

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: FÍSICA

JANAINA SCHARDOSIN

**CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA HUMIFICADA (ÁCIDO
HÚMICO) DE SOLO POR TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS, ANÁLISE
TÉRMICA E MICROSCOPIA ELETRÔNICA**

PONTA GROSSA

2018

JANAINA SCHARDOSIN

**CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA HUMIFICADA (ÁCIDO
HÚMICO) DE SOLO POR TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS, ANÁLISE
TÉRMICA E MICROSCOPIA ELETRÔNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências, área de concentração Física, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências.

Orientador: Sérgio Costa Saab.

PONTA GROSSA

2018

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

S311 ScharDOSin, Janaina
 Caracterização da matéria orgânica
 humificada (ácido húmico) de solo por
 técnicas espectroscópicas, análise térmica
 e microscopia eletrônica/ Janaina
 ScharDOSin. Ponta Grossa, 2018.
 126f.

 Dissertação (Mestrado em Ciências -
 Área de Concentração: Física),
 Universidade Estadual de Ponta Grossa.
 Orientador: Prof. Dr. Sérgio Costa
 Saab.

 1.Húmus. 2.Índice de humificação.
 3.Fracionamento físico. 4.Calagem.
 5.Matéria orgânica do solo. I.Saab, Sérgio
 Costa. II. Universidade Estadual de Ponta
 Grossa. Mestrado em Ciências. III. T.

CDD: 631.43


TERMO DE APROVAÇÃO

JANAINA SCHARDOSIN

“Caracterização da matéria orgânica humificada (ácido húmico) de solo por técnicas espectroscópicas, análise térmica e microscopia eletrônica”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências - Física da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora.

Orientador:


Prof. Dr. Sérgio da Costa Saab
Departamento de Física, UEPG/PR


Prof. Dr. Sandro Xavier de Campos
Departamento de Química, UEPG/PR


Profa. Dra. Tania Toyomi Tominaga
Departamento de Física, UNICENTRO/PR

Ponta Grossa, 09 de abril de 2018.

Dedico este trabalho às duas pessoas da minha vida,
Rafael e Marlene.

Agradecimentos

A Deus, pela força a mim concedida nesta trajetória e ao seu infinito amor que preenche meu coração e me mostra a cada dia a beleza de viver.

Ao meu grande amor Rafael, por todo o companheirismo, amor e paciência dedicados, em especial, nestes dois anos. Obrigada por sempre acreditar no meu potencial e por esta relação tão linda! Te amo muito!

À minha mãe, por todas as orações e por todo o seu amor incondicional.

Ao seu Tino, meu pai, por ter me ensinado que o alcance dos objetivos na vida é consequência de trabalho duro. “Nada cai do céu, nem cairá. Tudo que é meu eu fui buscar.” (Ivan Lins).

Ao Professor Sérgio Costa Saab, pela oportunidade e dedicada orientação, pela sua grande paciência, por todo o conhecimento compartilhado e acima de tudo pela positividade mesmo nos momentos difíceis. Foi uma honra e um aprendizado muito grande conviver nos últimos dois anos com este grande mestre. Seus conselhos e ensinamentos me fizeram evoluir como ser humano. Muito Obrigada!

Aos professores André Mauricio Brinatti e André Vitor Chaves de Andrade pela disponibilidade em compor a banca de qualificação e pelas valiosas contribuições.

Aos professores Ervin Kaminski Lenzi, Francisco Carlos Serbena, José Danilo Szezech Júnior e Ruben Auccaise Estrada por todo o conhecimento compartilhado neste dois anos.

À minha amiga querida e fiel companheira Mariza. Obrigada por dividir comigo, além da amizade e companheirismo, os chocolates, as risadas e o dia-a-dia!

Aos meus familiares, Nice, Luiz, Dani e Cris pela força e por todo o carinho! Em especial aos meus lindos sobrinhos Mateus, Miguel e Felipe por todo o carinho, amor e inspiração.

A todos os meus amigos, que estiveram do meu lado, dando suporte emocional e acima de tudo acreditando na minha capacidade de superação. A necessidade de citação de nomes, neste caso, não se faz necessária, pois conhecendo cada um deles, sei que ao lerem esta parte se sentirão agradecidos.

A todo o grupo FASCA pelo acolhimento, suporte, compartilhamento de ideias e por todos os bons momentos, que renderam boas risadas e tornaram esta trajetória mais leve. Em especial, gostaria de agradecer: ao Luiz Valério Prandel pela seu enorme coração que está sempre disposto a ajudar; à Jaquelinda pela relação de amizade que criamos e pelas nossas conversas sempre muito gostosas; ao André Carlos Auler pelas risadas, compartilhamento de

experiências e pela leveza da amizade que construímos; à Aline por toda a sensibilidade, amizade e companheirismo; à Lohane, pelo companheirismo e pela relação intensa que construímos; ao Edson pela ajuda no laboratório e pela relação de aprendizagem que construímos; aos meninos Victor e Luiz Otávio pela parceria e risadas; à Tiffany e à Risadinha pelo carinho incondicional que estes serzinhos me proporcionaram.

Aos membros dos laboratórios CLab-Mu/UEPG, Físico-Química/UEPG e GFAMA/UNICENTRO pelo auxílio nas análises experimentais.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Física da UEPG, pela oportunidade de realizar esta experiência profissional.

A todos os brasileiros que, ao pagarem seus impostos, contribuíram para esta formação e, a CAPES pela administração e repasse da bolsa de estudos.

E, finalmente, a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a execução deste trabalho, ainda que aqui não sejam nominados.

Muito Obrigada!

“Do ser ao pó, é só carbono.” (Lenine)

Será?

Resumo

O processo de humificação, conversão de resíduos orgânicos em húmus, é um fator importante na compreensão da dinâmica da matéria orgânica. A sua quantificação, é fundamental para o estudo da evolução química dessa substância. O objetivo deste trabalho foi caracterizar as amostras de ácidos húmicos (AHs) e quantificar o grau de humificação do solo e das frações físicas (por tamanho de partículas). As análises de Espectroscopias de Fluorescência de Raios X por Dispersão de Comprimento de Onda, Fluorescência na região do Visível, Espectroscopia Vibracional na região de Infravermelho e de Absorção na região do Ultravioleta e Visível, Espectroscopia Raman, acompanhadas das técnicas de Análise Térmica, Microscopia Eletrônica de Varredura com Canhão Eletrônico por Efeito de Campo e Espalhamento Dinâmico da Luz foram utilizadas. A quantificação do grau de humificação mostrou que AHs extraídos da profundidade (10- 20 cm) possuem estruturas aromáticas mais condensadas. A fração de AH que apresentou maior grau de humificação foi a extraída do solo com a adição de calagem, o que demonstra uma influência do calcário na aceleração do processo de humificação. O estudo das frações granulométricas do solo, determinou, com espectroscopia de infravermelho, os atributos orgânicos que estão associados as frações do solo e, que a maioria dos minerais presentes nas frações granulométricas, foram identificados como sendo caulinita, haloisita, quartzo e gibbsita. Já para o estudo da humificação dos AHs extraídos das frações granulométricas, a quantificação do grau de humificação, do maior para o menor, é procedente da fração silte, seguidos da fração argila e, por fim, a fração areia.

Palavras-Chaves: Húmus. Índice de humificação. Fracionamento físico. Calagem. Matéria Orgânica do Solo. Fluorescência no Visível. WDXRF. UV-visível. IV. DLS.

Abstract

The humification process, conversion of organic waste into humus, is an important factor to understand the organic matter dynamics. Its quantification is vital for the study of this substance chemical evolution. This study aimed at characterizing humic acid (HA) samples and quantify the degree of soil humification and physical fractions (particle size). The analysis of Spectroscopies of wavelenght dispersive X-ray fluorescence, visible fluorescence, vibrational infrared region, ultraviolet and visible light absorption and Raman along with the techniques of Thermal Analysis, scanning electron microscopy with field effect gun and dynamic light scattering were employed. The humification degree quantification revealed that the HA extracted from the 10-20cm depth presented more polycondensed structures. The HA fraction that presented the highest humification degree was extracted from the soil with the addition of liming, which demonstrates the limestone influence in the acceleration of the humification process. The study of the soil granulometric fractions determined, with infrared spectroscopy, the organic properties that are associated to soil fractions and that most of the minerals present in the granulometric fractions, were identified as kaolinite, halloysite, quartz and gibbsite. The study of the humification in the HA extracted from the granulometric fractions quantified the humification degree and revealed the highest values in the silt fraction followed by the clay fraction and, finally, the lowest values were found in the sand fraction.

Keywords: Humus. Humification index. Physical Fractionation. Liming. Soil Organic Matter. Visible Fluorescence. WDXRF. UV-VIS. IV.DLS.

Lista de Figuras

Figura 1.1- Perfil do solo e seus principais horizontes.....	25
Figura 1.2- Proporções das fases de um solo considerado ideal para o crescimento de plantas.	25
Figura 1.3- Escalas utilizadas para classificação das partículas do solo de acordo com o tamanho.	26
Figura 1.4- Diagrama de classificação dos componentes da MOS	28
Figura 1.5- Mecanismo de formação das substâncias húmicas.....	30
Figura 1.6- Modelo de AH proposto por Schulten e Schnitzer (1993).	31
Figura 1.7- Modelo Tridimensional de AH proposto por Schulten e Schnitzer (1995), destacando os átomos de carbono (em azul), hidrogênio (em branco), oxigênio (em vermelho) e nitrogênio (em azul escuro); as letras A, B e C indicam os espaços vazios presentes na estrutura.	32
Figura 1.8- Esquema das substâncias húmicas proposto por Simpson et al. (2002). As unidades vermelhas representam os cátions metálicos, as unidades pretas os polissacarídeos, as unidades azuis os polipeptídios, as unidades verdes as cadeias alifáticas e as unidades marrons os fragmentos aromáticos provenientes da lignina.	33
Figura 1.9- Modos de Vibrações Moleculares. Os sinais (.) e (X) indicam movimentos para fora e para dentro do plano.	37
Figura 1.10- Transições eletrônicas possíveis durante a excitação de uma molécula.....	41
Figura 1.11- Exemplo de espectro de absorção no UV-Visível do AH e identificação das regiões de absorbância 465nm e 665nm.....	42
Figura 1.12- Diagrama de energia para o fenômeno de fluorescência. Após a absorção, os estados vibracionais mais altos cedem energia para a vizinhança, processo de decaimento não radiativo. Após, ocorre uma transição radiativa (fluorescência), para que a molécula emita o excesso de energia.	45

Figura 1.13- Configuração esquemática dos espectrofotômetros de fluorescência de raios X por dispersão de energia (a) e por dispersão de comprimento de onda.48

Figura 1.14- Esquema de formação da imagem em microscopia eletrônica de varredura evidenciando vários aspectos. Após a interação do feixe de elétrons primários (EP) com a amostra, ocorre a emissão de elétrons retroespalhados (ERP) e elétrons secundários (ES). ...51

Figura 2.1- Procedimento de extração química das frações da matéria orgânica do solo: (a) extração da primeira parcela da fração ácido fúvico; (b) remoção da fração humina por centrifugação; (c) extração da segunda parcela de ácido fúvico; (d) ácido húmico em membranas de diálise; (e) processo de diálise da fração ácido húmico; e , por fim (f) ácido húmico liofilizado.65

Figura 2.2- Curvas de calibração para análise quantitativa por Fluorescência de Raios X por Dispersão de Comprimento de Onda, para (a) Carbono (C) e (b) para Nitrogênio (N).69

Figura 2.3- Espectros de Infravermelho dos ácidos húmicos extraídos dos solos: sem aplicação de calcário (camada de superfície $AH_{SC(S)}$ e camada de profundidade $AH_{SC(P)}$); com aplicação de calcário (camada de superfície $AH_{CC(S)}$ e camada de profundidade $AH_{CC(P)}$); e, referência (camada de superfície $AH_{Ref(S)}$ e camada de profundidade $AH_{Ref(P)}$).74

Figura 2.4- Espectros Raman (entre 100 a 4000 cm^{-1}) dos ácidos húmicos extraídos dos solos: sem aplicação de calcário (camada de superfície $AH_{SC(S)}$ e camada de profundidade $AH_{SC(P)}$); com aplicação de calcário (camada de superfície $AH_{CC(S)}$ e camada de profundidade $AH_{CC(P)}$); e, referência (camada de superfície $AH_{Ref(S)}$ e camada de profundidade $AH_{Ref(P)}$)76

Figura 2.5- Espectros de absorbância no UV-Visível dos AHs extraídos dos solos sem adição de calcário (AH_{SC}), com adição de calcário (AH_{CC}) e solo de referência (AH_{Ref}). Todas as amostras de solo em superfície (S) e profundidade (P).78

Figura 2.6- Espectros de fluorescência, no modo emissão, com λ_{ex} em 240 nm (a) e λ_{ex} em 465 nm (b), dos ácidos húmicos extraídos dos solos: sem aplicação de calcário (camada de superfície $AH_{SC(S)}$ e camada de profundidade $AH_{SC(P)}$); com aplicação de calcário (camada de superfície $AH_{CC(S)}$ e camada de profundidade $AH_{CC(P)}$); e, referência (camada de superfície $AH_{Ref(S)}$ e camada de profundidade $AH_{Ref(P)}$).79

Figura 2.7- Diagrama representativo dos índices de humificação para os AHs extraídos dos solos sem e com adição de calcário e referência, obtidos pelos métodos de Zsolnay et al. (1999) (A_4/A_1) (a) e Milori et al. (2002) (A_{465}) (b).....	81
Figura 2.8- Curvas de TG e DTG das amostras de ácido húmico extraídas do solo sem aplicação de calcário na camada de superfície (a) e profundidade (b); Ácido húmico extraído do solo com aplicação de calcário na camada de superfície (c) e profundidade (d); Ácido húmico extraído do solo de referência na camada de superfície (e) e profundidade (f). O zoom da região pontilhada, nos gráficos (b), (d) e (f) mostra as duas etapas de perda de massa no terceiro evento térmico.....	83
Figura 2.9- Curvas de DTA de ácidos húmicos extraídos de solos sem adição de calcário na camada de superfície ($AH_{SC(S)}$) e profundidade ($AH_{SC(P)}$), com adição de calcário na camada da superfície ($AH_{CC(S)}$) e profundidade ($AH_{CC(P)}$) e solos de referência na superfície ($AH_{Ref(S)}$) e profundidade ($AH_{Ref(P)}$).....	85
Figura 2.10- Micrografias, com baixo nível de ampliação, em escala variando de 20 a 100 μm , das amostras de $AH_{SC(S)}$ (a), $AH_{SC(P)}$ (b), $AH_{CC(S)}$ (c), $AH_{CC(P)}$ (d), $AH_{Ref(S)}$ (e), $AH_{Ref(P)}$ (f) ..	86
Figura 2.11- Micrografias, em escala de 1 a 10 μm , das amostras de $AH_{SC(S)}$ (a), $AH_{SC(P)}$ (b), $AH_{CC(S)}$ (c), $AH_{CC(P)}$ (d), $AH_{Ref(S)}$ (e) e $AH_{Ref(P)}$ (f).....	88
Figura 2.12- Micrografias, na ordem de 200 nm, de $AH_{SC(S)}$ (a), $AH_{SC(P)}$ (b), $AH_{CC(S)}$ (c), $AH_{CC(P)}$ (d), $AH_{Ref(S)}$ (e) e $AH_{Ref(P)}$ (f).....	89
Figura 3.1- Metodologia de fracionamento físico do solo: (1) A solução contendo argila, silte e areia fina é colocada em tubos para centrifugação; (2) Ultracentrifugação; (3) Precipitação das partículas maiores (silte, areia fina), sobrenadante contendo argila em suspensão; (4) Retirada de alíquota do sobrenadante; (5) Análise DLS do sobrenadante; (6) Remoção do sobrenadante por sifonação; (7) Obtenção do produto final; (8) Secagem da solução contendo argila; (9) Ressuspensão do precipitado, com o intuito de remover qualquer resquício de argila; (10) Fracionamento do precipitado (silte e areia fina) por tubos de sedimentação.....	100
Figura 3.2- Espectros de absorvância no Infravermelho das amostras de TFSA e de suas frações granulométricas, oriundas das camadas de superfície (a) e da profundidade (b) do solo.	106

Figura 3.3- Micrografias da fração argila provenientes do solo de superfície (A) e profundidade (B), em escala de 10 μm	108
Figura 3.4- Micrografias da fração argila provenientes do solo de superfície (A) e profundidade (B), em escala de 1 a 2 μm . Os poros existentes na amostra (B) estão representados pela letra P. As setas indicam o mineral caulinita.	109
Figura 3.5- Micrografias da fração argila provenientes do solo de superfície (A) e profundidade (B), em escala de 5 e 1 μm	110
Figura 4.1- Espectros de fluorescência dos ácidos húmicos extraídos das frações físicas do solo, na camada de superfície (0 – 10 cm) (S) e profundidade (10 – 20 cm) (P), no modo emissão, com λ_{ex} em 240 nm (a) e λ_{ex} em 465 nm (b).	120
Figura 4.2- Diagrama representativo dos índices de humificação para os AHs extraídos das frações físicas do solo na camada de superfície (0 – 10 cm) (S) e profundidade (10 – 20 cm) (P), obtidos pelo método de Zsolnay et al. (1999) (A_4/A_1) (a) e Milori et al. (2002) (b).	121

Lista de tabelas

Tabela 1.1- Absorções no IV de impurezas inorgânicas.	38
Tabela 1.2- Atribuições frequentes no espectro Raman para substâncias húmicas. As siglas indicam ν estiramento, ν_s estiramento assimétrico, ν_a estiramento assimétrico e δ vibrações angulares.	40
Tabela 2.1- Condições de medida para obtenção da calibração do equipamento de WDXRF, para análise elementar.	68
Tabela 2.2- Percentual de cinza das amostras de AHs extraídas dos solos.	72
Tabela 2.3- Percentual de massa de Carbono (C) e Nitrogênio (N) das amostras de ácidos húmicos extraídos de solos.	72
Tabela 2.4-: Índices de humificação, obtidos por espectroscopia de absorção UV-vis e calculados pela razão E_4/E_6 , das amostras de AH extraídas dos solos sem adição de calcário ($AH_{SC(S)}$ e $AH_{SC(P)}$), com adição de calcário ($AH_{CC(S)}$ e $AH_{CC(P)}$) e solo de referência ($AH_{Ref(S)}$ e $AH_{Ref(P)}$).	78
Tabela 2.5- Resultado da Análise termogravimétrica de ácidos húmicos extraídos de solos: sem adição de calcário na camada de superfície ($AH_{SC(S)}$) e profundidade ($AH_{SC(P)}$); com adição de calcário na camada da superfície ($AH_{CC(S)}$) e profundidade ($AH_{CC(P)}$); e, solos de referência na superfície ($AH_{Ref(S)}$) e profundidade ($AH_{Ref(P)}$).	84
Tabela 2.6- Quantificação Elementar por EDS das amostras ácidos húmicos extraídos de solos: sem adição de calcário na camada de superfície ($AH_{SC(S)}$) e profundidade ($AH_{SC(P)}$); com adição de calcário na camada da superfície ($AH_{CC(S)}$) e profundidade ($AH_{CC(P)}$); e, solos de referência na superfície ($AH_{Ref(S)}$) e profundidade ($AH_{Ref(P)}$).	90
Tabela 3.1- Tamanho das frações granulométricas do solo.	99
Tabela 3.2- Teores de argila, silte e areia das camadas 0-10 cm (superfície) e de 10-20 cm (profundidade) do solo estudado.	103
Tabela 3.3- Valores de diâmetro médio das argilas (A) contidas em cada lavagem (L) realizada no fracionamento granulométrico, das amostras provenientes da camada de superfície (S) e	

profundidade (P) do solo, juntamente com o índice de polidispersividade (PDI) de cada solução analisada. 104

