faixa típica para essas substâncias. O teor de cinzas determinado para o ácido húmico foi de $4 \pm 1\%$, o que pode ser considerado baixo, principalmente levando-se em conta que extratos alcalinos de solos resultam em frações húmicas brutas contendo cerca de 30% de cinzas¹. Como se pode verificar, o método de isolamento e purificação descrito pela IHSS¹², baseado na utilização de HF, é bastante eficiente na remoção do material inorgânico, especialmente sílica e silicatos presentes originalmente na amostra de vermicomposto.

As concentrações de Fe e Al foram consideradas por serem constituintes majoritários de solo, sendo fortemente complexadas por substâncias húmicas. Os valores encontrados, se expressos em termos de massas de Al₂O₃ e Fe₂O₃, corresponderiam à cerca de 0,7% de cinzas para o ácido húmico, valor este ainda bastante inferior aos 4% obtidos, indicando que a principal contribuição para o teor de cinzas é a sílica. Para o ácido fúlvico esta contribuição é < 0,1%, sendo inferior à capacidade de resolução da balança analítica empregada. O Cu foi estudado para avaliar uma possível ocupação prévia de sítios de complexação, bem como para considerar a concentração analítica real nas titulações de complexação. A partir dos valores apresentados na Tabela 1, sabendo-se que a concentração titulada das substâncias húmicas foi de 30,0 mg L⁻¹, pode-se estimar que a concentração analítica inicial de Cu(II) nas soluções foi de $6,66 \times 10^{-8}$ e $9,96 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ para os ácidos húmico e fúlvico, respectivamente.

Caracterização ácido-base

A Tabela 2 apresenta as concentrações dos sítios ionizáveis determinadas para as cinco classes de grupos ionizáveis nas amostras de ácido húmico (AH) e ácido fúlvico (AF) juntamente com os respectivos valores de pKa ajustados para os cinco grupos. Os grupos definidos como HA₁, HA₂ e HA₃ podem ser atribuídos a grupos carboxílicos em razão dos valores de pKa serem típicos para esta

Tabela 1. Composição elementar das amostras de ácido húmico (AH) e ácido fúlvico (AF) em comparação a dados da literatura para substâncias húmicas isoladas de solos

Amostra	Elemento / %						Cinzas / %
	C	H	N	Cu	Al	Fe	
AH	57,7(53,8-58,7) ^a	4,4(3,2-6,2)	2,36(0,8-4,3)	0,0141	0,0974	0,0374	4 ± 1
AF	46,8(40,7-50,6)	4,02(3,8-7,0)	1,09(0,9-3,3)	0,0021	0,0260	0,0168	N.D. ^b

^a Valores entre parêntesis referem-se a faixas de concentrações encontradas na literatura^{1,17}; ^b não detectado

Tabela 2. Concentração^a e pKa^a das cinco classes de sítios ionizáveis caracterizados nas amostras de ácido húmico (AH) e fúlvico (AF), determinados a 25,0 ± 0,1°C em meio de KNO₃ 0,10 mol L⁻¹

Amostra	Sítios Ionizáveis										Σ HA _n mmol g ⁻¹
	HA ₁		HA ₂		HA ₃		HA ₄		HA ₅		
	mmol g ⁻¹	pKa									
AH	1,2±0,1	3,07±0,04	2,02±0,08	5,19±0,05	0,9±0,1	6,94±0,03	0,5±0,1	8,48±0,01	0,6±0,1	9,87±0,09	5,2±0,5
AF	5,8±0,4	1,9±0,1	3,2±0,3	4,2±0,3	1,5±0,2	5,9±0,4	0,5±0,1	8,2±0,2	0,5±0,1	9,7±0,1	12±1

^a Resultados correspondem à média de 3 a 5 titulações de cada amostra

classe de sítios ionizáveis. Adicionalmente, um estudo prévio²⁰ de comparação de metodologias para determinação de sítios ionizáveis em substâncias húmicas demonstrou que a soma de grupos com pKa < 7 obtidos por titulação potenciométrica é coincidente com a concentração de grupos carboxílicos determinados pelo método clássico do acetato de cálcio¹.

