

## Cromatografia por exclusão de tamanho na caracterização de substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa

André Gustavo Ribeiro Mendonça<sup>1</sup> (PG)\*, Wander Gustavo Botero<sup>1</sup> (PG), Luciana Camargo de Oliveira<sup>1</sup> (PQ), Ademir dos Santos<sup>1</sup> (PQ), Alessandro Piccolo<sup>2</sup> (PQ), Julio Cesar Rocha<sup>1</sup> (PQ)  
\*andregm@gmail.com

<sup>1</sup>Instituto de Química – UNESP – Campus de Araraquara

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Del Suolo, della Pianta e dell'Ambiente – Università degli Studi di Napoli Federico II

**Palavras Chave:** HPSEC, cromatografia por exclusão, substâncias húmicas, turfa

### Introdução

Substâncias húmicas (SH) são agregados moleculares heterogêneos que constituem a parte principal da matéria orgânica natural de ocorrência em águas, solos e sedimentos. Recentes estudos têm mudado o conceito de estrutura macromolecular das SH e os resultados direcionam para uma estrutura de associação supramolecular com relativas pequenas moléculas heterogêneas mantidas por forças dispersivas, tais como  $\delta$ - $\delta$ , CH- $\delta$  e forças de van der Waals<sup>1</sup>.

Neste trabalho foram estudadas as distribuições de massas moleculares (MM) de SH extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP (amostra 01) e no município de São Simão-SP (amostras 02 e 03).

### Resultados e Discussão

Foram utilizadas coluna e pré coluna Biosep SEC-C-2000, mantidas a temperatura de 30 °C e fluxo de eluição de 0,6 mL min<sup>-1</sup>. Tampão fosfato foi usado com fase móvel e as amostras de SH em estudo foram previamente tituladas a pH 7,2. Polissacarídeos de massas moleculares conhecidas foram usados como padrões para curva de calibração. Os cálculos das MM foram feitos de acordo com método descrito por YAU *et al.* (1979)<sup>2</sup>.

Os cromatogramas da Figura 1 mostram a absorção dos grupos cromóforos das SH ( $\lambda = 280$  nm) em função do tempo.

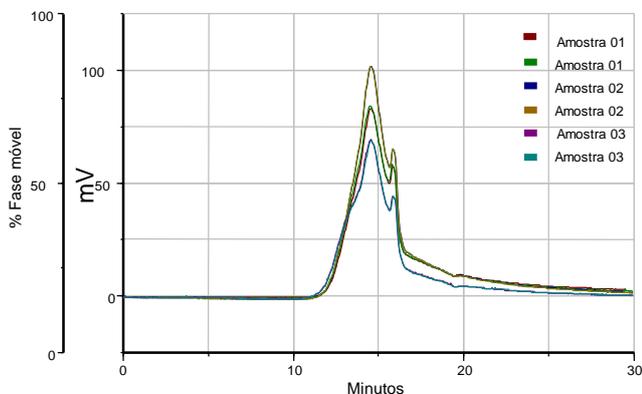


Figura 1. Cromatogramas de exclusão por tamanho (HPSEC) das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP.

Os valores de MM determinados para as amostras 01, 02 e 03 foram 8205, 7393 e 9198 Da, respectivamente. Baseado na Figura 1, a amostra 03 começa a eluir antes das amostras 01 e 02, mostrando que esta amostra possui compostos com maior nível de agregação, resultando num valor de MM maior. Esses dados corroboram com os resultados de RMN <sup>13</sup>C, onde a amostra 03 tem maior porcentagem de grupos alifáticos, os quais podem se auto associar em meio aquoso por efeitos hidrofóbicos, reduzindo assim a energia de solvatação em solução. Assim, essa estabilização termodinâmica cria uma estrutura supramolecular com aparente massa elevada, resultando em menor tempo de eluição na coluna por exclusão de tamanho<sup>3</sup>. No entanto, aplicando testes estatísticos de variância, observa-se que não existem diferenças significativas entre esses valores de MM determinados, no intervalo de 95% de confiança.

Assim, decidiu-se verificar a similaridade ou diferença das partes iniciais dos cromatogramas, as quais são referentes aos compostos mais agregados. Com isso fez-se a separação dos cromatogramas e calcularam-se separadamente os valores de MM desta parte inicial. Os valores determinados foram 23137, 22519 e 24779 Da para as amostras 01, 02 e 03 respectivamente. Portanto, apesar da diferença entre os cromatogramas, quando foram aplicados os testes de variância também observou-se que não existem diferenças significativas nos valores de MM das amostras estudadas, no intervalo de 95% de confiança.

### Conclusões

Os valores de massa molecular média determinados por cromatografia por exclusão de tamanho não são significativamente diferentes para as amostras de substâncias húmicas estudadas, de acordo com testes estatísticos de variância.

### Agradecimentos



<sup>1</sup> Conte, P.; Spaccini, R.; Piccolo, A. *Anal. Bioanal. Chem.* 2006, 386, 382-390.

<sup>2</sup> Yau, W. W.; Kirkland, J. J.; Bly, D. D. *Modern Size Exclusion Chromatography*. New York: Wiley-Interscience. 1979, 318-326.

<sup>3</sup> Piccolo, A. *Adv. Agron.* 2002, 75, 57-134.