Tabela 3.4-Atribuições orgânicas e inorgânicas para as bandas indicadas nos espectros de infravermelho. As siglas indicam ν estiramento, ν_a estiramento assimétrico, τ estiramento fora do plano e δ vibrações angulares. 107

Tabela 4.1- Quantidade extraída de ácido húmico, em relação a massa total de cada fração física utilizada..... 118

Tabela 4.2- Índice de humificação e média ponderada da razão E_4/E_6 , das amostras de AH extraídas das frações físicas do solo, nas camadas de superfície (0 - 10 cm) (S) e profundidade (10 – 20 cm) (P)..... 119

LISTA DE SIGLAS

AF	Ácido Fúlvico
AH	Ácido Húmico
DLS	Espalhamento Dinâmico da Luz
DSC	Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA	Análise Térmica Diferencial
DTG	Análise Termogravimétrica Diferencial
EDXRF	Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia
FEG	Microscopia eletrônica por Efeito de Campo
HU	Humina
IHSS	Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas
ISSC	Sociedade Internacional de Ciência do Solo
IV	Infravermelho
ITG	Índice Termogravimétrico
MEV	Microscópios Eletrônicos de Varredura
MOL	Matéria Orgânica Leve
MOS	Matéria Orgânica do Solo
SH	Substâncias Húmicas
TFSA	Terra Fina Seca ao Ar
TG	Análise de Termogravimetria
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
WDXRF	Fluorescência de Raios X por Dispersão de Comprimento de Onda
XRF	Fluorescência de Raios X

SUMÁRIO

Introdução Geral	20
Referências	22
 1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	 24
1.1 SOLO: ASPECTOS GERAIS	24
1.1.1 Composição do Solo	24
1.1.2 Classificação do Solo	26
1.2 MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO (MOS)	27
1.2.1 Substâncias Húmicas.....	28
1.2.1.1 <i>Formação das Substâncias Húmicas</i>	29
1.2.1.2 <i>Estrutura das Substâncias Húmicas</i>	31
1.2.2 Matéria orgânica nas frações do Solo	33
1.2.2.1 <i>Matéria orgânica nas frações granulométricas</i>	33
1.2.2.2 <i>Frações químicas da matéria orgânica</i>	35
1.3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO.....	36
1.3.1 Espectroscopia Vibracional de Absorção no Infravermelho.....	36
1.3.2 Espectroscopia Raman	39
1.3.3 Espectroscopia de absorção na região UV-visível (razão E ₄ /E ₆)	41
1.3.4 Espectroscopia de fluorescência na região do visível	44
1.3.5 Espectroscopia de fluorescência de raios X	47
1.3.6 Análises Térmicas	49
1.3.7 Microscopia eletrônica de Varredura (Mev-Feg).....	50
Referências	52
 2 CARACTERIZAÇÃO DAS FRAÇÕES DE ÁCIDO HÚMICO (AH) DE SOLOS SOB A INFLUÊNCIA DE CALAGEM.	 63
Resumo	63

2.1 INTRODUÇÃO.....	63
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	64
2.2.1 Amostragem	64
2.2.2 Fracionamento Químico.....	65
2.2.3 Teor de cinza.....	67
2.2.4 Caracterização	67
2.2.4.1 Análise Elementar por Fluorescência de Raios X por Dispersão do Comprimento de Onda	67
2.2.4.2 Espectroscopia de Infravermelho	69
2.2.4.3 Espectroscopia Raman	69
2.2.4.4 Espectroscopia de absorção na região do UV-visível (razão E_4/E_6)	70
2.2.4.5 Espectroscopia de fluorescência na região do visível	70
2.2.4.6 Análises Térmicas	71
2.2.4.7 Microscopia Eletrônica de Varredura com Canhão Eletrônico por Efeito de Campo	71
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
2.3.1 Fracionamento Químico e Teor de Cinza	71
2.3.2 Técnicas de caracterização.....	72
2.3.2.1 Análise elementar por Fluorescência de Raios X por Dispersão do Comprimento de Onda	72
2.3.2.2 Espectroscopia de Infravermelho	73
2.3.2.3 Espectroscopia Raman	75
2.3.2.4 Espectroscopia de absorção na região do UV-visível (razão E_4/E_6)	77
2.3.2.5 Espectroscopia de fluorescência na região do visível	79
2.3.2.6 Análises Térmicas	82
2.3.2.7 Microscopia Eletrônica de Varredura com Canhão Eletrônico por Efeito de Campo	85
2.4 CONCLUSÕES.....	90
Referências	91
3 CARACTERIZAÇÃO QUANTITATIVA E QUALITATIVA DA GRANULOMETRIA DE UM CAMBISSOLO HÁPLICO ALUMÍNICO	97
Resumo	97

3.1 INTRODUÇÃO.....	97
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	99
3.2.1 Amostragem	99
3.2.2 Fracionamento Físico	99
3.2.3 Caracterização	102
3.2.3.1 <i>Análise de Espalhamento Dinâmico da Luz</i>	102
3.2.3.2 <i>Infravermelho</i>	103
3.2.3.3 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura com Canhão Eletrônico por Efeito de Campo</i>	103
3.3 RESULTADO E DISCUSSÕES	103
3.3.1 Fracionamento Físico	103
3.3.2 Caracterização	104
3.3.2.1 <i>Análise de Espalhamento Dinâmico da Luz</i>	104
3.3.2.2 <i>Espectroscopia de Infravermelho</i>	105
3.3.2.3 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura com Canhão Eletrônico por Efeito de Campo</i>	108
3.4 CONCLUSÕES	111
Referências	111
 4 ESTUDO DA HUMIFICAÇÃO DO ÁCIDO HÚMICO PRESENTE NAS FRAÇÕES GRANULOMÉTRICAS DO SOLO	 115
Resumo	115
4.1 INTRODUÇÃO.....	115
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	116
4.2.1 Fracionamento químico das frações físicas do solo	116
4.2.2 Caracterização dos AHs presentes em cada fração do solo	117
4.2.2.1 <i>Espectroscopia de absorção na região do UV-visível (razão E₄/E₆)</i>	117
4.2.2.2 <i>Espectroscopia de fluorescência na região do visível</i>	117
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	118
4.3.1 Fracionamento químico das frações físicas do solo	118

4.3.2 Estudo da humificação dos AHs presentes em cada fração física do solo.....	118
4.3.2.1 <i>Espectroscopia de absorção na região do UV-visível (razão E_4/E_6)</i>	118
4.3.2.2 <i>Espectroscopia de fluorescência no visível</i>	120
4.4 CONCLUSÕES	122
Referências	123
CONSIDERAÇÕES FINAIS	126

Introdução Geral

O solo é um sistema heterogêneo que troca energia e matéria com a atmosfera, hidrosfera e biosfera. Ele é constituído por uma porção inorgânica e outra orgânica (MACCARTHY, 2001). Parte desta porção orgânica, é constituída de Substâncias Húmicas (SH) que possuem estrutura química pouco definida, massa molecular relativamente alta e coloração escura. As SHs se dividem, de acordo com a solubilidade em meio aquoso em função do pH, em três principais frações: (i) Ácidos Húmicos(AH), solúvel em pH alcalino; (ii)Ácidos Fúlvicos (AF), solúvel em pH ácido; e, (iii) Huminas (HU) insolúvel em qualquer pH. O processo de conversão de resíduos orgânicos em húmus é denominado humificação (STEVENSON, 1994).

Por ser constituído de uma mistura de pequenas e grandes moléculas de grupos funcionais químicos distintos, o AH é uma fração do solo bastante reativa, o que faz com que possua inúmeras funções no ambiente (PRIMO; MENEZES e SILVA, 2011). Por outro lado, sua heterogeneidade química, é o principal fator que dificulta a definição de um modelo de estrutura química (PIGATIN; NUNES e REZENDE, 2015).

A compreensão da dinâmica das moléculas de AH é fundamental tanto para potencializar suas funções quanto para avaliar sua vulnerabilidade a mudanças no ambiente. Inúmeros estudos de caracterização dessas substâncias vem possibilitando cada vez mais o entendimento de seus mecanismos de reação bem como a influência desses com o meio (CHEN; SENESI e SCHNITZER, 1977; MILORI et al, 2002; BENITES et al., 2005; PURMALIS; PORSNOVS e KLAVINS, 2011; SAAB; MARTIN-NETO, 2007; GIOVANELA et al., 2010).

Como consequência de sua composição heterogênea e da melhor compreensão que os estudos de caracterização já existentes proporcionaram, a aplicação dessas substâncias vem se apresentando em diversas áreas: na agricultura são utilizados para melhorar o crescimento de plantas pois quando desprotonados podem transportar micro e macro nutrientes do solo para raízes e, na remediação da poluição, pois podem se ligar a metais pesados, removendo-os do ambiente; na medicina, sua potencialidade de atuação como antiviral (por ser capaz de se ligar a domínios catiônicos de vírus, impedindo sua replicação) e como agente antioxidante (devido a presença de diversos grupos fenólicos e carboxílicos em sua estrutura que são capazes de sequestrar radicais livres) (MELO; MOTTA e SANTANA, 2016). Atualmente, o AH vem atraindo bastante a atenção por apresentar grande potencial na utilização como material precursor na fabricação de materiais para supercapacitores, como óxido de grafeno e grafeno monocristalino (QIAO et al., 2014; WASIŃSKI; WALKOWIAK e LOTA, 2014; YIN et al., 2014; XING et al., 2017; SHULGA et al., 2018).

O AH é considerado uma das frações da matéria orgânica mais estável e responsável pela fixação de carbono orgânico no solo. Geralmente a estabilidade desta fração deve-se principalmente a capacidade de formação de microagregados com as partículas do solo, sendo os minerais da argila e silte os principais componentes. Esta estabilização é normalmente promovida pela intercalação dessas substâncias em microagregados e poros pequenos que evitam que as enzimas hidrolíticas se aproximem do substrato orgânico (BRUNETTI et al. 2016).

O processo de evolução de AHs está diretamente influenciado pelo ambiente em que a matéria orgânica foi formada. Em solos agrícolas, por exemplo, a prática de aplicação de calcário para corrigir a acidez é bastante comum. Esta prática pode contribuir para mudanças biológicas nos processos de mineralização do carbono orgânico do solo (AYE; SALE e TANG, 2016), devido à forte estimulação da atividade biológica, levando a liberação de nutrientes do ciclo interno de substâncias húmicas (ULRICH, 1983; MARSCHNER; WILCZYNSKI, 1991) e conseqüentemente, alterando o processo de evolução de SHs. No entanto, mesmo com relatos científicos da alteração na matéria orgânica provocada por influência da calagem, na literatura existe poucas investigações que tenham examinado mais a fundo estes efeitos no processo de evolução química de AHs.

Diante disto, as hipóteses para elaboração deste trabalho são: (i) Aumento da humificação em profundidade do solo; (ii) A calagem influencia na humificação; e, (iii) Das frações físicas do solo, o silte possui material orgânico mais humificado. Para verificar se estas hipóteses se confirmam, os objetivos deste trabalho foram compreender a interação da calagem com AHs (Capítulo 2) e avaliar o grau de humificação de AHs associados as frações físicas do solo (Capítulo 4). Como o fracionamento físico era necessário para a avaliação do grau de humificação dos AHs associados as frações argila, silte e areia, aproveitou-se a oportunidade para caracterizar quantitativamente e qualitativamente as frações granulométricas de um solo (Capítulo 3). Devido a diversidade de temas (porém em essência todos comunicam-se) e para melhor compreensão, o presente estudo foi dividido em quatro capítulos. Além desses capítulos, também é apresentada uma conclusão geral a respeito da caracterização dos AHs extraídos de solos e de frações granulométricas.

Referências

- AYE, N. S.; SALE, P. W. G.; TANG, C. The impact of long-term liming on soil organic carbon and aggregate stability in low-input acid soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 52, n. 5, p. 697-709, 2016.
- BRUNETTI, G. et al. Characterization of Clay-and Silt-Sized Fractions and Corresponding Humic Acids Along a Terra Rossa Soil Profile. **CLEAN–Soil, Air, Water**, v. 44, n. 10, p. 1375-1384, 2016.
- BENITES, V. M. et al. Properties of black soil humic acids from high altitude rocky complexes in Brazil. **Geoderma**, v. 127, n. 1, p. 104-113, 2005.
- CHEN, Y.; SENESI, N.; SCHNITZER, M. Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. **Soil Science Society of America**, v. 41, p. 352-358, 1977.
- GIOVANELA, M. et al. Chemical and spectroscopic characterization of humic acids extracted from the bottom sediments of a Brazilian subtropical microbasin. **Journal of molecular structure**, v. 981, n. 1, p. 111-119, 2010.
- MACCARTHY, P. The principles of humic substances. **Soil Science**. v. 166, n. 11, p. 738-751, novembro, 2001.
- MARSCHNER, B.; WILCZYNSKI, A. W.. The effect of liming on quantity and chemical composition of soil organic matter in a pine forest in Berlin, Germany. **Plant and Soil**, v. 137, n. 2, p. 229-236, 1991.
- MELO, B. A. G.; MOTTA, F. L.; SANTANA, M. H. A. Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. **Materials Science and Engineering**, v. 62, p. 967-974, 2016.
- MILORI, D. M. B. P. et al. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**. v. 167, n. 11, p. 139-149, 2002.
- PIGATIN, L. B. F.; NUNES, R. R.; REZENDE, M. O. O. Substâncias Húmicas. In: NUNES, R. R.; REZENDE, M. O. O. **Recurso solo: propriedades e usos**. 1 ed. São Carlos-SO: Editora Cubo, 2015. Cap. 10, p. 294-309, 808 p.

PRIMO, D. C.; MENEZES, R. S. C.; SILVA, T. O. Substâncias húmicas da matéria orgânica do solo: uma revisão de técnicas analíticas e estudos no nordeste brasileiro. **Scientia Plena**, v. 7, n. 5, 2011, p. 1-13.

PURMALIS, O.; PORSNOVS, D.; KLAVINS, M. Differential thermal analysis of peat and peat humic acids. **Scientific Journal of Riga Technical University**, v. 24, p. 89- 94, 2011.

QIAO, Z. et al. Humic acids-based hierarchical porous carbons as high-rate performance electrodes for symmetric supercapacitors. **Bioresource technology**, v. 163, p. 386-389, 2014.

SAAB, S. C.; MARTIN-NETO, L. Anéis aromáticos condensados e relação E4/E6: estudo de ácidos húmicos de Gleissolos por RMN de ^{13}C no estado sólido utilizando a técnica CP/MAS desacoplamento defasado. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 260-263, 2007.

SHULGA, Y. M. et al. Preparation of graphene oxide-humic acid composite-based ink for printing thin film electrodes for micro-supercapacitors. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 730, p. 88-95, 2018.

STEVENSON, F. J. **Humus Chemistry: Genesis, composition, reactions**. New York, John Wiley & Sons, 1994. p. 443.

ULRICH, B. A concept of forest ecosystem stability and of acid deposition as driving force for destabilization. **Effects of accumulation of air pollutants in forest ecosystems**, v. 29, p. 1-29, 1983.

WASIŃSKI, K.; WALKOWIAK, M.; LOTA, G.. Humic acids as pseudocapacitive electrolyte additive for electrochemical double layer capacitors. **Journal of Power Sources**, v. 255, p. 230-234, 2014.

XING, B. et al. Facile synthesis of graphene nanosheets from humic acid for supercapacitors. **Fuel Processing Technology**, v. 165, p. 112-122, 2017.

YIN, J. et al. Meso-and micro-porous composite carbons derived from humic acid for supercapacitors. **Electrochimica Acta**, v. 136, p. 504-512, 2014.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 SOLO: ASPECTOS GERAIS

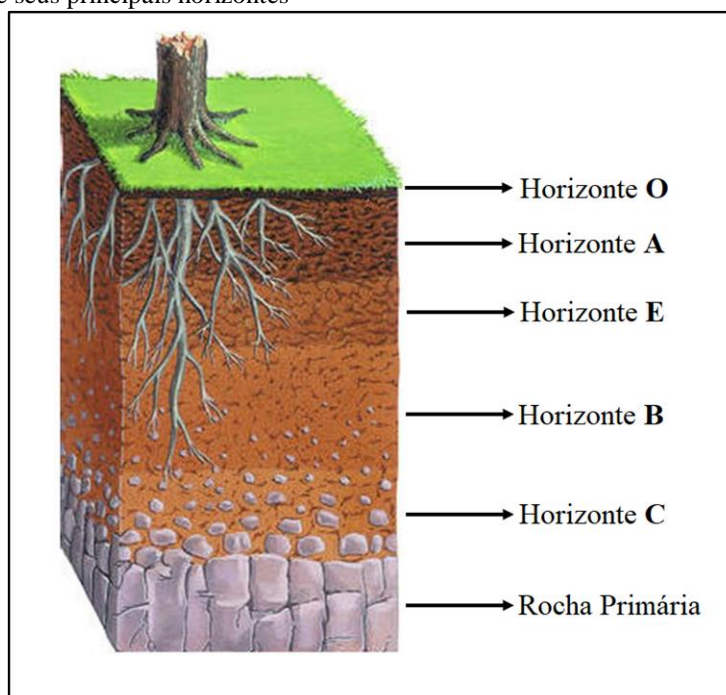
1.1.1 Composição do Solo

O conceito de solo na literatura, pode diferenciar em função da escala e do ponto de vista de quem o analisa. No meio ambiental, em escala de poucos metros, o solo é a camada da superfície da Terra em contato direto com a atmosfera e sobre a qual se desenvolve boa parte da biosfera do planeta (MELO; PEREZ, 2009), formando a zona de transição entre a rocha primária e o ar, armazenando água e oxigênio para serem usados pelas raízes das plantas (BRADY; WEIL, 2013). Do ponto de vista físico-químico, em escala de micrômetros, e/ou até menor, o solo é uma mistura de compostos minerais e orgânicos, formados pela ação de agentes físicos, químicos e biológicos sobre a rocha primária (LUCHESE; FAVERO; LENZI, 2002).

Segundo BRANDY e WEIL (2013, p.10) a palavra “solo” pode se referir a dois conceitos distintos: solo como um material e solos como corpos naturais, individualmente diferentes, que cobrem a Terra, sendo bastante variável de um lugar para o outro. A formação de um solo passa tanto por processos construtivos quanto destrutivos. O processo destrutivo ocorre na degradação da rocha primária e na decomposição de resíduos orgânicos. Já o processo construtivo, é quando ocorre a associação, tanto de fragmentos da rocha primária com a matéria orgânica, quanto formação de novos minerais e estabilização da matéria orgânica. A este processo é possível atribuir como resultado a formação de camadas contrastantes, chamadas de horizontes. O desenvolvimento desses horizontes, acima da rocha primária, é característica única do solo.

Na figura 1.1, está representado o perfil de um solo completo, o qual é composto por cinco horizontes: O, A, E, B, C e Rocha Primária. Esses horizontes refletem o histórico da evolução de cada solo e podem ser diferenciados pela espessura, cor, textura, estrutura e composição (MEURER, 2004).