A classe de grupos definida como HA₁ apresenta um baixo valor de pKa, especialmente para o ácido fúlvico. Baseando-se nos estudos de Leenheer e colaboradores^{21,22}, pode-se inferir que tais espécies estão relacionadas à presença de grupos policarboxílicos, ou ainda grupos carboxílicos próximos a átomos ou sítios com alta eletroafinidade (por exemplo, grupos policarboxílicos em anéis fenólicos), ou adjacentes a grupos cetônicos. A abundância dos grupos carboxílicos com baixo pKa (HA₁) corresponde a 55,2% do total de grupos carboxílicos do ácido fúlvico e a 29,1% para o ácido húmico. Leenheer e colaboradores^{21,22} relataram valores de 33,4% de grupos carboxílicos com pKa < 3 em amostras de ácido fúlvico isolado do rio Suwannee (Geórgia, EUA).

Os sítios da classe HA₂ foram titulados em uma região de pH típica para a maior parte dos ácidos carboxílicos, correspondendo a 30,4 e 49,0% dos grupos carboxílicos presentes no ácido fúlvico e húmico, respectivamente.

É interessante notar que, apesar do método de tratamento de dados não adotar o modelo eletrostático, o efeito destas interações se faz notar especialmente no pKa do grupo HA₃. Na região de pH em que estas espécies são tituladas, parte substancial dos grupos carboxílicos já se encontra dissociada, contribuindo com cargas negativas para a macromolécula, o que dificulta a dissociação dos grupos carboxílicos que permanecem protonados, acarretando um aumento nos seus valores de pKa.

As classes HA₄ e HA₅ podem ser atribuídas a grupos fenólicos e aminos. A distinção entre estes grupos não é possível com o método de titulação (e tratamento de dados) empregado, devido a gran-

de proximidade dos valores de pKa destas espécies. O total de sítios ionizáveis determinados no ácido húmico e no ácido fúlvico foi de 5,2 ± 0,5 e 12 ± 1 mmol g⁻¹, respectivamente. No ácido húmico, a contribuição de grupos carboxílicos corresponde a 78,9% da acidez total, representada pela somatória da concentração de todas as espécies caracterizadas, enquanto para o ácido fúlvico esta contribuição chega a 91,3% da acidez total.

Complexação de Cu(II)

A Tabela 3 apresenta os resultados de capacidade de complexação (Cc) e do parâmetro log K, que é relacionado à energia de ligação, obtidos por regressão não linear com a Equação de Langmuir. Em pH 4,0, tanto para o ácido húmico, como para o ácido fúlvico, a Equação de Langmuir com um único sítio de adsorção/complexação foi a mais apropriada para representar os dados experimentais, o que foi avaliado pelo maior coeficiente de correlação entre os dados experimentais e a curva ajustada por regressão não linear. Para todos os outros casos a equação considerando dois sítios de adsorção/complexação foi a mais apropriada. Os dados experimentais sobrepostos às curvas ajustadas por regressão linear são mostrados nas Figuras 1 e 2 para os ácidos húmico e fúlvico, respectivamente.

Para o ácido húmico em pH 4 foi possível a caracterização de apenas uma classe de sítios de complexação, o que pode ser atribuído a uma maior competição dos prótons com os íons Cu(II) pelos sítios complexantes do material húmico. Apesar destas limitações, o método de cálculo baseado em regressão não linear permitiu que fossem estimados os valores de capacidade de complexação e log K que, em comparação com o ácido húmico nas mesmas condições, revelaram uma capacidade de complexação muito menor para o ácido fúlvico (Tabela 3). Já os valores de log K ajustados em pH 4,0 não apresentaram diferenças muito significativas, apesar do