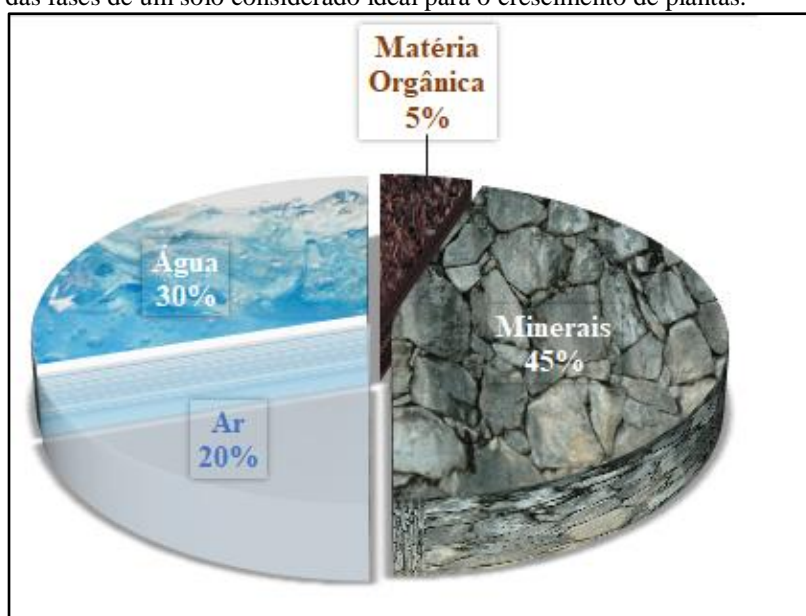
Figura 1.1- Perfil do solo e seus principais horizontes



Fonte: Adaptado de Meurer (2004, p. 17).

O solo, em sua totalidade, é constituído por três fases: sólida, compostas principalmente por minerais e matéria orgânica; líquida, ocupa os poros da fase sólida e é constituída de água com substâncias dissolvidas; e, a fase gasosa, que também ocupa o espaço poroso do solo (MEURER, 2004). As proporções relativas à estas fases influenciam o comportamento e a produtividade do solo. Na figura 1.2, é demonstrado a composição de um horizonte de superfície, considerado bom para o crescimento das plantas.

Figura 1.2-Proporções das fases de um solo considerado ideal para o crescimento de plantas.

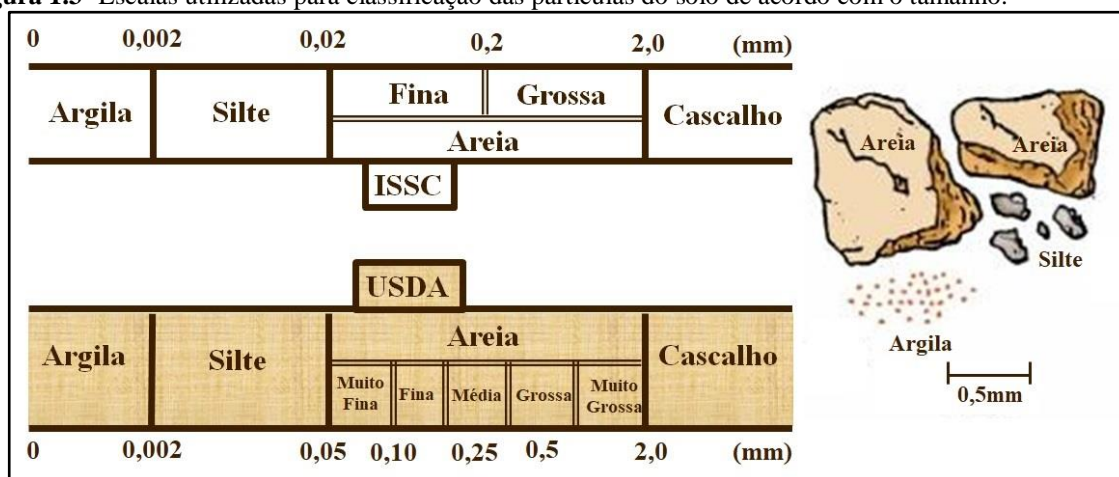


Fonte: Adpatado de Brandy e Weil (2013, p.17).

A parte sólida, é constituída de partículas de natureza orgânica ou mineral, usualmente classificadas por tamanho de partículas. A estas classes de tamanho são denominadas frações granulométricas do solo. A textura do solo é a proporção relativa destas frações e é considerada um dos atributos de classificação do solo (NUNES e REZENDE, 2015).

No estudo da textura do solo, existem vários sistemas de classificação por tamanho de partículas. As duas escalas usualmente utilizadas são a do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) e a proposta pela Sociedade Internacional de Ciência do Solo (ISSC).

Figura 1.3- Escalas utilizadas para classificação das partículas do solo de acordo com o tamanho.



Fonte: Adaptada de Brandy e Weil (2013, p.108). A ilustração foi adaptada de Fernandes Filho e Francelino (2001, p. 17).

1.1.2 Classificação do Solo

A necessidade de classificação está intimamente ligada a busca de conhecimento. A compreensão é seguida de classificação, no propósito de dar sentido ao que acabou de ser compreendido. Com o estudo do solo, ou pedologia, isto não é diferente.

A classificação de solos brasileiros, segundo a SANTOS et al. (2014, p. 97), “é obtida a partir da avaliação dos dados morfológicos, físicos, químicos e mineralógicos do perfil que o representam”. Para esta pesquisa, o solo analisado é um CAMBISSOLO HÁPLICO Alumínico (SANTOS et al., 2013) de textura argilo-siltosa (AULER, 2014).

CAMBISSOLO HÁPLICO Alumínico são solos constituídos por material mineral, sem a presença do horizonte O, com o horizonte B incipiente (apresenta pouca alteração física e química, porém suficiente para desenvolvimento de cor e estrutura) subjacente ao horizonte A. Neste caso, o solo deve apresentar caráter alumínico na maior parte dos primeiros 100 cm do horizonte B e, o horizonte A, não deve apresentar um caráter húmico ou fúvico (SANTOS et al. 2014).

1.2 MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO (MOS)

A matéria orgânica do solo (MOS), responsável em média por 5% de sua composição, tem como principal função condicionar as características químicas, físicas e biológicas, desempenhando papel fundamental no potencial produtivo do solo.

Segundo Stevenson (1994), a MOS é todo material orgânico, de origem vegetal ou animal, incluindo liteira, os fragmentos de resíduos parcialmente decompostos, a biomassa microbiana, os compostos orgânicos solúveis e a matéria orgânica estabilizada no solo (húmus).

Sua influência nas características químicas do solo, estão intimamente relacionadas à disponibilidade de nutrientes, à capacidade de troca de cátions e à complexação de elementos tóxicos e micronutrientes no solo (BAYER e MIELNICZUK, 2008).

As principais características físicas do solo afetadas pela MOS são a coloração e a agregação. Horizontes superficiais, onde há acúmulo de MOS, possuem coloração que variam entre marrom escuro e preto (BAYER e MIELNICZUK, 2008). O processo de agregação ocorre do revestimento de partículas minerais do solo, com resíduos decompostos de plantas e outros materiais orgânicos. Devido ao processo de agregação, características físicas do solo são afetadas indiretamente, como densidade, porosidade, a aeração, a capacidade de retenção e a infiltração de água, entre outras (SANTOS et al., 2008;).

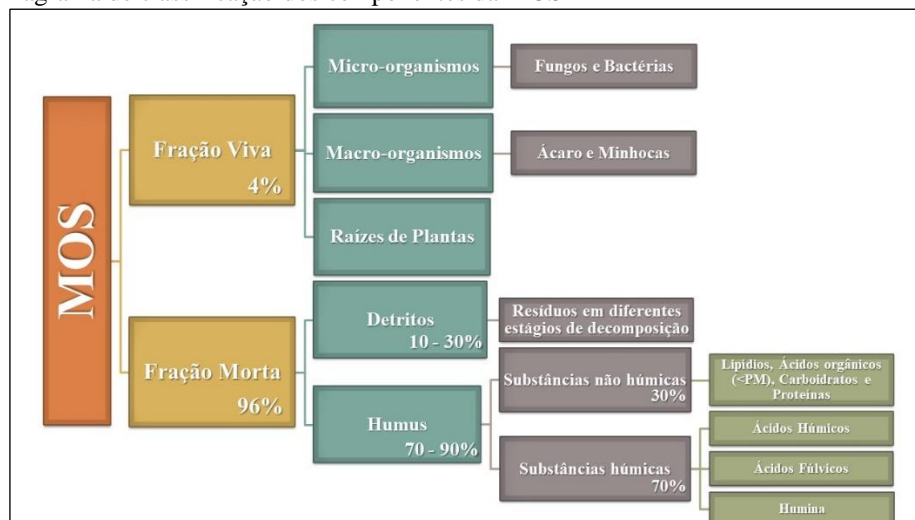
A MOS atua como fonte de carbono, energia e nutrientes para os microrganismos e para as plantas e, com isto, influencia nas características biológicas do solo. A variedade de resíduos orgânicos mortos altera a diversidade de organismos vivos que compõem o solo (SANTOS et al, 2008; CARDOSO e ANDREOTE, 2016). Esta característica da MOS é relatada em uma revisão teórica feita por Nardi et al. (2017), onde diversos trabalhos mostram os efeitos estimulantes da MOS no crescimento de células vegetais.

A dinâmica de evolução da MOS passa por processos bioquímicos envolvendo microrganismos. Este processo de degradação pode ser dividido em mineralização e humificação.

A critério de classificação, inicialmente a MOS pode ser dividida em dois grupos fundamentais, fração viva e fração morta. A fração viva é constituída por microrganismos, macrorganismos e raízes de plantas. A fração morta, pode ser subdividida em: Detritos que são raízes mortas e resíduos vegetais que são reconhecíveis; e, o Humus, uma mistura de substâncias orgânicas em fase avançada de decomposição que não apresenta vestígios morfológicos do material do qual se originou (MELO e ALLEONI, 2009; BRADY e WEIL,

2013). A Figura 1.4, apresenta um diagrama com a classificação dos componentes da MOS, separados por critérios químicos e físicos.

Figura 1.4- Diagrama de classificação dos componentes da MOS



Fonte: Adaptado de Moura (2013, p. 19).

O húmus, é constituído de substâncias não húmicas e substâncias húmicas. As substâncias não húmicas, também conhecidas como frações lábeis ou matéria orgânica particulada (MOP), constituem cerca de 30 % do húmus, são produzidas principalmente pela ação microbiana. Apresentam propriedades físicas e químicas bem definidas, como polissacarídeos, aminoácidos, açúcares, proteínas, gorduras e ácidos orgânicos de baixo peso molecular. Já as substâncias húmicas são componentes poliméricos resistentes a degradação, com característica química complexa e mal definida. É a fração que apresenta os componentes de maior massa molecular e maior reserva de carbono orgânico total (C). Estas constituem cerca de 70 % do húmus e são dividida em ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) e humina (HU), de acordo com a sua solubilidade em pH (GUERRA et al., 2008; BRADY e WEIL, 2013).

1.2.1 Substâncias Húmicas

Na literatura, o consenso sobre substâncias húmicas (SH) é impreciso e dependente das características observadas por quem o define. Para Stevenson (1994), este termo trata de uma mistura heterogênea de substâncias amorfas, de coloração castanha a negra, constituídas de moléculas polidispersas com elevada massa molecular e grupos funcionais distintos. MacCarthy (2001), define como materiais de ocorrência natural, encontrados ou extraídos de solos, sedimentos de água, resultantes da decomposição e resíduos de plantas e animais e que não se enquadram em nenhuma das outras classes de substâncias orgânicas. A Sociedade

Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) (2007), define SH como misturas complexas e heterogêneas de materiais polidispersos formados por reações bioquímicas e químicas durante o decaimento e transformação dos restos vegetais e microbianos. Pigatin, Nunes e Rezende, (2008), abordam as SHs como um material consistindo de uma mistura homogênea, polifuncional, sem características químicas e físicas definidas, em diferentes graus de polidispersão e que após várias transformações, permanece no ambiente.

Não somente nos solos, as SHs podem ser encontradas também em águas naturais, turfas, pântanos, sedimentos aquáticos e marinhos (STEVENSON, 1994).

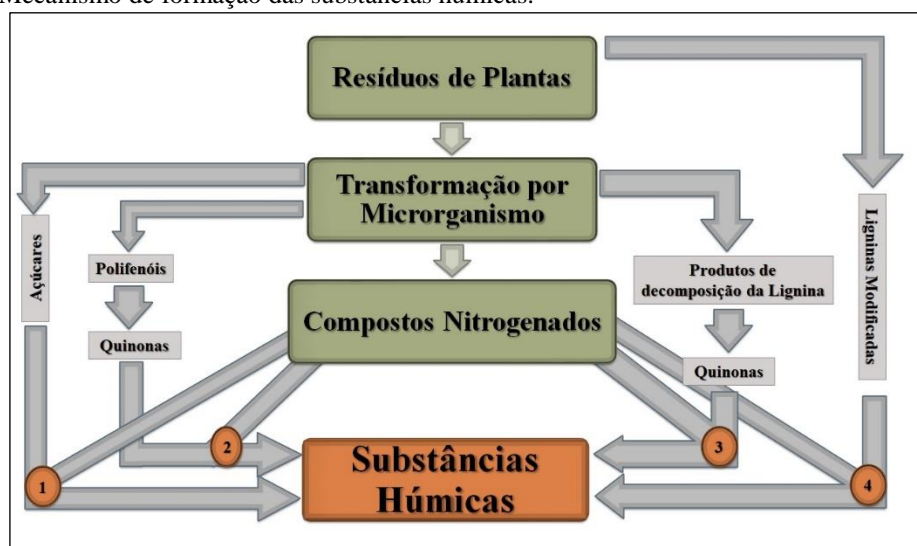
A importância que estas substâncias desempenham no meio ambiente são inúmeras. Nos solos, elas interagem com os metais e a fração argila, formando agregados oriundos de uma ligação argila-metal-SH, favorecendo a aeração do solo e a diminuição da erosão, pois evitam o escoamento de água. Devido a sua coloração escura, as SHs também contribuem para a retenção de calor, estimulando o desenvolvimento de raízes e a germinação de sementes (STEVENSON, 1994; MESSIAS, 2004).

Quimicamente as SHs demonstram um comportamento polieletrólítico, atuando como agentes complexantes de íons metálicos, além de adsorverem poluentes orgânicos (ROCHA E ROSA, 2003). Também atuam também na mineralização do solo, fornecendo nutrientes (CO_2 , NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} e SO_4^{2-}) para o crescimento da planta, como agentes quelantes, sequestrando alguns metais (Cu^{+2} , Mn^{+2} e Zn^{+2}) que também servem de nutriente para as plantas. Tem função tamponante em amplos intervalos de pH, ajudando a manter as condições reacionais do solo, entre outras propriedades (STEVENSON, 1994).

1.2.1.1 Formação das Substâncias Húmicas

As vias de formação das SHs são inúmeras, devido à grande quantidade de estruturas precursoras e ao enorme número de possibilidades de interação entre elas, o que é de fato, a razão da dificuldade em se estabelecer uma estrutura precisa para os AH, AF e HU (PIGATIN, 2015). Stevenson (1994, p.189), estabelece que há pelo menos quatro vias principais (Figura 1.5) pelas quais as SH são formadas.

Figura 1.5- Mecanismo de formação das substâncias húmicas.



Fonte: Adaptado de Stevenson (1994, p.189).

A primeira via de formação (número 1 da Figura 1.5), estabelece a teoria da condensação amino-açúcar. Maillard, em 1916, considerava que as SHs eram resultado da reação, exclusivamente química, entre açúcares redutores e aminoácidos (originados da atividade microbiana). A partir dos estudos de Maillard, surge então o conceito de humificação (STEVENSON, 1994; MESSIAS, 2004).

Humificação é o processo de conversão de resíduos orgânicos em húmus (fração estável da MOS) por meio de atividades biológicas e reações químicas (STEVENSON, 1994). Os principais processos que humificam a matéria são hidrólise, oxidação, redução e síntese por microrganismos (SEGNINI, 2007).

A segunda e a terceira via de humificação (número 2 e 3 da Figura 1.5), representa a teoria dos polifenóis. Na via 2, os polifenóis são originados por microrganismos específicos ou de fontes de carbono não lignificados. Já na via 3, a fonte de polifenóis é a lignina (biopolímero de estrutura complexa). Nas duas vias, os polifenóis podem se recombinar entre si ou com outras moléculas, formando assim as quinonas. Estas sofrem reações de condensação com compostos nitrogenados (amônia, aminoácidos e proteínas) resultando em substâncias húmicas (STEVENSON, 1994; MESSIAS, 2004).

Por fim, a quarta via, teoria postulada por Fisher e Scharader em 1921, que sustenta a ideia de que as SHs seriam formadas essencialmente de ligninas parcialmente modificadas, uma espécie de matéria orgânica pouco transformada. Esta também é conhecida como via de herança (DUCHAUFOR, 1977; MESSIAS, 2004; GUERRA, 2008).

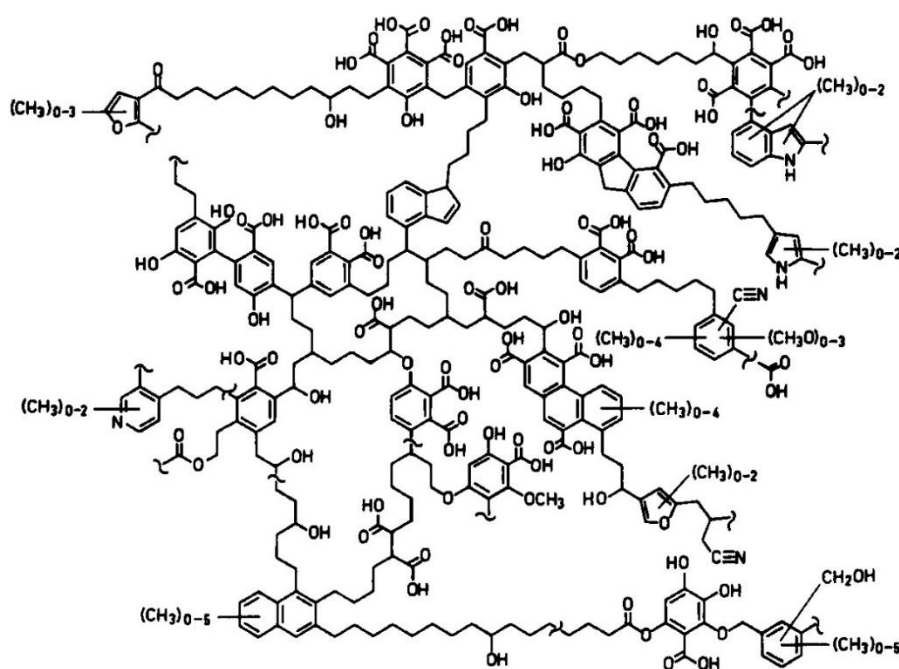
1.2.1.2 Estrutura das Substâncias Húmicas

A construção estrutural da SH é um tema de bastante controvérsias entre o meio científico. A dificuldade em padronização de uma estrutura para estas substâncias somente reflete a essência química do que realmente são, uma grande mistura de componentes que estão diretamente condicionados ao ambiente e aos inúmeros caminhos reacionais para a sua formação.

Não satisfeitos com esta imprecisão, muitos pesquisadores apresentaram propostas, baseadas em evidências empíricas. As mais aceitas são baseadas nas similaridades entre diversas substâncias estudadas.

As primeiras propostas de estrutura química da SH eram constituídas essencialmente de anéis aromáticos policondensados. Todavia, avanços tecnológicos nas técnicas de espectroscopia e análises químicas possibilitaram constatar que o grau de aromaticidade, apresentado em todas as propostas anteriores, era muito menor do que esperado. Diante disto, Schulten e Schnitzer em 1993, propuseram uma estrutura para o AH (Figura 1.6) incorporando grandes porções alifáticas, modelo macromolecular (SCHULTEN e SCHNITZER, 1993; NOVOTNY e MARTIN-NETO, 2008).

Figura 1.6-Modelo de AH proposto por Schulten e Schnitzer (1993).



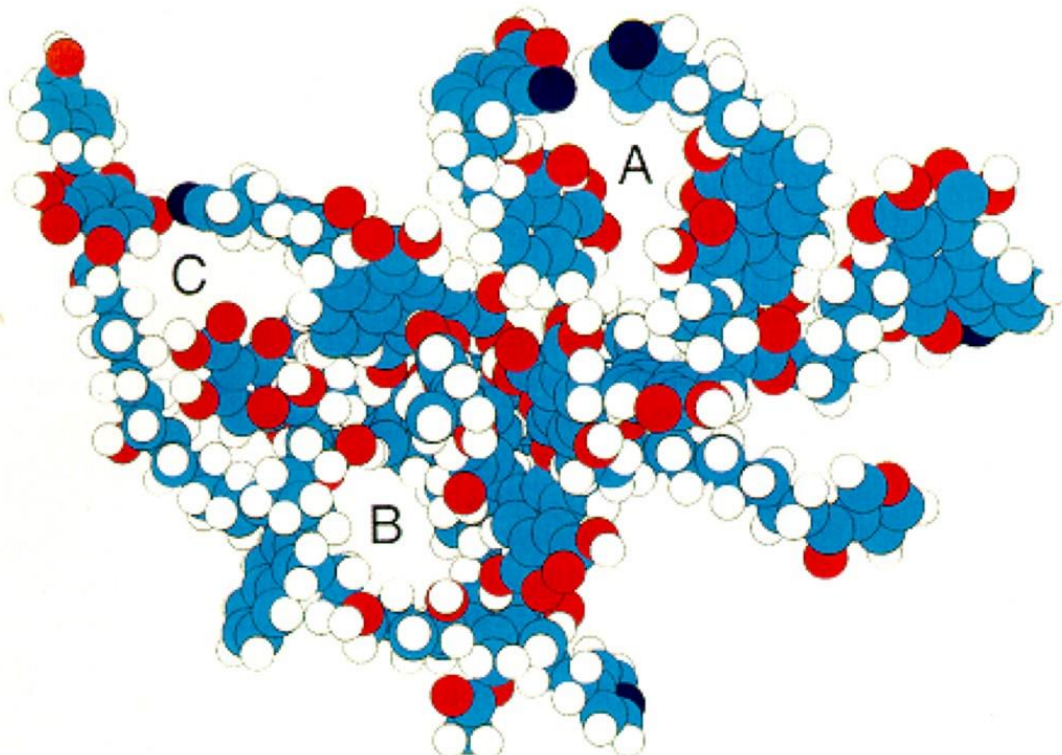
Fonte: Schulten e Schnitzer (1993).

Posteriormente, em 1995, estes mesmos pesquisadores, com base no modelo anterior e auxílio de modelagem estrutural, apresentaram a estrutura tridimensional do AH (Figura 1.7).

Nesta estrutura encontra-se porções alifáticas e aromáticas dispostas de tal forma que em alguns locais são formados espaços vazios de diferentes tamanhos, onde outros compostos orgânicos, hidrofílicos ou hidrofóbicos, tais como carboidratos, lipídios, pesticidas e outros materiais poluentes poderiam alojar-se. Elementos inorgânicos, como argilas e óxidos hidrôxidos, poderiam também ser encontrados nestes espaços (SCHULTEN e SCHNITZER, 1995; NOVOTNY e MARTIN-NETO, 2008).

Os últimos estudos, questionam o modelo propostos anteriormente, introduzindo um conceito de modelo supramolecular (PICCOLO e CONTE, 2000; PICCOLO, 2002). Esta estrutura seria formada pela agregação de pequenas moléculas que se unem por meio de interações hidrofílicas (van der Waals, π - π e ligações CH- π), hidrofóbicas (cadeias polietilenicas, ácidos graxos e esteroides) e complexos metálicos (PICCOLO, 2002; CANELLAS, VELLOSO e SANTOS, 2005b).

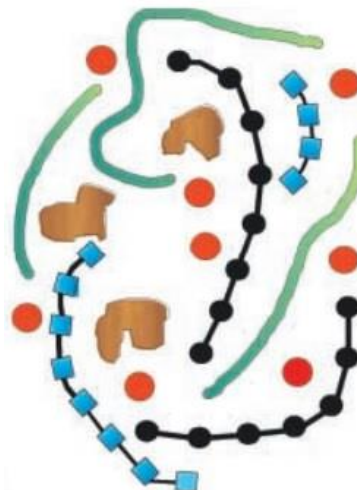
Figura 1.7- Modelo Tridimensional de AH proposto por Schulten e Schnitzer (1995), destacando os átomos de carbono (em azul), hidrogênio (em branco), oxigênio (em vermelho) e nitrogênio (em azul escuro); as letras A, B e C indicam os espaços vazios presentes na estrutura.



Fonte: Schulten e Schnitzer (1995).

Este modelo, foi reforçado com a publicação dos resultados de Simpson et al (2002), que mostraram que as SHs extraídas de solos, são formadas por uma mistura de agregados. Neste mesmo estudo, um esquema de estrutura foi proposto (Figura 1.8).

Figura 1.8- Esquema das substâncias húmicas proposto por Simpson et al. (2002). As unidades vermelhas representam os cátions metálicos, as unidades pretas os polissacarídeos, as unidades azuis os polipeptídios, as unidades verdes as cadeias alifáticas e as unidades marrons os fragmentos aromáticos provenientes da lignina.



Fonte: Simpson et al. (2002).

A dificuldade em encontrar uma estrutura que melhor define as SHs continua até os dias atuais e, para alguns pesquisadores da área, irá continuar. MacCarthy (2001) acredita que a compreensão da SH exige não considerar o conforto da química lógica, onde os conceitos de estequiometria, estrutura molecular discreta e pureza prevalecem. É preciso entrar em um espaço onde o óbvio não é evidente.

1.2.2 Matéria orgânica nas frações do Solo

1.2.2.1 Matéria orgânica nas frações granulométricas

Tendo em vista que o solo é composto por frações minerais, orgânicas, água e ar, o ideal é que a avaliação da dinâmica e da estabilização da MOS esteja vinculado a mineralogia do solo, pois segundo Guerra e Santos (2008), ao se considerar esta interação, as partículas minerais podem ser divididas em diferentes tamanhos (frações granulométricas: Argila, Silte e Areia) e as frações orgânicas em diferentes estágios de decomposição.

Para Christensen (1992), o fracionamento físico é considerado menos destrutivo e os resultados com as frações físicas do solo estão diretamente relacionado à função da MOS *in situ*. Os métodos de fracionamento físico são baseados em dois princípios: a densidade e o tamanho da partícula.

No fracionamento físico por densidade é possível separar a fração da MOS que está fracamente ligada a fração mineral do solo, por exemplo, restos de vegetais e materiais resistentes a decomposição que possuem baixa densidade em relação aos demais constituintes do solo. Neste processo, o solo é disperso em líquidos, normalmente sais inorgânicos, com

densidade compreendida entre 1,5 a 2,0 g.mL⁻¹. O material que flutua, é a matéria orgânica leve (MOL) ou matéria orgânica particulada (MOP), enquanto o material mais denso contém a matéria orgânica pesada. Esta mistura pode ser submetida à vibrações ultrassônicas, com objetivo de aumentar o rendimento da dispersão e romper ligações de restos orgânicos que estejam retidos dentro de agregados. Na literatura é possível encontrar muitos métodos que se utilizam de agitação e/ou vibração ultrassônica (CHRISTENSEN, 1992; GUERRA e SANTOS, 2008; DICK et al., 2009).

A EMBRAPA em 2012 publicou um manual de padronização de métodos para análise granulométrica, neste documento, recomenda-se a utilização de agitador do tipo Wagner por 16 horas a 50 rpm, para cada lote de 20 g de solo (EMBRAPA, 2012).

Para o fracionamento granulométrico, ou fracionamento de tamanho de partículas, utiliza-se peneiramento e o processo de sedimentação. Após passar pelo processo de dispersão mecânica ou vibracional, a fração areia grossa, composta por MOP, é separada por peneiramento úmido com malha de 53 µm. A fração silte, areia fina e argila são separadas por sedimentação, utilizando tubos e/ou centrifugação. Esta parte do procedimento de fracionamento físico é baseada na equação de Stokes, mais detalhada na seção 2.2.2, tendo como produto final complexos organo-minerais.

Mitton et al. (2017) utilizando o procedimento de fracionamento físico da matéria orgânica, pelo método de sonicação, para um latossolo vermelho distrófico, observaram que a fração argila apresentou maior capacidade de estocar C e N, seguida das frações silte e areia. Assim, ficou evidenciado que a maior percentual de C está ligada a frações menores que 53 µm, que demonstra a capacidade de interação organo-mineral da fração argila.

Quanto ao grau de humificação da MOS, Christensen (1992) afirma que quanto menor o tamanho da fração maior será o grau de humificação associada ela. Martin-Neto et al. (1998) ao caracterizar por ressonância magnética nuclear (NMR) e eletrônica (EPR), amostras de solo fracionadas fisicamente, demonstraram a partir da quantificação dos espectros de NMR de ¹³C, que na fração organo-mineral silte ocorre acúmulo de aromaticidade, indicando que a MOS presente nesta fração encontra-se em um estado avançado de humificação. Saab e Martin-Neto (2003) também obtiveram o mesmo resultado, em seu estudo houve variação da temperatura das amostras, mostrando que a fração silte permaneceu mais estável mesmo a altas temperaturas (600 °C), o que demonstra que a MOS associada a esta fração é mais estável devido sua maior recalcitrância ou pela ligação organo-mineral.

1.2.2.2 Frações químicas da matéria orgânica

As SHs constituem a parte da MOS de maior complexidade química, consequência de serem formadas por um conjunto de compostos de diferentes pesos moleculares e características físico-químicas distintas. Além disso, constituem a porção da matéria orgânica que está mais ligada a fração mineral do solo. Consequentemente, a qualidade de sua análise fica diretamente dependente de seu fracionamento e, o estudo de suas frações possibilita a compreensão de muitos processos físico-químicos que ocorrem no solo.

De forma geral, as SHs são divididas de acordo com sua solubilidade em pH. O procedimento químico de extração produz três frações principais: humina (HU), insolúvel em qualquer pH e permanece ligada a matriz mineral do solo; ácidos fúlvicos (AF), apresentam grande quantidade de grupamentos funcionais oxigenados, solúveis em qualquer valor de pH, e aspecto amarelo-pardo; e, ácidos húmicos (AH), solúvel somente em meio alcalino de coloração castanho-escuro, é considerado a fração mais estável da matéria orgânica humificada (STEVENSON, 1994; PIGATIN, 2015).

Segundo Primo, Menezes e Silva (2011), atualmente existem vários métodos de extração e fracionamento das SHs (Kononova, Dabin, Danneberg e Ullah, Schnitzer, Swift, Benites, purificação com ácido fluorídrico (HF), resina DAX-8, diálise e liofilização, Swift). A diferença entre esses métodos está no uso de substâncias extratoras, relação massa da amostra/extrator, tempo de agitação, centrifugação e formas de purificação.

O método de fracionamento químico padronizado pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) é o mais comum entre a sociedade de pesquisadores de SH. Este recomenda como extrator padrão a solução NaOH na concentração de 0.5 ou 0.1 mol.L⁻¹ (SWIFT, 1996). A metodologia requer um tratamento inicial do solo com HCl 0.1 mol.L⁻¹ para remover carbonatos e outros cátions polivalentes que podem interferir a eficiência da extração da solução alcalina (CANELLAS et al., 2005a).

Cunha et al. (2008), utilizando a metodologia de fracionamento químico de SH proposta pela IHSS, quantificou e caracterizou os AH extraídos da camada 0-20 cm de solos do estado do Amazonas sob floresta e cultivo agrícola. Entre as frações húmicas extraídas, a mais abundante nesses solos é a HU. A caracterização da fração AH, demonstrou que as frações pertencentes a solos antropogênicos são mais humificadas do que as de solos não antropogênicos.

Marschner e Wiczynski, (1991) evidenciaram que a adição de calagem em florestas de pinos em Berlim, diminuiu o estoque de C orgânico em todos os horizontes estudados. Também

ocorreu o domínio dos AF em relação aos AH nos horizontes inferiores a 10 cm desses solos e houve uma diminuição da quantidade de AH dos solos com adição de calcário. A respeito da quantificação as frações químicas da MOS, eles acreditam que há relação com o aumento da atividade microbiana, que foi acompanhado por uma mudança de populações de decomposição, por exemplo, fungos para bactérias. Consequentemente, mudanças na composição dos produtos finais ocorreram.

1.3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

1.3.1 Espectroscopia Vibracional de Absorção no Infravermelho

A radiação infravermelha (IV) é uma região do espectro eletromagnético, situada entre as radiações visível e micro-ondas, que se subdivide em três regiões, IV próximo (12800 a 4000 cm^{-1}), IV médio (4000 a 200 cm^{-1}) e IV distante (200 a 10 cm^{-1}). Usualmente os espectros IV são expressos em número de onda (ν , unidade em cm^{-1}), devido a sua relação direta com o valor da energia e com a frequência de vibração molecular (PAVIA et al., 2010). A região de maior interesse para a análise IV de substâncias orgânicas situa-se no intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} , referente a faixa do IV médio (ABREU et al., 2009).

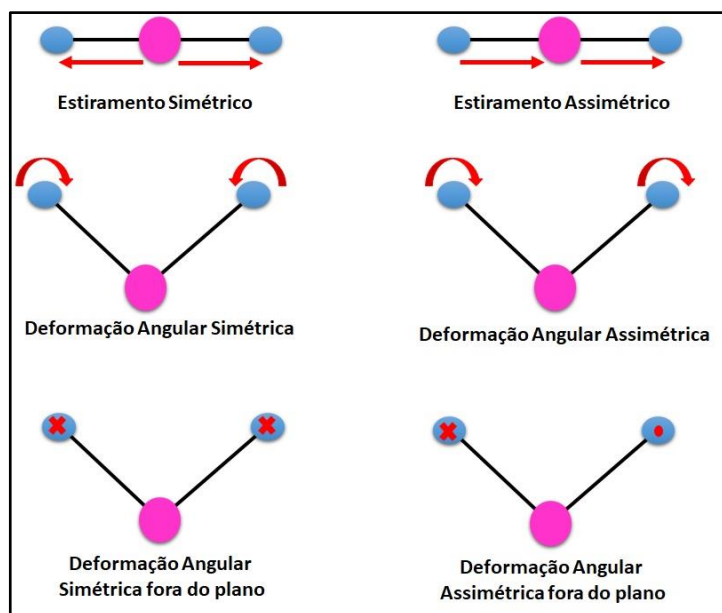
A espectroscopia de infravermelho baseia-se na absorção de energia no comprimento de onda típico de movimentos vibracionais e rotacionais das moléculas. Ao incidir radiação IV na amostra, esta irá ressoar com a frequência de vibração característica de cada ligação, com isto, a energia absorvida e a amplitude de vibração serão aumentadas. Então, o detector do espectrômetro de IV identifica o pico de absorção em um número de onda, devido a energia alterada pela absorção nas frequências de ressonância. Basicamente, existem duas vibrações fundamentais: (i) estiramento, que ocorre quando os átomos permanecem no mesmo eixo de ligação, aumentando e diminuindo as distâncias entre eles, e a (ii) deformação, que é quando as posições dos átomos mudam em relação ao eixo de ligação original (STEVENSON, 1994). A Figura 1.9 mostra algumas vibrações típicas para grupos de átomos.

Os espectros de IV consistem em uma representação gráfica da correlação entre intensidade de absorbância (A), ou transmitância (T) e a energia de radiação de IV, como já citado, expressa em número de onda (ν). A transmitância é a razão entre a energia transmitida pela amostra e a energia que nela incide. A absorbância está relacionada à transmitância da seguinte maneira

$$A = \log_{10} \frac{1}{T} \quad (1)$$

(CANELLAS e RUMJANEK, 2005d; SILVERSTEIN, BASSLER e MORRIL, 1994).

Figura 1.9- Modos de Vibrações Moleculares. Os sinais (.) e (X) indicam movimentos para fora e para dentro do plano.



Fonte: A autora.

Para que uma vibração resulte na absorção de energia em IV, esta deve causar alteração no momento dipolar da molécula, provocando variações na distribuição eletrônica ao redor das ligações. Quando ocorre acoplamento do campo elétrico gerado pela vibração, com o campo magnético oscilante da radiação eletromagnética, um sinal de energia radiante será absorvido. Logo, a frequência adequada para que ocorra este fenômeno é determinada pelas forças de ligações e a massa dos átomos envolvidos (SILVERSTEIN, BASSLER e MORRIL, 1994; ABREU et al., 2009).

O espectro de IV não irá mostrar sinais de absorção para cada modo vibracional da molécula. O número de bandas pode ser acrescentado ou diminuído por interações no nível vibracional da molécula que levam a combinações (ABREU et al., 2009). Mesmo moléculas simples, produzem espectros extremamente complexos. Logo, para a avaliação da amostra, é necessário que haja uma comparação de espectros, entre compostos conhecidos (consulta de tabelas) e o composto a ser estudado. Tendo em vista que os resultados de espectroscopia de IV devem complementar os resultados de outras técnicas.

Para auxiliar na caracterização do espectro de IV, na literatura existem algumas tabelas que trazem as bandas características dos espectros de IV para SHs (SILVERSTEIN, BASSLER

e MORRIL, 1994; ABREU et al., 2009; STEVENSON, 1994; CANELLAS e RUMJANEK, 2005d; SAAB, 1999).

A análise de IV também pode ser utilizada com o intuito de detectar impurezas inorgânicas das substâncias húmicas, a tabela 1.1 relaciona alguns números de onda característicos dessas impurezas.

Tabela 1.1- Absorções no IV de impurezas inorgânicas.

Número de Onda (cm⁻¹)	Grupo de Absorção
3700	Estiramento axial de OH externo da estrutura da Caulinita
3620	Estiramento axial de OH interno da estrutura da Caulinita
3520, 3445 e 3390	Estiramento OH em Gibbsita
1100 - 1090	Estiramento Si – O -Si de silicatos; Quartzo
800 - 770	Caulinita, Glauconita, Montmorilonita e Quartzo

Fonte: Adaptado de SAAB (1999).

Além da caracterização de alguns grupos funcionais, DOBBS et al. (2009) utilizaram a técnica de IV com transformada de Fourier para comparação dos espectros de ácido húmico e ácido fúvico. Para os AF, os espectros de IV apresentam-se de forma mais simplificada, com absorções mais agudas e com sensíveis diferenças entre os tipos de AF. Isto ocorre devido a uma maior homogeneidade estrutural desse conjunto de agregados húmicos, sendo então compatível a estimativa do valor de massa molar realizada, que para AF foi menor do que para AH.

Para Stevenson (1994, p.308) a espectroscopia de infravermelho tem considerável valor na pesquisa de substâncias húmicas pois fornece informação sobre a natureza, a reatividade e o arranjo estrutural de grupos funcionais contendo oxigênio, a ocorrência de carboidratos e proteínas e o grau de pureza da amostra quanto a contaminantes inorgânicos como metais, sais e argilas.