Tabela 3. Resultados referentes aos logaritmos das constantes de estabilidade médias e capacidades de complexação em pH 4, 5 e 6, em KNO₃ 0,10 mol L⁻¹, 25,0±0,1°C para a suspensão de 30 mg L⁻¹ de ácido húmico e a solução de 30 mg L⁻¹ de ácido fúlvico, obtidos por regressão não linear com a Equação de Langmuir

Material	Parâmetro de Complexação	pH		
		4,0	5,0	6,0
Ácido Húmico	C _{Cl} x 10 ⁴ /mol g ⁻¹	-	3,5 ± 0,5	4,4 ± 0,4
	Log K ₁	-	6,6 ± 0,1	7,5 ± 0,1
	C _{C2} x 10 ⁴ /mol g ⁻¹	3,3 ± 0,1	5,3 ± 0,9	8,4 ± 0,9
	Log K ₂	5,7 ± 0,2	5,1 ± 0,1	5,31 ± 0,09
	C _{CT} x 10 ⁴ /mol g ⁻¹	3,3 ± 0,1	8,6 ± 0,6	13 ± 1
Ácido Fúlvico	C _{Cl} x 10 ⁴ /mol g ⁻¹	-	0,90 ± 0,03	2,7 ± 0,4
	Log K ₁	-	6,6 ± 0,1	6,2 ± 0,1
	C _{C2} x 10 ⁴ /mol g ⁻¹	0,6 ± 0,2	2,7 ± 0,3	8 ± 2
	Log K ₂	5,1 ± 0,2	5,2 ± 0,2	4,6 ± 0,4
	C _{CT} x 10 ⁴ /mol g ⁻¹	0,6 ± 0,2	3,6 ± 0,4	11 ± 2

Os resultados correspondem à média de pelo menos 3 titulações em cada pH

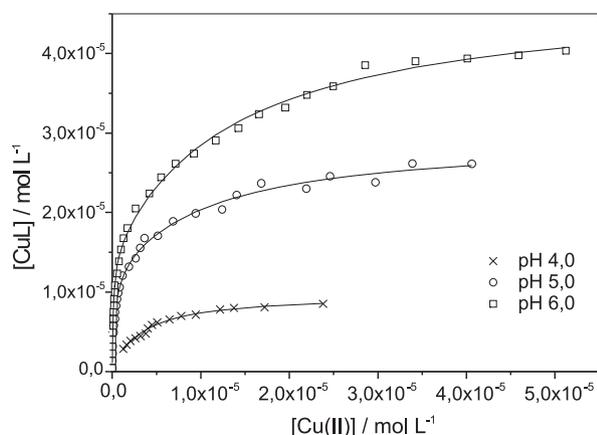


Figura 1. Curvas de complexação de Cu(II) em ácido húmico em diferentes valores de pH, em KNO_3 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ e a $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$. Os símbolos representam os dados experimentais e as linhas representam as curvas ajustadas por regressão não linear considerando um sítio (pH 4,0) e dois sítios (pH 5,0 e 6,0) de adsorção. Em todos os casos o coeficiente de correlação (r^2) foi maior que 0,98

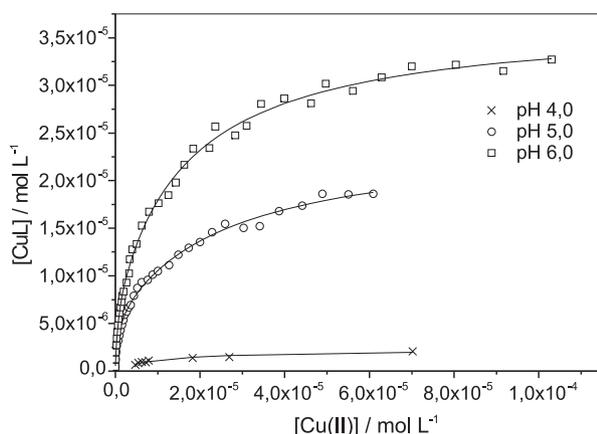


Figura 2. Curvas de complexação de Cu(II) em ácido fúlvico em diferentes valores de pH, em KNO_3 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ e a $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$. Os símbolos representam os dados experimentais e as linhas representam as curvas ajustadas por regressão não linear considerando um sítio (pH 4,0) e dois sítios (pH 5,0 e 6,0) de adsorção. Os coeficientes de correlação (r^2) foram maiores que 0,99 para pH 5,0 e 6,0 e maiores que 0,94 para pH 4,0

log K para o ácido húmico ($5,7 \pm 0,2$) ter sido ligeiramente superior ao do ácido fúlvico ($5,1 \pm 0,2$).