A espectroscopia de infravermelho é uma das técnicas mais utilizadas na análise e caracterização de substâncias húmicas. Isto deve-se, principalmente, a facilidade na preparação das amostras e na compreensão de seus resultados. Porém, para caracterização mais confiável e eficaz, esta técnica deve estar aliada a outras técnicas analíticas de caracterização, para obtenção de resultados confiáveis.

1.3.2 Espectroscopia Raman

Ao incidirmos luz em uma amostra, os fótons podem ser absorvidos ou dispersos. Grande parte desta dispersão tem a mesma frequência que a incidente (espalhamento Rayleigh ou espalhamento elástico), porém uma pequena porção emerge da amostra com outra frequência (espalhamento inelástico). Nesta parcela, a energia vibracional pode ser alterada, adicionando (Efeito anti-Stokes) ou subtraindo (Efeito Stokes) da energia da radiação incidente. A diferença entre as novas frequências e a frequência original, reflete características vibracionais e rotacionais da molécula irradiada (VOGUEL, 2013). O processo de espalhamento inelástico da radiação é conhecido como dispersão de Raman.

Em um espectro Raman, as linhas anti-Stokes são menos intensas que as linhas Stokes, por isto, somente as linhas Stokes são utilizadas (VOGUEL, 2013). Isto ocorre pois, segundo predições da teoria quântica, a dispersão Raman vibracional anti-Stokes não é possível quando a molécula está no nível vibracional mais baixo. Tendo em vista que, em temperatura ambiente, a maioria das moléculas encontra-se no estado vibracional mais baixo, logo a dispersão Stokes será mais provável e mais intensa do que a dispersão anti-Stokes (MARTIN-NETO et al., 2009).

Os espectros de Infravermelho e Raman, por fornecerem informações a respeito de níveis vibratórios, tendem a ser complementares devido a suas regras de seleção. Para que ocorra sinal na espectroscopia Raman, é essencial que a polarizabilidade da molécula mude durante a vibração. Para a absorção no infravermelho, o momento de dipolo deve variar (VOGUEL, 2013).

Na Tabela 1.2 estão apresentadas algumas frequências de grupos mais característicos nos espectros Raman de SH.

A utilização deste método para caracterização de SH possui limitações. O principal problema é a sobreposição do espectro de Raman pela fluorescência intensa emitida por essas substâncias. Segundo Messias (2004), para minimizar este problema, é utilizado a técnica de Espectroscopia de Raman associada a transformada de Fourier, e também fontes de excitação no infravermelho próximo, as quais possuem pequeno efeito de fluorescência e ressonância.

A utilização desta técnica é bastante útil para caracterizar estruturas, que assim como as SHs, possuem carbonos de diferentes disposições (cristalinos, nanocristalinos e amorfos). Estes materiais possuem uma banda centrada entre $1580 - 1600 \text{ cm}^{-1}$, denominada banda G, e no caso do material possuir desordem estrutural, é observada uma banda adicional, centrada em $\approx 1355 \text{ cm}^{-1}$, chamada de banda D (FERRARI e ROBERTSON, 2000).

A banda G (grafite) ocorre devido aos modos vibracionais presentes em todas as ligações C=C, ou seja, este modo é ativo em todos os sítios sp^2 , seja na forma de cadeias alifáticas ou na forma de anéis. Já a banda D (desordem), embora também esteja relacionada às ligações do tipo sp^2 , é referente ao modo vibracional do tipo respiração de anéis, sendo que esta banda é ativa somente na presença de desordem estrutural da molécula. (LOBO et al., 2008; SOARES, 2011).

Tabela 1.2- Atribuições frequentes no espectro Raman para substâncias húmicas. As siglas indicam ν estiramento, ν_s estiramento assimétrico, ν_a estiramento assimétrico e δ vibrações angulares.

Número de Onda (cm^{-1})	Atribuição
3240	$\nu(N-H)$ de aminas ligadas
2956	$\nu(C-H)$
2135	$\nu(C\equiv C)$ ou acumulado $\nu(C=C)$ ou um modo de vibração do $-NH_3^+$
1700 - 1650	$\nu(C=O)$
1618, 1590	$\nu_a(COO^-)$ e estiramento do anel de benzeno
~1580	Vibração de deformação no plano de anel aromático
	Vibração de deformação de fenóis altamente substituídos
1574, 1475, 498	Anéis benzênicos poliméricos
1540	Vibrações de estiramento de anéis aromáticos
1450	$\delta(C-H_2)$ alifático
1379	$\nu_s(COO^-)$
1315	$\nu_s(COO^-)$ e substituição de anel benzênico
1300 – 1000	Modos de alongamento das ligações de C-C, C-O ou C-N e /ou modos de balanço das ligações C-H e N-H da molécula
1211	$\nu(C-O)$ ésteres
1171	$\delta(C-H)$
1165	$\nu(C-C)$ álcool e ésteres alifáticos
1060	$\nu(C-C)$
700 – 400	Deformação no plano do grupo $-COO^-$ e movimento de torção de um $-NH_3^+$
365	Modo de deformação esquelética

Fonte: Adaptado de Alvarez-Puebla, Garrido e Aroca (2004).

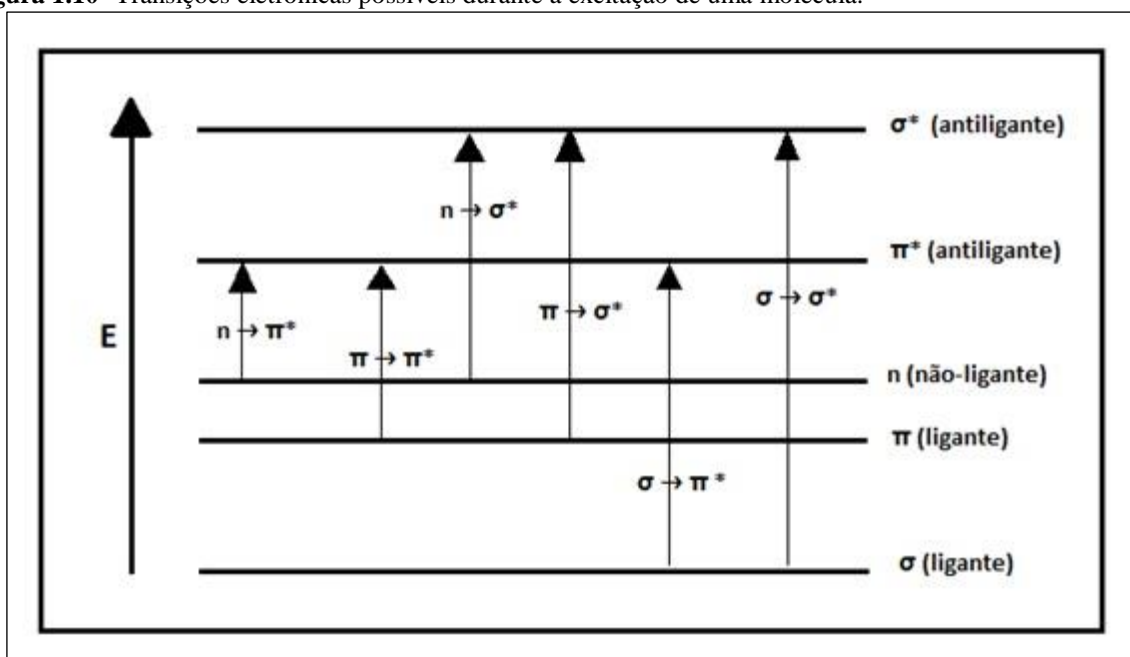
Em alguns estudo de AH, a espectroscopia Raman foi utilizada, por exemplo para obter informações estruturais de AH extraídos de diferentes solos, vermicompostos e turfas (YANG e WANG, 1997; FRANCIOSO, 2001; MESSIAS, 2004), para caracterização de AH extraídos em grande escala para a síntese de grafenol (DURAIA; HENDERSON e BEALL, 2015), para estudar a interação de AH extraídos de diferentes solos com herbicida (ROLDAN et al., 2011), para avaliar mudanças no espectro Raman de AH sob efeito de diferentes temperaturas (DURAIA e BEALL, 2016), para estudar alterações da estrutura de AHs expostos a diferentes pHs (CORRADO et al., 2008) enfim, esta técnica tem sido recentemente muito abordada em trabalhos de caracterização de SH.

1.3.3 Espectroscopia de absorção na região UV-visível (razão E_4/E_6)

A espectroscopia de absorção do ultravioleta (200 – 400 nm) e visível (400 – 800 nm) (UV-Visível) é um método de caracterização baseado na emissão de um feixe de luz, com energias que promovem excitação eletrônica das ligações químicas.

A energia da radiação eletromagnética, absorvida pela molécula, produz uma transferência dos elétrons ligantes (σ e π) e não ligantes (n) para orbitais mais energéticos em um estado excitado (σ^* e π^*), denominados antiligantes, conforme a Figura 1.10 (SILVERSTEIN, BASSLER e MORRIL, 1994).

Figura 1.10- Transições eletrônicas possíveis durante a excitação de uma molécula.



Fonte: Abreu et al. (p. 238, 2009).

Como a absorção de luz ocorre de maneira quantizada, então cada transição deveria formar uma linha bem definida no espectro, contudo, isto não ocorre. A explicação está no fato de que a energia total de uma molécula é a soma de suas energias eletrônica, vibracional e rotacional. Então, o diagrama energético de um sistema molecular será de bandas, pois cada nível eletrônico possui vários subníveis vibracionais e rotacionais, que formarão um conjunto de linhas discretas, as bandas de absorção (CANELLAS e RUMJANEK, 2005c).

As informações que podem ser obtidas com bandas de absorção são posição e intensidade. Segundo Silverstein, Bassler e Morril (1994), a posição da banda de absorção corresponde ao comprimento de onda da energia necessária para que ocorra a transição eletrônica. A intensidade de absorção, por sua vez, depende de dois fatores: (i) da probabilidade

da interação entre a energia radiante e o sistema eletrônico e, (ii) da diferença entre os estados fundamental e excitado.

É possível escrever a razão da intensidade de luz que incide na amostra (I_0) pela intensidade da radiação que emerge da amostra (I) como a Transmitância (T):

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (2)$$

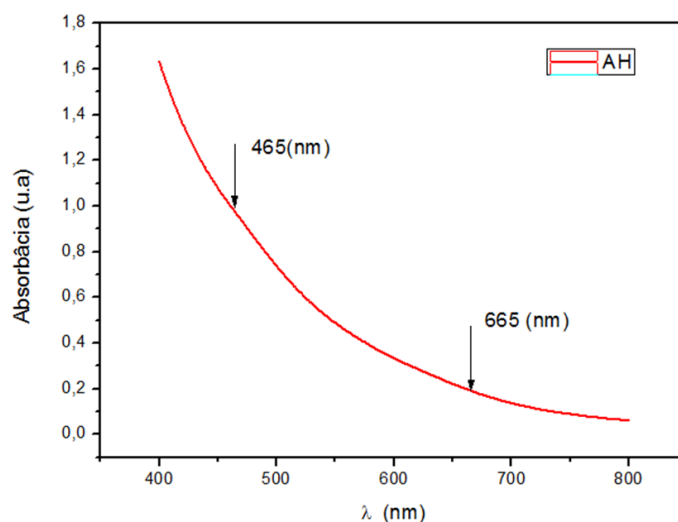
A medida que a luz atravessa a amostra, sua intensidade decai exponencialmente. Logo, a intensidade de absorção, pode ser expressa em termos da transmitância, da concentração e da espessura da amostra, por meio de uma lei bastante conhecida na espectroscopia, a “Lei de Lambert-Beer”:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon c l, \quad (3)$$

onde A é a absorbância da amostra, ϵ é a absorvidade molar, c é a concentração em mol.L^{-1} e l o caminho óptico em centímetros (SILVERSTEIN, BASSLER e MORRIL, 1994; SKOOG et al., 2014).

O espectro de absorção da substância húmica, mostrado na Figura 1.11, possuem sobreposições, sem a presença de nenhuma banda definida, apresentando um decréscimo gradual com o aumento do comprimento de onda. Isto ocorre devido a presença de uma grande variabilidade de grupos cromóforos existentes nas macromoléculas de substâncias húmicas. Estes grupos são a parte das moléculas orgânicas responsáveis pela produção de cor (ABREU et al., 2009).

Figura 1.11-Exemplo de espectro de absorção no UV-Visível do AH e identificação das regiões de absorbância 465nm e 665nm.



Fonte: A autora.

O acoplamento das estruturas moleculares pode deslocar a absorção para comprimentos de ondas maiores, este fenômeno é chamado em espectroscopia de deslocamento batocrômio (SILVERSTEIN, BASSLER e MORRIL, 1994). Para sistemas aromáticos, o comprimento de onda da absorção de UV-Visível aumenta gradualmente com a adição de anéis na estrutura molecular.

Fisicamente, é possível pensar na estrutura aromática como um poço de potencial infinito, de largura L , ao qual um elétron está submetido. A teoria de Schrödinger estabelece que as energias permitidas para esse sistema serão as mesmas para o poço quadrado infinito:

$$E_1 = n^2 \left(\frac{h^2}{8mL^2} \right), \quad (4)$$

em que n é o número quântico principal, h é a constante de Planck, m a massa do elétron e L é a largura da molécula. Ao absorver um fóton de energia ΔE , o elétron do sistema aromático, passa do orbital de energia E_0 para o de energia E . Como a energia do fóton é $E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$ então

$$\lambda = \left(\frac{8mc}{h(n^2 - n_0^2)} \right) \cdot L^2 \quad (5)$$

Logo, o comprimento de onda absorvido é proporcional ao tamanho da molécula (TIPLER e LLEWELLYN, 2014; LUZ, 2013).

Segundo Canellas e Rumjanek (2005c), quanto maior o grau de evolução da matéria orgânica humificada, maior será o número de unidades aromáticas presentes. Então, o principal parâmetro utilizado em espectroscopia de absorção no UV-Visível para o estudo da matéria orgânica é a razão entre a absorbância em 465 nm e 665 nm, chamada de razão E_4/E_6 . Segundo Stevenson (1994) esta razão decresce com o aumento da condensação dos anéis aromáticos, sendo utilizada como indicador do grau de humificação, podendo ter valores torno de 5, para ácidos húmicos.

Assim, quanto menor o valor da razão E_4/E_6 , maior é o grau de condensação dos constituintes aromáticos em substâncias húmicas. Do contrário, quanto maior esta razão menor será o grau de humificação, consequência de uma presença maior de substâncias alifáticas (FIALHO, 2007; OUTMANE et al., 2002).

Segundo Chen et al. (1977), a razão E_4/E_6 é dependente do tamanho da partícula, da concentração iônica do meio, afetada pelo pH (recomendado que as soluções estejam entre pH 7 e 8) e aparentemente não estão diretamente relacionadas à concentração de anéis aromáticos condensados.

Entretanto, Saab e Matim-Neto (2007), em estudo de AHs extraídos de gleissolos, utilizando RMN de ^{13}C com desacoplamento defasado, observaram que a razão E_4/E_6 correlaciona ao grau de condensação dos anéis aromáticos e não à aromaticidade total das amostras.

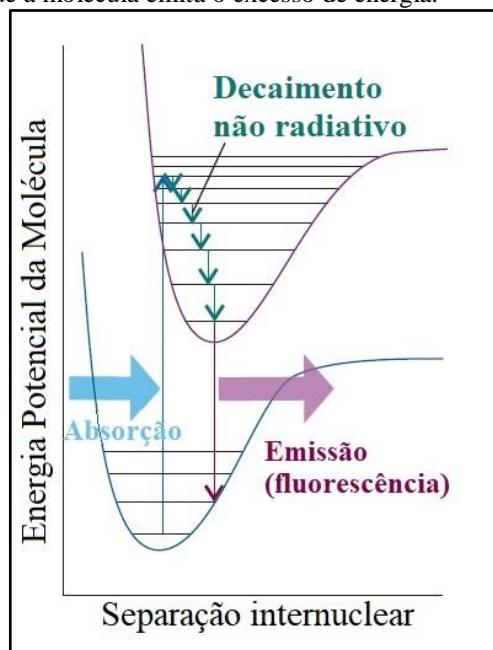
Devido a controvérsias na literatura, os valores da razão E_4/E_6 não devem ser parâmetros conclusivos quanto ao cálculo da aromaticidade ou grau de humificação das substâncias húmicas. É aconselhável que estes valores sejam correlacionados a outros parâmetros espectroscópicos mais precisos.

1.3.4 Espectroscopia de fluorescência na região do visível

A fluorescência é um fenômeno de fotoluminescência no qual os átomos e moléculas são excitados pela absorção de radiação eletromagnética e, em seguida, voltam aos seus estados fundamentais, liberando o excesso de energia na forma de fótons. Este processo ocorre em um tempo curto, que deve variar de 10^{-12} a 10^{-9} segundos. Caso a liberação de energia demore a acontecer ($>10^{-8}$ segundos), o fenômeno será o de fosforescência (SKOOG et al., 2014).

Para que ocorra o fenômeno de fluorescência o comprimento de onda de excitação (λ_{ex}) deve ser proporcional as transições eletrônicas da estrutura molecular. Os elétrons que forem excitados a um estado superior de energia, permanecem neste estado por um determinado tempo, chamado de tempo de vida do estado excitado. Para retornarem ao estado fundamental, os elétrons devem dissipar o excesso de energia. Isto normalmente ocorre por decaimentos não radioativos, como mostrado na Figura 1.12, em que o excesso de energia é emitindo em forma de calor. Porém, isto também pode acontecer por emissão de fótons com um comprimento de onda específico, chamado de comprimento de onda de emissão (λ_{emi}). Sendo assim, a energia emitida é menor do que a absorvida, devido as perdas na forma de calor ou vibrações moleculares. Ou ainda, a luz emitida tem comprimentos de ondas maiores do que a luz absorvida, chamado de deslocamento de Stokes (SKOOG et al., 2014; ATKINS e PAULA, 2012).

Figura 1.12- Diagrama de energia para o fenômeno de fluorescência. Após a absorção, os estados vibracionais mais altos cedem energia para a vizinhança, processo de decaimento não radiativo. Após, ocorre uma transição radiativa (fluorescência), para que a molécula emita o excesso de energia.



Fonte: Adaptado de Atkins e Paula (p. 79, 2012).

Mediante ao exposto, para que este fenômeno aconteça, é preciso que elétrons não ligantes (n) ou ligantes (π) sejam promovidos à orbitais antiligantes (π^*). A probabilidade de isto ocorrer é maior em sistemas moleculares que contenham átomos com pares de elétrons livres, tais como Oxigênio (O) e Nitrogênio (N) ou até mesmo, sistemas conjugados com alto grau de ressonância, por exemplo, estruturas aromáticas e sistemas alifáticos que contenham deslocalização eletrônica, como no caso das SH (CANELLAS e RUMJANEK, 2005c).

Basicamente, os espectros de fluorescência podem ser medidos de três formas: (1) *espectro de emissão*, são produzidos com λ_{ex} fixo, obtendo o espectro com a intensidade da emissão em função do λ_{emi} ; (2) *espectro de excitação*, são obtidos com variação do λ_{ex} e a medida da intensidade de fluorescência em um comprimento de onda fixo; e, (3) *espectro de varredura sincronizada*, são obtidos pela varredura simultânea de uma faixa espectral de λ_{ex} e de λ_{emi} , apresentando um intervalo ($\Delta\lambda$) constante entre eles (VOGUEL, 2013; ABREU et al., 2009).

Dentre os fatores que podem influenciar o fenômeno de fluorescência, destacam-se o pH da solução (para SH o pH deve estar em torno de 8), a natureza do solvente, a concentração dos reagentes adicionados (para fluorescência das SH em solução, a concentração deve ser igual ou abaixo de 20 mgL^{-1}), a temperatura (o aumento desta acarreta diretamente a um aumento da probabilidade de colisões no estado excitado, aumentando as conversões internas e, conseqüentemente pode haver uma diminuição na intensidade da fluorescência) e os efeitos

dos substituintes, (grupos doadores de elétrons aumentam a eficiência de emissão de fluorescência, enquanto que os retiradores de elétron reduzem a intensidade da mesma) (MILORI et al., 2002; VOGUEL, 2013; CANELLAS e RUMJANEK, 2005c).

Em moléculas complexas, que possuem muitos fluoróforos, a fluorescência total apresenta um efeito acumulativo dependente de vários componentes estruturais da molécula. Em consequência disso, o espectro observado em qualquer um dos três modos irá representar a soma de todos os espectros individuais dos constituintes da molécula (ABREU et al., 2009). Deste modo, devido à grande complexidade das SH, o espectro de fluorescência destes materiais é constituído por bandas largas que vão desde o visível até o ultravioleta.

Segundo Sierra et al. (1996), a técnica de fluorescência foi utilizada pela primeira vez no estudo da matéria orgânica de forma quantitativa, para avaliação do comportamento e do destino da fração fluorescente do carbono orgânico dissolvidos em água. Atualmente, na comunidade de pesquisadores de SHs, a técnica é utilizada para avaliar o grau de humificação por meio de alguns métodos que levam em consideração a área abaixo curva de algumas regiões do espectro (ZSOLNAY et al., 1999) ou do espectro inteiro (MILORI et al., 2002) e também a intensidade de alguns picos proeminentes (KALBITZ et al., 1999).

Para este estudo, foram utilizados os métodos que se baseiam no cálculo do índice de humificação utilizando as áreas abaixo a curva do espectro.

De acordo com o método de Zsolnay et al. (1999), a medida que a estrutura se torna mais condensada, o espectro de emissão deslocam-se para regiões com maior comprimento de onda. Desta maneira, Zsolnay et al. (1999), por meio do espectro de emissão na faixa de 350 a 650 nm, com excitação fixa em 240 nm, calcularam o grau de humificação dos AHs dividindo o espectro de emissão em quatro regiões. A razão entre a área da região de maior comprimento de onda (570-641 nm) do espectro e a área de menor comprimento de onda (356- 432 nm) fornece uma relação denominada A_4/A_1 que determina o grau de humificação.

Romero et al. (2017) utilizaram o método de Zsolnay para estudar a matéria orgânica dissolvida (MOD)¹, extraída em água, de um sistema semi-árido de cultivo à base de trigo. Os cálculos do índice de humificação, através deste método, indicaram uma diminuição na humificação com o aumento da profundidade, que segundo os autores pode ser atribuído a interações adsorptivas de porções aromáticas com superfícies minerais reativas que impediriam a policondensação das estruturas aromáticas.

¹ A MOD é uma mistura heterogênea de constituintes derivados da planta e microbiota com diferentes graus de reatividade (Bolan et al., 2011). Operacionalmente, podemos definir como a fração que passa através de um filtro com porosidade de 0,45 µm.

Para Milori et al. (2002), a utilização do λ_{ex} igual a 240 nm pode excitar várias estruturas fluorescentes, tornando assim esta técnica pouco seletiva. Diante disto, uma nova metodologia foi proposta para o cálculo do índice de humificação, correspondente a área total (A_{465}) do espectro de emissão, com o λ_{ex} igual a 465 nm e varredura entre 485 e 650 nm. A validação deste método foi baseada no estudo de dezoito AH extraídos de quatro solos brasileiros sob diferentes cultivos. Utilizando o λ_{ex} na cor azul (465 nm) como fonte de excitação de fluorescência do AH, constataram que havia uma alta correlação entre a emissão de fluorescência e o conteúdo de radicais livres do tipo semiquinona obtidos por ressonância paramagnética de elétrons. A sensibilidade associada a facilidade desta metodologia são indicativos favoráveis para avaliar o grau de humificação dos AHs.

Signor et al. (2016), utilizaram estes dois métodos para avaliar a humificação de AH e AF, em solos com sistemas de colheita de cana-de-açúcar com ou sem queima da palhada. Constataram que: (1) o menor grau de humificação dos AH foi observado para a amostra da área de vegetação nativa, provavelmente pela maior deposição de resíduos vegetais, de forma contínua em superfície; (2) os maiores graus de humificação, tanto para o AH quanto para o AF, ocorreram na área sem queima por 19 anos, o que pode estar relacionado à deposição constante de palha sobre a superfície por um longo período de tempo; e, por fim, (3) o grau de humificação dos AH extraídos das áreas cultivadas com cana-de-açúcar, foi semelhante nas camadas 0, 0–0,1 e 0,1–0,2 m, independentemente do sistema de colheita, o que indica que as práticas de manejo do solo, tornam a MOS homogênea até 20 cm de profundidade.

1.3.5 Espectroscopia de fluorescência de raios X

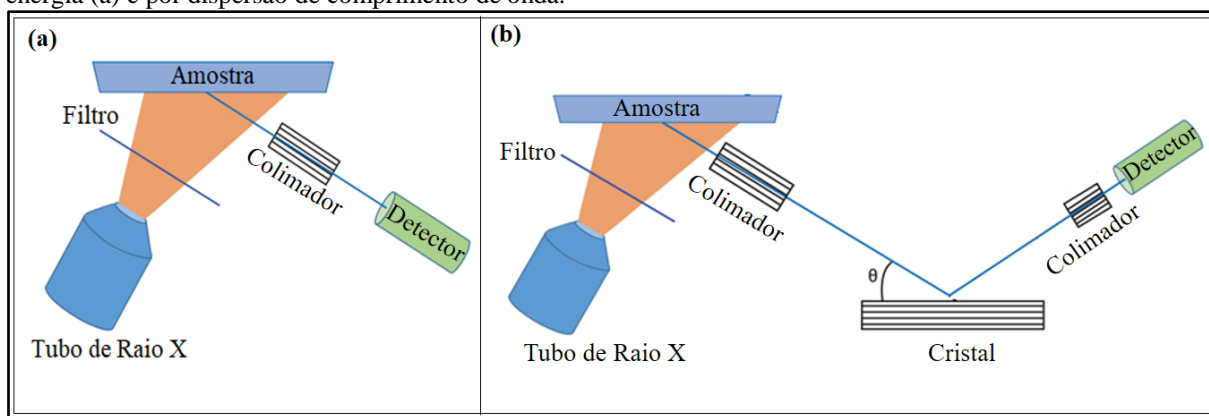
A espectroscopia de fluorescência de raios X (XRF) é uma técnica de caracterização elementar, baseada na medida das intensidades dos raios X característicos emitidos pelos elementos químicos contidos na amostra, quando esta for devidamente excitada.

Ao incidir fótons de raios X de alta energia em átomos de uma amostra, ocorrerá transições eletrônicas para camadas de maior energia ou remoção de elétrons das camadas mais internas, fazendo com que o átomo se torne um íon instável. A instabilidade é rapidamente interrompida pelas transições de elétrons de camadas mais energéticas para preencher o espaço vago. Esta transição só é possível se a diferença de energia for liberada em forma de um fóton de raio x, que terá comprimento de onda característico do elemento. Como o comprimento de onda é inversamente proporcional à energia, o elemento será identificado e quantificado através da medida da intensidade da energia do fóton emitido (VINADÉ e VINADÉ, 2005; ABREU, 2009; SCHRAMM, 2017).

O raios X característico pode ser detectado via dispersão de energia ou comprimento de onda. A fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (do inglês, Wavelength Dispersive x-Ray Fluorescence- WDXRF) utiliza conceitos baseados na lei de Bragg para separar adequadamente cada comprimento de onda. A medida que se faz necessário a leitura de diferentes analitos, é realizada a rotação do cristal provocando uma mudança do ângulo de incidência dos raios X característico emitidos pelos elementos da amostra, com isto, ocorre a seleção do comprimento de onda ao qual se deseja analisar (ABREU, 2009). A espectrofotometria WDXRF é um método não destrutivo que pode ser aplicado a amostras em diferentes estados físicos (VINADÉ e VINADÉ, 2005).

Com avanços no desenvolvimento de semicondutores, capazes de detectarem raios x de energias próximas foi possível o surgimento de outra forma de detecção por meio de fluorescência de raios X, a técnica por dispersão de energia (do inglês Energy Dispersive X-Ray Fluorescence-EDXRF) (ABREU, 2009). Na espectrofotometria EDXRF, a amostra é excitada por um tubo de raios X (Figura 1.13 (a)) e um detector semicondutor (normalmente de Si ou Si(Li)) analisa a radiação de fluorescência de raios x emitida pela amostra (SCHRAMM, 2017).

Figura 1.13- Configuração esquemática dos espectrofotômetros de fluorescência de raios X por dispersão de energia (a) e por dispersão de comprimento de onda.



Fonte: Adaptado de Schramm (2017, p. 234).

Segundo Vinadé e Vinadé (2005) cada um dos dois métodos possui suas vantagens e desvantagens. O sistema EDXRF é capaz de detectar uma ampla escala de elementos de uma amostra simultaneamente de maneira rápida. Entretanto, possui uma menor sensibilidade e maior interferência espectral, podendo apresentar algumas sobreposições (por exemplo de Mn, Cr e Fe). Enquanto que o sistema WDXRF que apresenta melhor resolução em seus espectros, necessita de mais tempo para obtenção dos mesmos.

A XRF tem sido amplamente empregada para avaliação qualitativa e quantitativa da composição elementar em diversas áreas (SANTOS et al. 2013). Ferreira et al. (2017) em um estudo sobre os efeitos da calagem superficial nas propriedades de atenuação da radiação do solo, utilizou a técnica de EDXRF para avaliar a composição de óxidos do solo.

1.3.6 Análises Térmicas

A análise térmica de um material consiste no emprego de métodos térmicos, com os quais as propriedades químicas e físicas das substâncias são alteradas com a variação da temperatura e/ou tempo. As técnicas variam de acordo com as propriedades físicas que se deseja avaliar na amostra, podendo envolver variação da massa (Termogravimetria- TG) e, ou, energia da amostra (Análise Térmica Diferencial- DTA e Calorimetria Exploratória Diferencial -DSC).

A análise de Termogravimetria (TG) consiste na avaliação da massa de uma substância em função da variação da temperatura ou do tempo. Sua curva representa a percentagem de massa da amostra no eixo da ordenada acompanhada da temperatura (ou tempo) na abscissa (BROWN, 1998; VOGUEL, 2013). Desta técnica é possível submeter a curva de TG a primeira derivada, originando a Análise Termogravimétrica Diferencial (DTG), a qual evidencia com mais facilidade os eventos térmicos, por meio dos máximos e mínimos da curva (FABRIS et al., 2013).

A TG tem sido frequentemente utilizada em estudos com AHs para avaliar a estabilidade térmica dessas substâncias (SHURYGINA et al., 1971; BENITES et al., 2005; CUNHA et al. 2007; GIOVANELA, 2010; PURMALIS, PORSNOVS e KLAVINS, 2011; SANTOS et al., 2018). A maioria das Curvas de TG de AH apresentam duas fases de termodegradação, sendo a primeira localizada entre 105 a 350 °C e a segunda entre 350 e 650 °C (BENITES et al., 2005). Shurygina et al. (1971), com auxílio de IV, atribuíram o primeiro evento à termodegradação das cadeias laterais alifáticas e o segundo a termodegradação dos núcleos aromáticos. A partir destes dois eventos térmicos, o índice termogravimétrico (ITG) é calculado, por meio do quociente entre as duas perdas de massa observadas na curva de TG. Este índice indica a resistência a termodegradação e estabilidade ou resistência à decomposição química, estando a maior resistência relacionada aos maiores valores do ITG (BENITES et al., 2005).

Na Análise Térmica Diferencial (DTA) a diferença de temperatura da amostra e de um material de referência é determinada, à medida em que ambos os materiais são submetidos ao processo de aquecimento. Já a técnica de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) avalia as variações da quantidade de energia cedida a amostra e a um material de referência, em função

da temperatura, quando ambas são submetidas a um processo térmico controlado (VOGUEL, 2013).

Quando a amostra sofre um evento endotérmico, ocorrerá uma diferença de temperatura entre a amostra e a referência, sendo esta diferença interpretada pelo equipamento e convertida nas unidades desejadas. A diferença entre DTA e DSC está na obtenção dos dados. Para DTA (análise qualitativa) a informação fornecida no gráfico será se o evento é endotérmico ou exotérmico, tendo em sua ordenada informações a respeito da diferença de temperatura entre a amostra e a referência. Já para a técnica de DSC (análise quantitativa), a variação da massa da amostra é utilizada para obter valores de entalpia, ou seja, a energia consumida ou liberada no processo, obtendo curvas constituídas de registros da temperatura do forno no eixo da abscissa e na ordenada a derivada da quantidade de calor (Q) pela temperatura (dQ/dT) ou em função do tempo (dQ/dt) (FABRIS et al., 2013).

Por apresentar uma abordagem rápida, precisa e sem interferência, Giovanela et al. (2010), utilizou TG e DTG para quantificar os teores de humidade e cinzas, bem como observar e caracterizar as mudanças estruturais nas amostras de AHs isolados a partir de quatro amostras de sedimentos inferiores coletadas de uma microbacia subtropical brasileira quando expostos a aquecimento. Concluindo, por meio das etapas de decomposição térmicas, que os AHs podem ter poucas estruturas aromáticas em nível de estar abaixo do limite de detecção desta técnica.

Purmalis, Porsnovs e Klavins (2011) analisaram o caráter de decomposição térmica, com as técnicas de TG, DTG e DTA, dos ácidos húmicos extraídos de diferentes turfas com objetivo de correlacionar com sua origem. Com a DTA foi possível observar efeitos endotérmicos e exotérmicos nas amostras avaliadas e com isso qualificar quais tipos de estruturas químicas estavam sendo decompostas em determinada temperatura. Ao fim das análises, foi possível concluir que apesar da similaridade relativa do padrão genético da origem das turfeiras, os AHs extraídos de cada turfa diferem muito em composição.

1.3.7 Microscopia eletrônica de Varredura (Mev-Feg)

O grande avanço na observação e análise de microestrutura de materiais ocorreu em consequência do desenvolvimento de Microscópios Eletrônicos de Varredura (MEV). Enquanto que microscópios ópticos convencionais ficam limitados a um aumento máximo de 2000 vezes, MEV permite aumentos de 300000 vezes ou mais, fornecendo informações sobre a morfologia e identificação de elementos químicos contidos na amostra.

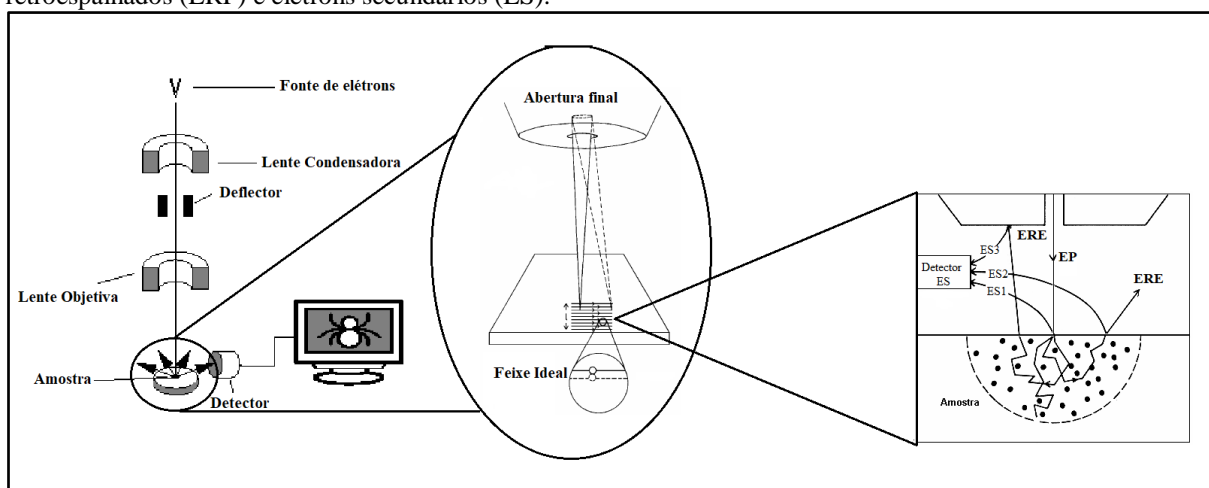
Como já confirmado por De Bloglie, por meio da teoria do dualismo onda partícula, o comprimento de onda associado ao elétron é função de sua energia. Como consequência disso,

elétrons que são acelerados a voltagens suficientemente grandes, como é o caso do MEV, possuem comprimento de onda extremamente curto, fazendo com que o efeito de difração gerado pela sua interação com a amostra seja muito maior do que a interação da luz visível ou luz ultravioleta usada em microscópicos ópticos.

As principais características que ressaltam a importância da utilização desta técnica são: a sua alta resolução, instrumentos de pesquisas podem alcançar resoluções da ordem de 1 nm (NAGATANI et al., 1987); a aparência tridimensional da imagem da amostra, resultado direto da grande profundidade de campo (DEDAVID, GOMES e MACHADO, 2007); e, a possibilidade de combinar a análise microestrutural com a microanálise química (MALISKA, 2005).

O princípio do funcionamento de um MEV, expresso na Figura 1.14, consiste em incidir um feixe de elétrons na superfície de uma amostra e detectar o sinal emitido desta interação. A maioria dos equipamentos utiliza como fonte de elétrons um filamento de tungstênio aquecido, podendo chegar a tensões de aceleração de 1 a 50 kV. Lentes eletromagnéticas são utilizadas no equipamento com a finalidade de focalizar o feixe de elétrons para incidir de maneira exploratória ponto a ponto sobre a amostra (DEDAVID, GOMES e MACHADO, 2007).

Figura 1.14-Esquema de formação da imagem em microscopia eletrônica de varredura evidenciando vários aspectos. Após a interação do feixe de elétrons primários (EP) com a amostra, ocorre a emissão de elétrons retroespalhados (ERP) e elétrons secundários (ES).



Fonte: Adaptado de Maliska (2005) e Dedavid; Gomes e Machado (2007).

O feixe de elétrons ao incidir no material, sob condições de vácuo, promove a emissão de elétrons secundários, retroespalhados, Auger, absorvidos e raios x característicos. A formação da imagem, em tons de cinza, é o mapeamento e a contagem de elétrons secundários e retroespalhados emitidos pelo material analisado (DUARTE et al., 2003).

A análise quantitativa elementar é realizada, juntamente ao MEV, com base na emissão de raios X característico que também ocorre na amostra, conceito este já abordado no tópico 1.3.6 de fluorescência de raios X.