Em pH 5 o ácido húmico possui uma maior capacidade complexante total que o fúlvico e ambos apresentam valores de constantes de estabilidade praticamente iguais para sítios de forte interação, o mesmo ocorrendo com os de fraca interação. Já em pH 6 a capacidade complexante total de ambos materiais húmicos praticamente se equivale, porém as constantes de estabilidade médias com ácido húmico são significativamente maiores, denotando maior força de ligação. Observou-se ainda em pH 6,0 que as quantidades de prótons liberadas nas titulações de ambos materiais são muito próximas: $(5,7 \pm 0,4) \times 10^{-5} \text{ mol de H}^+ \text{ g}^{-1}$ para o ácido fúlvico e $(5,4 \pm 0,3) \times 10^{-5} \text{ mol de H}^+ \text{ g}^{-1}$ para o ácido húmico.

Assumindo-se a formação de complexos bidentados em que dois sítios carboxílicos são utilizados para complexar um íon Cu(II), tem-se que a partir da concentração total de sítios carboxílicos (Tabela 2), 10,4-11,9; 36,8-42,2 e 58,3-68% destes sítios são utilizados para a complexação de íons Cu(II) em pH 4, 5 e 6, respectivamente. Para o ácido fúlvico estas porcentagens são 7,0-8,3 % em pH 5 e 19,3-22,9% em pH 6. Town e Powell⁶ obtiveram porcenta-

gens de 15-18% em pH 5 e 28-33% em pH 6,3 para uma amostra de ácido fúlvico isolada de turfa e porcentagens de 21-27% (pH 5) e 57-67% (pH 6,3) para amostra de ácido húmico isolado de um solo de referência. Os resultados obtidos neste trabalho estão em razoável concordância com os resultados de Town e Powell⁶, especialmente para o ácido húmico, considerando-se as diferenças dos materiais de origem.

Em comparação com o ácido húmico, o ácido fúlvico apresenta uma menor proporção de grupos carboxílicos envolvidos na complexação de íons Cu(II), o que é consistente com uma estrutura caracterizada por grupos carboxílicos isolados, sem possibilidade de formação de quelatos, ou ainda grupos estereoquimicamente inacessíveis⁶. A proporção de sítios carboxílicos do ácido húmico envolvidos na complexação é significativamente maior, o que por sua vez é consistente com uma configuração favorável para complexação de íons Cu(II).

Brown e colaboradores⁷ estudaram a complexação de Cu(II) por ácido fúlvico em pH 6, realizando uma comparação das constantes de estabilidade condicionais obtidas com aquelas determinadas para compostos policarboxílicos modelos, tais como os ácidos pentanodióico, carbalílico (ácido propano 1,2,3-tricarboxílico), diglicólico, ciclopentano 1,2,3,4-tetracarboxílico e tetraidrofurano 2,3,4,5-tetracarboxílico. Para os ácidos carbalílico e ciclopentano 1,2,3,4-tetracarboxílico as constantes de estabilidade determinadas a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e em força iônica $0,0010 \text{ mol L}^{-1}$ foram entre 4,26 e 4,31, respectivamente, enquanto para o ácido pentanodióico em força iônica zero a constante relatada na literatura²³ é 3,16. Estes dados sugerem que os sítios de fraca interação com Cu(II) podem ser governados pela presença de ácidos policarboxílicos, em concordância com os resultados obtidos no presente trabalho. Para os ácidos ciclopentano 1,2,3,4-tetracarboxílico e tetraidrofurano 2,3,4,5-tetracarboxílico, as constantes de estabilidade determinadas foram 4,75 e 7,40, respectivamente, indicando que sítios com alta carga negativa e ligação do tipo éter podem ser responsáveis para explicar as constantes de estabilidade condicionais dos sítios de forte interação.