Diferentemente dos MEV, os microscópicos que utilizam de canhão de elétrons por efeito de campo (FEG), emitem elétrons por tunelamento, em uma ponteira de tungstênio, com tamanho inferior a 5 nm, devido a aplicação de um campo elétrico na ordem de 10^9 V/m. As principais diferenças entre esses dois sistemas concentram-se na vida útil do equipamento e na qualidade da imagem. Como o MEV-FEG trabalha com baixas temperaturas, possui vida útil superior a 10000 horas, enquanto MEV's que trabalham com filamentos de tungstênio ou lantânio possuem vida útil de 40 a 100 horas e 200 a 1000 horas, respectivamente. Para os equipamentos MEV-FEG, a qualidade da imagem é superior em resolução e brilho, fornecendo imagens com contornos mais detalhados e aumentos superiores às demais fontes (SEM, 2011; PRANDEL, 2015).

A microscopia eletrônica de varredura, é bastante aplicada em estudos do solo, com objetivo de analisar partículas sólidas mais elementares. Existem muitos estudos que utilizam o MEV para avaliar a morfologia das frações do solo, argila, silte e areia (DUARTE et al., 2003; PAIVA; MORALES e DIAZ, 2008; PRANDEL, 2015; PONTONI, 2016; GONÇALVES et al., 2017), por se tratar principalmente de uma técnica que está associada a equipamentos de EDXRF, e por isto, obter resultado morfológicos e quantitativos elementares de forma ágil.

Para substâncias húmicas, a técnica de MEV-FEG é utilizada principalmente no estudo da morfologia de AH para compreensão de reações físico-químicas que ocorrem entre esse composto e demais materiais. Prado, Pertusatti e Nunes (2011), estudaram o efeito da variação de pH em AH, constatando que em meio ácido ocorre a agregação de pequenas partículas em partículas amorfas e estendidas, sugerindo assim que existe uma interação supramolecular através de interações fracas não específicas (London e Van der Walls), bem como interações do tipo ligação de hidrogênio, que dão suporte a esta estrutura mais rígida e enovelada.

Referências

ABREU, C. H. J. et al. Métodos Analíticos Utilizados em Química do solo. In: MELO, V.F.; ALLEONI, F.R.L. **Química e Mineralogia do Solo**. Parte II- Aplicações. 1ed. Viçosa, MG: SBCS, 2009. cap. 11. p. 529-685.

ALVAREZ-PUEBLA, R. A.; GARRIDO, J. J.; AROCA, R. F. Surface-enhanced vibrational microspectroscopy of fulvic acid micelles. **Analytical chemistry**, v. 76, n. 23, p. 7118-7125, 2004.

ATKINS, P. W.; PAULA, J. **Físico-Química**: volume 2. 9 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012. 574 p.

AULER, A. C. **Atributos físico-hídricos de um cambissolo háplico alumínico em função de aplicação de calcário**. 2014, 63 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Área de Concentração: Agricultura-Linha de Pesquisa Uso e Manejo do Solo), Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa-PR, 2014.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G. A. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais & subtropicais**. 2 ed. Porto Alegre-RG: Metropole, 2008. cap. 2. p. 7-18.

BENITES, V. M. et al. Properties of black soil humic acids from high altitude rocky complexes in Brazil. **Geoderma**, v. 127, n. 1, p. 104-113, 2005.

BOLAN, N. S. et al. Dissolved organic matter: biogeochemistry, dynamics, and environmental significance in soils. In: SPARKS, D. L. **Advances in agronomy**. Academic Press, cap. 1, p.1-76, 2004.

BRADY C. N.; WEIL R. R. **Elementos da Natureza e Propriedades dos Solos**. 3 ed. Porto Alegre-RG: Bookman, 2013. 686 p.

BROWN, M. E. **Handbook of thermal analysis and calorimetry. Principles and Practice**. Vol.1 Elsevier, 1998.

CANELLAS, L. P. et al. Isolamento, purificação e métodos químicos de análise de substâncias húmicas. In: CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. A. **Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas**. 1 ed. Campos dos Goytacazes: CCTA/UENF, 2005a. cap. 1, p. 13-33.

CANELLAS, L. P.; VELLOSO A. C.; SANTOS, G. A. Modelos Estruturais de substâncias húmicas. In: CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. A. **Humosfera: tratado preliminar sobre a**

química das substâncias húmicas. 1 ed. Campos dos Goytacazes: CCTA/UENF, 2005b. cap. 2, p. 34-53.

CANELLAS, L. P.; RUMJANEK, V. M. Espectroscopia na região do ultravioleta-visível. In: CANELLAS, L. P.; VELLOSO, A. C. X.; SANTOS, G. D. A. **Humosfera, tratado preliminar sobre a química das Substâncias húmicas.** Ed. Campos dos Goytacazes: Soropédica, 2005c. cap. 5, p. 126-142, 309 p.

CANELLAS, L. P.; RUMJANEK, V. M. Espectroscopia na região do infravermelho. In: CANELLAS, L. P.; VELLOSO, A. C. X.; SANTOS, G. D. A. **Humosfera, tratado preliminar sobre a química das Substâncias húmicas.** Ed. Campos dos Goytacazes: Soropédica, 2005d. cap. 6, p. 143-159, 309 p.

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do Solo.** 2 ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. p. 221.

CHEN, Y.; SENESI, N.; SCHNITZER, M. Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. **Soil Science Society of America**, v. 41, p. 352-358, 1977.

CHRISTENSEN, B. T. Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density separates. In: **Advances in soil science.** Springer-Verlag: New York, 1992, cap. 1, p. 1-76.

CORRADO, G. et al. Surface-enhanced Raman and fluorescence joint analysis of soil humic acids. **Analytica chimica acta**, v. 616, n. 1, p. 69-77, 2008.

CUNHA, T. J. F. et al. Fracionamento químico da matéria orgânica e características de ácidos húmicos de solos com horizonte a antrópico da Amazônia (Terra Preta). **Acta Amazônia**, v. 37, n. 1, 2007, p. 91-98.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores.** Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007, 60 p.

DICK, D. P. et al. Química da matéria orgânica do solo. In: MELO, F. V.; ALLEONI, F. R. L. **Química e mineralogia do solo: Parte II- Aplicações.** 1ed. Viçosa-MG: SBCS, 2009. Cap. XI, p. 1 – 67.

DOBBSS, L. B. et al. Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e fúlvicos isolados da camada superficial de latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n 1, p. 51-63, 2009.

DUARTE, L. C. et al. Aplicações de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Sistema de Energia Dispersiva (EDS) no estudo de gemas: exemplos brasileiros. **Pesquisas em Geociências**. Porto Alegre- RS, v. 30, n. 2, p. 3-15, 2003.

DUCHAUFOR, P. **Pédologie I. Pédogénese et classification**. 1 ed. Paris: Masson, 1977. p. 477.

DURAIA, E. M.; HENDERSON, B.; BEALL, G. W. Reduced humic acid nanosheets and its uses as nanofiller. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 85, p. 86-90, 2015.

DURAIA, E. M.; BEALL, G. W. Large temperature-induced red shift of G-band of functionalized graphene nanosheets synthesized from humic acid. **Superlattices and Microstructures**, v. 98, p. 379-384, 2016.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro). Manual de Padronização de Métodos para Análise Granulométrica no Brasil. Centro Nacional de Pesquisa de Solos, Rio de Janeiro, Comunicado 66, p. 1 -11, Dezembro 2012.

FABRIS, J. D. Métodos físicos de análise em mineralogia do solo. In: MELO, F. V.; ALLEONI, F. R. L. **Química e mineralogia do solo: Parte I-Conceitos Básicos**. 1ed. Viçosa-MG: SBCS, 2009. Cap. X, p. 611-695.

FERRARI, A. C.; ROBERTSON, J. Interpretation of Raman spectra of disordered and amorphous carbon. **Physical review B**, v. 61, n. 20, p. 14095-14107, 2000.

FERREIRA, T. R. et al. Surface liming effects on soil radiation attenuation properties. **Journal of Soils and Sediments**, v.5, p. 1-13, 2017. No prelo.

FERNANDES FILHO, E. I.; FRANCELINO, M. R. **Solo como Sistema Trifásico**. 2001, 41 p. (Apostila)- Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Solos, Viçosa- MG, 2001.

FIALHO, L. L. **Caracterização da matéria orgânica em processo de decomposição por métodos convencionais e espectroscópicos**. Tese (Doutorado em Ciências-Química) Instituto de Química São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

FRANCIOSO, O. et al. Spectroscopic study (DRIFT, SERS and ^1H NMR) of peat, leonardite and lignite humic substances. **Journal of molecular structure**, v. 565, p. 481-485, 2001.

GIOVANELA, M. et al. Chemical and spectroscopic characterization of humic acids extracted from the bottom sediments of a Brazilian subtropical microbasin. **Journal of molecular structure**, v. 981, n. 1, p. 111-119, 2010.

GONÇALVES, W. P. et al. Microstructural, physical and mechanical behavior of pastes containing clays and alumina waste. **Applied Clay Science**, v. 137, p. 259-265, 2017.

GUERRA, J. G. M. et al. Macromoléculas e Substâncias Húmicas. In: SANTOS, G. A. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais & subtropicais**. 2 ed. Porto Alegre-RG: Metropole, 2008. Cap. 3. p. 19-26.

GUERRA, J. G. M.; SANTOS, G. A. Métodos químicos e físicos. In: SANTOS, G. A. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais & subtropicais**. 2 ed. Porto Alegre-RG: Metropole, 2008. Cap. 13. p. 185-199.

KALBITZ, K.; GEYER, W.; GEYER, S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances - a reflection of land use history in a fen area. **Biogeochemistry**, v. 47, n. 2, p. 219-238, 1999.

LIMA, M. R. **Formação e caracterização dos solos**. 2017, 61 f. (Guia Didático)- Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Departamento de solos e Engenharia Agrícola. Curitiba, 2017.

LOBO, A. O. et al. Caracterização de materiais carbonosos por espectroscopia Raman. **Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo**, v. 24, n. 2, p. 98-103, 2008.

LUCHESI, B. E.; FAVERO, B. O.L.; LENZI, E. **Fundamentos da química do solo: Teoria e prática**. 2.ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 2002. 182 p.

LUZ, F. M. M. **Técnicas Espectroscópicas na análise da humificação da matéria orgânica de solo de várzea**. Dissertação (Mestrado em Ciências-Física)- Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2013.

MACCARTHY, P. The principles of humic substances. **Soil Science**. v. 166, n. 11, p. 738-751, novembro, 2001.

MALISKA, A. M. **Microscopia eletrônica de varredura**. 2005, 60p. (Apostila)- Laboratório de Caracterização Microestrutural e Análise de Imagens. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis- SC, 2005.

MARTIN-NETO, L. et al. Ressonância magnética nuclear e eletrônica aplicadas a estudos da matéria orgânica em amostras de solos intactas e fracionadas fisicamente. **Embrapa Instrumentação Agropecuária-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 1998.

MARTIN-NETO, L. EPR, FTIR, Raman, UV-Visible absorption, and fluorescence spectroscopies in studies of NOM. In: SENESI, N.; XING, B.; HUANG, P. **Biophysico-chemical processes involving natural nonliving organic matter in environmental systems**. New Jersey -EUA: John Wiley & Sons, 2009, cap. 16, p. 651-728.

MARSCHNER, B.; WILCZYNSKI, A. W.. The effect of liming on quantity and chemical composition of soil organic matter in a pine forest in Berlin, Germany. **Plant and Soil**, v. 137, n. 2, p. 229-236, 1991.

MELO, J. W. V.; PEREZ, D. V.. Equilíbrio das Reações do Solo. In: MELO, F. V.; ALLEONI, F. R. L. **Química e mineralogia do solo: Parte I-Conceitos Básicos**. 1ed. Viçosa-MG: SBCS, 2009. Cap. 3, p. 151- 249.

MESSIAS, R. A. **Avaliação estrutural de ácidos húmicos de vermicompostos e tufas por diferentes técnicas de caracterização**. 2004, 134 f. Tese (Doutorado em Ciências -Química Analítica), Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos – SP, 2004.

MEURER, J. E. (Editor). **Fundamentos de química do solo**. 2 ed. Porto Alegre-RG: Genesis, 2004. 290 p.

MILORI, D. M. B. P. et al. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**. v. 167, n. 11, p. 139-149, 2002.

MITTON, R. V. et al. Fracionamento físico da matéria orgânica de um latossolo vermelho distrófico típico pelo método de sonicação. **Scientia Agraria**, v. 18, n. 2, 2017.

MOURA, J. A. **Dinâmica da matéria orgânica em solo tratado com resíduo orgânico nos Tabuleiros Costeiros do Estado de Sergipe**. 2013, 104 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas), Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão-SE, 2013.

NAGATANI, T.; SAITO S.; SATO, M.; YAMADA, M. Development of an ultra high resolution scanning electron microscope by means of a field emission source and in-lens system. **Scanning Microscopy**. v.11, 901-909, 1987.

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; ERTANI, A. Hormone-like activity of the soil organic matter. **Soil Ecology**, 2017. Em prelo.

NOVOTNY, E. H.; MARTIN-NETO, L. Propriedades Coloidais da Matéria Orgânica. In: SANTOS, G. A. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais & subtropicais**. 2 ed. Porto Alegre-RG: Metropole, 2008. cap. 4. p. 27-43.

NUNES, R. R.; REZENDE, M. O. O. **Recurso solo: propriedades e usos**. 1 ed. São Carlos-SO: Editora Cubo, 2015. 808 p.

OUTMANE, A. et al. Chemical and physicochemical characterization of humic acid-like materials from composts. **Compost Science Land Utilization**, v. 10, p. 39-46, 2002.

PAIVA, L. B.; MORALES, A. R.; DIAZ, F. R. Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização. **Cerâmica**, v. 54, n. 330, p. 213-226, 2008.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à Espectroscopia**. 4ed. São Paulo, SP: Cengage Learning, 2010. 700p.

PICCOLO, A.; CONTE, P. Molecular size of humic substances. Supramolecular associations versus macromolecular polymers. **Advances in Environmental Research**, v. 3, n. 4, p. 508-521, 2000.

PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances: a novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. **Advances in agronomy**, v. 75, p. 57-134, 2002.

PIGATIN, L. B. F.; NUNES, R. R.; REZENDE, M. O. O. Substâncias Húmicas. In: NUNES, R. R.; REZENDE, M. O. O. **Recurso solo: propriedades e usos**. 1 ed. São Carlos-SO: Editora Cubo, 2015. Cap. 10, p. 294-309, 808 p.

PONTONI, D. R. **Estabilização de Pb via aplicação de P em solos com texturas contrastantes**. 2016, 113 f. Tese (Doutorado em Ciências do Solo: área de concentração solo e Ambiente), Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 2016.

PRADO, A. G. S; PERTUSATTI, J.; NUNES, A. R. Aspects of protonation and deprotonation of humic acid surface on molecular conformation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1478-1483, 2011.

PRANDEL, L. V. **Integração de métodos de caracterização mineralógica de solos caulíníticos**. 2015, 139 f. Tese (Doutorado em Ciências: área de concentração Física), Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa-PR, 2015.

PRIMO, D. C.; MENEZES, R. S. C.; SILVA, T. O. Substâncias húmicas da matéria orgânica do solo: uma revisão de técnicas analíticas e estudos no nordeste brasileiro. **Scientia Plena**, v. 7, n. 5, 2011, p. 1-13.

PURMALIS, O.; PORSNOVS, D.; KLAVINS, M.. Differential thermal analysis of peat and peat humic acids. **Scientific Journal of Riga Technical University**, v. 24, p. 89- 94, 2011.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. Substâncias húmicas aquáticas. Interação com espécies metálicas. São Paulo, **Editora UNESP**, 2003, p. 120.

ROLDAN, M. L. et al. Interaction of soil humic acids with herbicide paraquat analyzed by surface-enhanced Raman scattering and fluorescence spectroscopy on silver plasmonic nanoparticles. **Analytica chimica acta**, v. 699, n. 1, p. 87-95, 2011.

ROMERO, C. M. et al. Bulk optical characterization of dissolved organic matter from semiarid wheat-based cropping systems. **Geoderma**, v. 306, p. 40-49, 2017.

SAAB, S. C. **Caracterização da matéria orgânica em gleissolos por espectroscopias de EPR, RMN, IV e UV-visível**. 1999, 111 f. Tese (Doutorado em Ciências - Química) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.

SAAB, Sérgio da Costa; MARTIN-NETO, Ladislau. Use of the EPR technique to determine thermal stability of some humified organic substances found in soil organic-mineral fractions. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 497-498, 2003.

SAAB, S. C.; MARTIN-NETO, L. Anéis aromáticos condensados e relação E4/E6: estudo de ácidos húmicos de Gleissolos por RMN de ^{13}C no estado sólido utilizando a técnica CP/MAS desacoplamento defasado. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 260-263, 2007.

SANTOS, A. M. P. et al. New Organomineral Complex from Humic Substances Extracted from Poultry Wastes: Synthesis, Characterization and Controlled Release Study. **J. Braz. Chem. Soc**, v. 29, n. 1, p. 140-150, 2018.

SANTOS, E. S. et al. Espectrometria de Fluorescência de Raios-X na Determinação de Espécies Químicas. **Enciclopédia Biofera**, v. 9, n. 17, p. 3413-3432, 2013.

SANTOS, G. A. **Contribution a l'étude des interaction matière organique et phosphore dans um sol ferralitique**. 1984. 147 f. Tese (Doutorado em Engenharia- Ciência do Solo)- Institut National Polytechnique de Loraine, Nancy, 1984.

SANTOS, H. G. et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 4. Ed. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 376 p.

SCANNING ELECTRON MICROSCOPE – SEM. **MIRA 3 FEG-SEM: Instruction for Use**, 2011. 41 p. In: PRANDEL, L. V. Integração de métodos de caracterização mineralógica de solos caulíníticos. 2015, 139 f. Tese(Doutorado em Ciências: área de concentração Física), Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa-PR, 2015

SCHNITZER, M.; SCHULTEN, H.-R. Analysis of organic matter in soil extracts and whole soils by pyrolysis-mass spectrometry. **Advances in agronomy**, v. 55, p. 167-217, 1995.

SCHRAMM, R. Use of X-ray Fluorescence Analysis for the Determination of Rare Earth Elements. In: HU, B. et al. **Handbook of Rare Earth Elements: Analytics**. Walter de Gruyter GmbH & Co KG, 2017. Disponível em : <<https://books.google.com.br/books?id=fBbEDgAAQBAJ&lpg=PR5&ots=mA6akKE01E&dq=WDXRF%2C%20humic%20acid&lr&hl=pt-BR&pg=PR1#v=onepage&q&f=false>>. Acesso em : 07 de dezembro de 2017.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. A state of the art structural concept for humic substances. **Naturwissenschaften**, v. 80, n. 1, p. 29-30, 1993.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. Three-dimensional models for humic acids and soil organic matter. **Naturwissenschaften**, v. 82, n. 11, p. 487-498, 1995.

SEGNINI, A. **Estrutura e estabilidade da Matéria Orgânica em áreas com potencial de sequestro de carbono no solo**. 2007, 130 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciências-Química Analítica) – Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2007.

SHURYGINA, E. A. et al. Differential thermal analysis (DTA) and thermogravimetry (TG) of soil humus substances. **Geoderma**, v. 6, n. 3, p. 169-177, 1971.

SIERRA, M. M. S et al. A utilizacao da espectroscopia de fluorescência no estudo da matéria orgânica dissolvida nas aguas naturais: evolução e perspectivas. **Química Nova**, v. 19, n. 3, p. 294-301, 1996.

SIGNOR, D. et al. Atributos químicos e qualidade da matéria orgânica do solo em sistemas de colheita de cana-de-açúcar com e sem queima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 9, p. 1438-1448, 2016.

SILVERSTEIN, R. N.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação Espectroscópica de compostos orgânicos**. 5 ed. São Paulo: Guanabara, 1994. p. 387.