Por outro lado, deve-se considerar ainda que as substâncias húmicas contêm grupos carboxílicos fenólicos, nos quais a complexação com formação de quelatos se dá através dos oxigênios do grupamento carboxílico e da hidroxila fenólica ligados ao anel benzênico. Borges e colaboradores⁸ estudaram a complexação de Cu(II) por ácidos fenólicos como modelos discretos de ácidos húmicos. Os ácidos estudados foram: ácido 3,4-diidroxicinâmico, ácido 3,4 diidroxifenilacético e ácido 3,4 diidroxibenzóico. As constantes de estabilidade obtidas por estes autores foram bastante similares para os três compostos, estando entre 12,25 e 13,12 para a espécie CuL e entre 21,20 e 21,84 para a espécie CuL₂, valores estes bem maiores que os encontrados neste trabalho, assim como em comparação a outros estudos com substâncias húmicas. Além disso, Borges e colaboradores⁸ não verificaram dependência das constantes com diferentes razões metal-ligante utilizadas, fato que não é observado para substâncias húmicas e exemplifica a limitação de utilização de complexantes modelo, com estruturas relativamente simples, para simular substâncias húmicas. Plaza e colaboradores⁹ determinaram a concentração de sítios ionizáveis, a capacidade complexante em pH 6,0 e a constante de estabilidade condicional dos complexos com Cu(II) de ácidos húmicos extraídos de solos de diferentes regiões da União Européia por espectroscopia de luminescência total. Estes autores verificaram que as substâncias húmicas com maior concentração de grupos carboxílicos e de hidroxilas fenólicas não possuíam, necessariamente, as maiores capacidades complexantes.

Finalmente, deve-se considerar ainda a participação de sítios de complexação contendo N, uma vez que este elemento foi deter-

minado em concentrações apreciáveis na análise elementar, especialmente para o ácido húmico (Tabela 1). Tais grupos nitrogenados provavelmente comporiam a composição dos sítios de forte interação tanto no ácido húmico, como no ácido fúlvico. Plaza e colaboradores⁹ verificaram que as amostras que apresentaram os maiores valores dos logaritmos das constantes dos complexos formados são as de maior teor em nitrogênio, o que foi explicado pelo fato dos íons cobre se ligarem mais fortemente a grupos doadores de par de elétrons.

Finalmente, a maior estabilidade dos complexos formados entre Cu(II) e ácido húmico é confirmada pelo gráfico de $\log K_{DEF}$ em função do $\log \theta$ (Figura 3), onde se verifica que para um mesmo grau de ocupação de sítios, os valores de K_{DEF} para o ácido húmico são sistematicamente maiores que para o ácido fúlvico. Em pH 4 não foi possível calcular os valores de K_{DEF} para os complexos entre o ácido fúlvico e Cu(II).

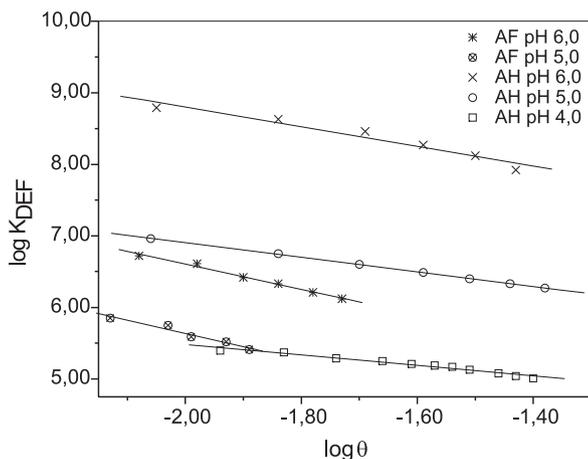


Figura 3. Gráficos de $\log K_{DEF}$ em função do $\log \theta$ obtidos para titulações de suspensões de 30 mg L^{-1} de ácido húmico (AH) e soluções de 30 mg L^{-1} de ácido fúlvico (AF) com solução de Cu(II) $4,72 \text{ mmol L}^{-1}$ ambas em meio KNO_3 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ a $25,0 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$

CONCLUSÕES

O conjunto de resultados aqui obtidos dá suporte para a hipótese de que a conformação espacial dos sítios ionizáveis exerce um papel mais importante que sua concentração na estabilidade dos

complexos e na capacidade de complexação das substâncias húmicas. Apesar da concentração dos sítios ionizáveis do ácido fúlvico ser maior que o dobro da concentração no ácido húmico, a estabilidade dos complexos e a capacidade de complexação deste último foram sistematicamente maiores.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP pelo auxílio financeiro e ao CNPq pela concessão de bolsas de estudo.

REFERÊNCIAS

1. Stevenson, F. J.; *Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reaction*, 2nd ed. John Wiley: New York, 1994.
2. Rocha, J. C.; Rosa, A. H.; *Substâncias Húmicas Aquáticas – Interações com Espécies Metálicas*, 1^a ed., UNESP: São Paulo, 2003.
3. Piccolo, A.; *Soil Sci.* **2001**, *166*, 810.
4. Conte, P.; Piccolo, A.; *Environ. Sci. Technol.* **1999**, *33*, 1682.
5. Sutton, R.; Sposito, G.; *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 9009.
6. Town, R. M.; Powel, H. K. J.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, *279*, 221.
7. Brown, G. K.; Cabaniss, S. E.; MacCarthy, P.; Leenheer, J. A.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, *402*, 183.
8. Borges, F.; Guimarães, C.; Lima, J. L. F. C.; Pinto, I.; Reis, S.; *Talanta* **2005**, *66*, 670.
9. Plaza, C.; Orazio, D. V.; Senesi, N.; *Geoderma* **2005**, *125*, 177.
10. de Lima, E. C.; Masini, J. C.; *Quim. Nova* **1999**, *22*, 679.
11. Abate, G.; Masini, J. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2001**, *12*, 109.
12. <http://www.ihss.gatech.edu>, acessada em Agosto 2006.
13. Thurman, E. M.; Malcolm, R. L.; *Environ. Sci. Technol.* **1981**, *15*, 463.
14. Aleixo, L. M.; Godinho, O. E. S.; Costa, W. F. da; *Anal. Chim. Acta* **1992**, *257*, 35.
15. Abate, J. C.; Masini, J. C.; *Quim. Nova* **1999**, *22*, 661.
16. Parmeggiani, A. C.; Masini, J. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, *14*, 416.
17. Buffle, J.; *Complexation Reactions in Aquatic Systems; An Analytical Approach*, Ellis Horwood Series in Analytical Chemistry; New York, 1990.
18. Pinheiro, J. P.; Mota, M.; Gonçalves, M. L. S.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, *284*, 525.
19. Buffle, J.; Altman, R. S.; Filella, M.; Tessier, A.; *Geochim. Cosmochim. Acta* **1990**, *54*, 1535.
20. Masini, J. C.; Abate, G.; Lima, E. C.; Hahn, L. C.; Nakamura, M. S.; Lichtig, J.; Nagatomy, H. R.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, *364*, 223.
21. Leenheer, J. A.; Wershaw, R. L.; Reddy, M. M.; *Environ. Sci. Technol.* **1995**, *29*, 393.
22. Leenheer, J. A.; Wershaw, R. L.; Reddy, M. M.; *Environ. Sci. Technol.* **1995**, *29*, 399.
23. Martell, A. E.; Smith, R. M.; Motekaitis, R. J.; *NIST Critical Stability Constants of Metal Complexes Database*, NIST, Department of Commerce: Gaithersburg, MD, 1993.