SIMPSON, A. J. et al. Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. **Naturwissenschaften**, v. 89, n. 2, p. 84-88, 2002.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentals of Analytical Chemistry**. 9 ed. Belmont: Cengage Learning, 2014.1088p.

SOARES, J. R. **Estudo de solos antropogênicos da Amazônia utilizando espectroscopia Raman**. 2011. 81 p. Dissertação (Mestrado em Física)- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

STEVENSON, F. J. **Humus Chemistry: Genesis, coomposition, reactions**. New York, John Wiley & Sons, 1994. p. 443.

SWIFT, R. S. Organic Matter Characterization. In: D. L Sparks. Eds. **Methods of soil analysis**. Part 3. Chemical Methods. Book Series: 5. Wisconsin: Soil Science Society of American, 1996. Cap. 35, p. 1011-1069.

TIPLER, P. A.; LLEWELLYN, R. A. **Física Moderna**. 6ed. Rio de Janeiro: LTC, 2014, 500p.

VINADÉ, M. E. C.; VINADÉ, E. R. C. **Métodos Espectroscópicos de Análise quantitativa**. Santa Maria-RS: Ed. UFSM, 2005, 272 p.

VOGUEL, A. I. **Análise química quantitativa**. 6 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2013, 488p.

YANG, Y.; WANG, T. Fourier transform Raman spectroscopic characterization of humic substances. **Vibrational spectroscopy**, v. 14, n. 1, p. 105-112, 1997.

ZSOLNAY, A. et al. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. **Chemosphere**, v. 38, n. 1, p. 45-50, 1999.

2 CARACTERIZAÇÃO DAS FRAÇÕES DE ÁCIDO HÚMICO (AH) DE SOLOS SOB A INFLUÊNCIA DE CALAGEM.

Resumo

A caracterização da fração ácido húmico (AH), extraídos de solos provenientes de um experimento de avaliação do efeito da calagem, foi realizada neste estudo. As espectroscopias utilizadas foram: fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (WDXRF); infravermelho (IV); Raman; absorção de luz no ultravioleta e visível (UV-Vis); e, fluorescência no visível. As técnicas auxiliares, termogravimetria (TG) e microscopia eletrônica de varredura com canhão eletrônico por efeito de campo (MEV-FEG), também foram utilizadas. Os resultados das técnicas espectroscópicas apontam o AH extraído do solo com adição de calcário na camada de profundidade (10 – 20 cm), como a fração mais humificada. A análise elementar revelou que para os AHs extraídos de solos sem adição de calcário, a maior quantidade de C e N encontra-se na amostra extraída da camada de profundidade (10-20 cm). Em contraste a isto, para AHs extraídos de solos com adição de calcário, o maior percentual elementar está nas frações extraídas da camada de superfície. As micrografias não apontaram diferenciação morfológica para as amostras estudadas.

Palavras-Chaves: Ácido Húmico. Calagem. Humificação. Caracterização.

2.1 INTRODUÇÃO

Ácidos húmicos são estruturas moleculares, do grupo das substâncias húmicas que são solúveis em meio alcalino. Em sua estrutura química possuem diferentes grupos funcionais, os quais possibilitam a esta substância inúmeras funções. No solo, é o principal constituinte da matéria orgânica, que interagem com os metais e a argila, formando agregados que favorecem a aeração do solo e a diminuição da erosão, pois evitam o escoamento de água. (STEVENSON, 1994). Recentemente, esta substância tem chamado bastante atenção por ser utilizada como elemento precursor para a produção de grafeno (XING et al., 2017). Devido a estas e muitas outras atribuições, esta fração química é amplamente estudada (MELO; MOTTA e SANTANA, 2016).

Normalmente as pesquisas relacionadas a AHs concentram-se no isolamento, avaliação da composição elementar e a busca pela caracterização da estrutura molecular

(CUNHA et al. 2007; SEGNINI, 2007; GIOVANELA, M. et al, 2010; SOUZA; BRAGANÇA, 2017). Contudo, existem poucos estudos aprofundados sob os efeitos da calagem em ácidos húmicos. O que se encontra na literatura são trabalhos que avaliam os efeitos da calagem na composição elementar do solo inteiro (KREUTZER, 1995), frações minerais (YUNUS; WANATOWSKI e STACE, 2011) e das frações húmicas particularmente ácido húmico e ácido fúvico (MARSCHNER; WILCZYNSKI, 1991).

Diante disto, o principal objetivo deste trabalho é caracterização por espectroscopias (infravermelho, Raman, ultravioleta e visível e fluorescência de raios X e no visível) e técnicas auxiliares, como termogravimetria e microscopia eletrônica, das frações de AHs extraídos de amostras provenientes de um experimento de avaliação dos efeitos da calagem no solo.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Amostragem

A amostra são provenientes de uma propriedade rural familiar, situada no município de Irati, PR. Os solos são classificados como um CAMBISSOLO HÁPLICO Alumínico (EMBRAPA, 2013) de textura argilo-siltosa (AULER, 2014). Solos desta região são compostos basicamente por minerais primários (muscovita, quartzo e feldspato) e secundários (caulinita, illita, óxidos de ferro e gibbsita) (MARTINS, 2010; AULER, 2014).

O sistema de manejo adotado é plantio direto, com rotação anual de culturas, onde um experimento que visava avaliar a influência da calagem no solo foi instalado no ano de 2012. Para isto, houve aplicação de calcário na superfície, em quatro faixas com diferentes doses (0, 10, 15 e 20 t.ha⁻¹), sendo que os solos utilizados para este estudo foram somente com aplicação nas doses de 0 e 20 t.ha⁻¹ de calagem.

Além destas, amostras foram retiradas de um solo recoberto por gramínea, convertido de mata à pastagem de grama missioneira gigante há mais de 40 anos, nomeado neste trabalho como solo de Referência. Segundo relato dos moradores, nunca foi realizada práticas de correção da acidez do solo ou de adubação. O método de pastejo empregado sempre foi contínuo com uma baixa taxa de lotação e a pastagem encontrava-se em estágio avançado de degradação (AULER, 2014).

A coleta das amostras ocorreu manualmente, nos meses de dezembro de 2014 e janeiro de 2015, após 18 meses da aplicação da calagem, nas camadas de 0-10 cm e de 10-20 cm, ambas descritas neste trabalho como superfície e profundidade respectivamente. Para cada camada foi realizado quatro amostragens do solo na forma de estrutura deformada (AULER, 2014). Essas

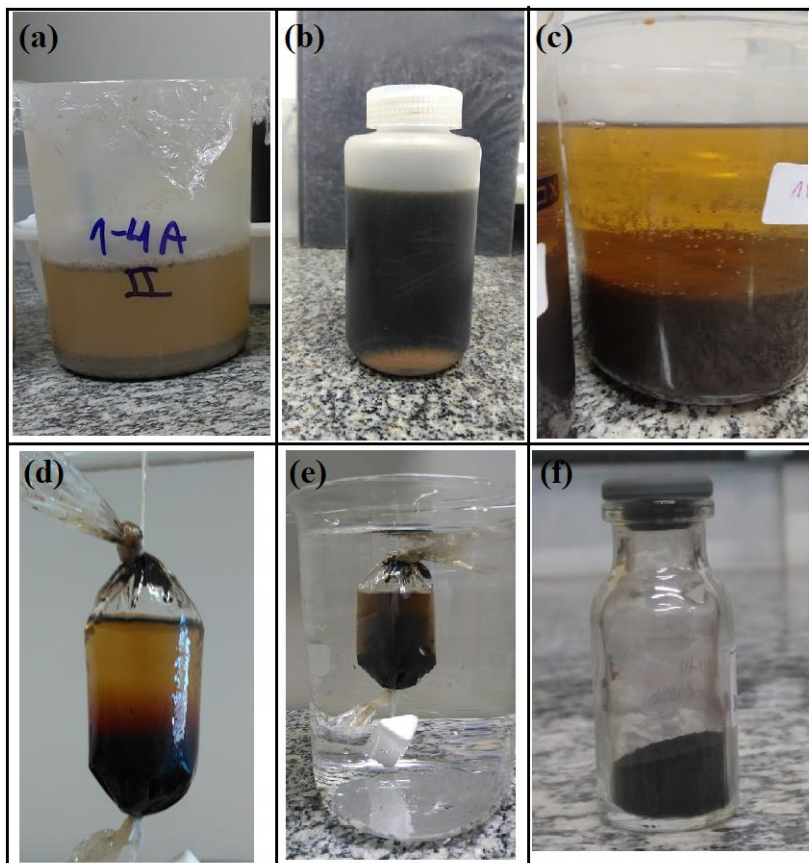
amostragens foram secas em estufa a 40 °C, destorroadas, moídas e peneiradas em malha de 2 mm para formar a fração terra fina seca ao ar (TFSA).

2.2.2 Fracionamento Químico

O fracionamento químico da matéria orgânica do solo foi realizado no laboratório do grupo FASCA do Departamento de Física da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), utilizando a metodologia da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) e adaptada por Swift (1996). Nesta metodologia a solubilidade em diferentes pHs das frações da matéria orgânica (AH, AF e HU) é utilizada como parâmetro para separá-las.

Para este procedimento, inicialmente 100 g de TFSA de cada solo, foi misturada em 1 L de solução de HCl 0,1 mol.L⁻¹, com pH entre 1 e 2, agitadas com bastão de vidro durante 1 hora. Logo após as amostras permaneceram em repouso por 3 horas para que a fração de massa mais elevada, AH e HU, decantassem e o primeiro extrato da fração ácido fúvico (AF₁), dispersa no sobrenadante, fosse removida (Figura 2.1(a)).

Figura 2.1- Procedimento de extração química das frações da matéria orgânica do solo: (a) extração da primeira parcela da fração ácido fúvico; (b) remoção da fração húmica por centrifugação; (c) extração da segunda parcela de ácido fúvico; (d) ácido húmico em membranas de diálise; (e) processo de diálise da fração ácido húmico; e , por fim (f) ácido húmico liofilizado.



Fonte: A autora.

Ao precipitado foi adicionado 1 L de NaOH 0,1 mol.L⁻¹, pH entre 12 e 13, para sua neutralização. A solução foi mantida em agitação manual durante 4 horas e em seguida deixada em repouso por 20 horas para que o AF₂ e o AH fossem separados da fração HU e se dissolvessem no sobrenadante. Restando assim como precipitado a fração HU. O sobrenadante foi transferido para os tubos de ultracentrífuga e encaminhado à centrifugação por 10 min, a 25 °C e 10000 rpm, com o intuito de precipitar o restante da fração HU que poderia estar misturada ao sobrenadante, (Figura 2.1(b)). Para auxiliar na remoção, sem contaminação do precipitado (HU), o sobrenadante foi removido dos tubos de centrifugação por sifonação.

Na solução renascente, composta das frações AF₂ e AH, foi adicionado 20 mL de HCl 6 mol.L⁻¹, em constante agitação até chegar a pH entre 1 e 1,5. A solução permaneceu em repouso por 12 a 16 horas, para precipitação da fração AH, que é insolúvel em pH ácido, (Figura 2.1(c)). O sobrenadante, contendo a fração AF₂, foi removido por sifonação, após o processo de centrifugação, e o precipitado foi redissolvido com a menor quantidade possível da solução de KOH 0,1 mol.L⁻¹. A amostra foi levada a mesa agitadora, onde permaneceu por 2 horas.

Logo após o término da agitação, o processo de purificação do AH foi iniciado, com a adição de KCl sólido em quantidade suficiente para alcançar a concentração de 0,3 mol. L⁻¹ de [K⁺]. Para este fim, é considerado a quantidade adicionada de KOH no processo anterior, sendo que para cada 50 mL de KOH adicionados a amostra, 0,745 g de KCl são adicionados.

Feito isto, as amostras foram encaminhadas a centrifugação por 10 minutos a 10000 rpm, para a remoção dos sólidos suspensos. O sobrenadante foi acidificado com HCl 6 mol.L⁻¹, até atingir pH 1, e deixado em repouso por 12 a 16 horas. A solução foi centrifugada, o sobrenadante foi descartado e o precipitado misturado a 100 mL da solução contendo HCl 0,1 mol.L⁻¹ e HF 0,3 mol.L⁻¹ em recipiente de plástico. Esta solução permaneceu em mesa agitadora pelo período de 12 a 16 horas, sendo novamente centrifugada e o sobrenadante descartado.

O processo de adição de HCl 0,1 mol.L⁻¹ e HF 0,3 mol.L⁻¹ ao sobrenadante foi repetido por mais duas vezes, para obtenção de uma fração AH mais purificada. O precipitado, agora fração AH, foi então transferido para membranas (Figura 2.1(d)) onde permaneceu por 10 dias em diálise com água ultrapura, (Figura 2.1(e)). Por fim a fração AH foi congelada, liofilizada e armazenadas (Figura 2.1(f)) até serem utilizadas nas análises de caracterização.

As seis amostras de solos, descritas no tópico anterior, foram fracionadas quimicamente e somente a fração AH foi estudada neste trabalho. Consequentemente foram obtidas seis amostras: AH extraído da camada de superfície do solo (0 - 10 cm) sem adição de calcário (AH_{SC(S)}); AH extraído da camada de profundidade do solo (10 – 20 cm) sem adição

de calcário ($AH_{SC(P)}$); AH extraído da camada de superfície do solo com adição de calcário ($AH_{CC(S)}$); AH extraído da camada de profundidade do solo com adição de calcário ($AH_{CC(P)}$); AH extraído da camada de superfície do solo de referência ($AH_{Ref(S)}$); e, por fim, AH extraído da camada de profundidade do solo de referência ($AH_{Ref(P)}$).

2.2.3 Teor de cinza

O teor de cinza corresponde a quantidade de material inorgânico (cinza) associado a fração de AH, revelando a eficiência do processo de purificação realizado ao final da extração. A quantificação de cinza, em amostras de AH, é importante pois esta pode interferir na interpretação de análises elementares de amostras orgânicas.

O experimento foi realizado para as amostras de $AH_{SC(S)}$, $AH_{SC(P)}$, $AH_{CC(S)}$, $AH_{CC(P)}$, $AH_{Ref(S)}$ e $AH_{Ref(P)}$, onde foi obtido o teor de cinza pela diferença entre a massa de AH seco, submetido a calcinação em cadinho de alumina, e o resíduo final obtido. Aproximadamente 30 mg de cada amostra foi submetida ao tratamento térmico de 700 °C por 2 horas, com aquecimento de 10 em 10 °C. A determinação deste teor foi realizada em triplicada e o valor final é a média entre os valores obtidos.

Antes da calcinação das amostras, os cadinhos de alumina foram submetidos ao mesmo processo térmico, para evitar eventuais impurezas.

2.2.4 Caracterização

2.2.4.1 *Análise Elementar por Fluorescência de Raios X por Dispersão do Comprimento de Onda*

A análise elementar das amostras de AHs foi realizada por meio da técnica de Fluorescência de raios X por dispersão do comprimento de onda (WDXRF) no modo quantitativo. As amostras foram preparadas em forma de pastilhas, com diâmetro de 13 mm, e espessura de 1 a 2 mm, para isto foi necessário aproximadamente 500 mg de cada amostra. A preparação das pastilhas foi realizada em prensa com pressão de 60 kN durante 1 minuto, sem a realização de mistura com outros materiais. Isto possibilitou, o reaproveitamento da amostra em outras avaliações.

Para uma precisão adequada, esta análise requer calibração prévia, utilizando padrões que se aproximem da composição química e características físicas das amostras. A curva de calibração, foi obtida com dois padrões de AH comercializados pela IHSS (IHSS, 2017),

(1S103H e 1S104H) e Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético (EDTA) da marca LECO. Todos esses padrões possuem certificação elementar.

A curva de calibração foi elaborada seguindo uma metodologia imposta pelo fabricante do equipamento utilizado. Inicialmente foi necessário informar ao software o tipo da amostra (neste caso, pó prensado sem mistura de ligante), o diâmetro e massa. A seleção elementar foi realizada adicionando-se, além das concentrações de C e N, mais três concentrações elementares do Enxofre (S), Fósforo (P) e Oxigênio (O), com objetivo de que a soma da porcentagem de massa se aproximasse de 95% do valor total da massa da amostra. Este é um valor estipulado para que se obtenha maior precisão na calibração. Como a atenção era voltada para o C e N, e estes são elementos leves, a linha principal que foi avaliada foi a K- α . As condições da medida, como voltagem e corrente foram fixadas em 30 V e 133 mA para todos os elementos, já o cristal que melhor dispersa o comprimento de onda característico do elemento e o SLIT (que trata-se de um sistema de placas que funcionam como um colimador dos raios X característicos), foram modificadas para cada elemento e estão apresentadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1- Condições de medida para obtenção da calibração do equipamento de WDXRF, para análise elementar.

Elemento	Cristal	Slit
C	RX61	S-8
N	RX40	S-8
S	Ge	S-4
P	Ge	S-4
O	RX40	S-4

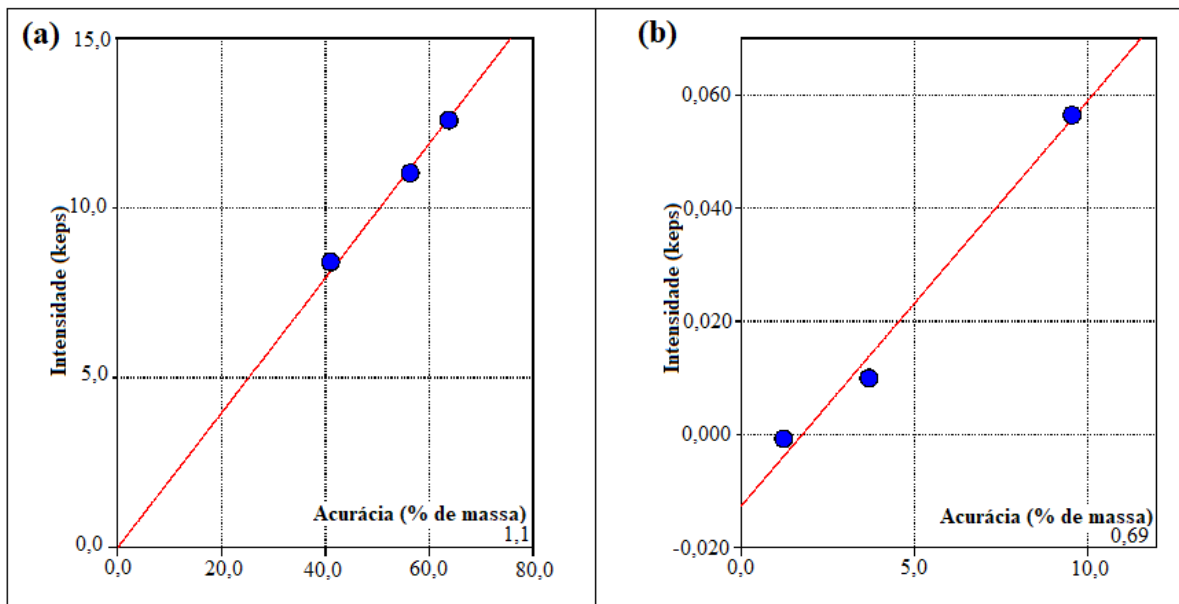
Fonte: A autora.

Todas as medidas foram realizadas em atmosfera de vácuo, com diâmetro efetivo da amostra de 10 mm, variação de 40 a 54° com um passo de 0,1° a cada 0,23 segundos.

Realizados os “scans”, o gráfico formado foi da intensidade da radiação pela posição do cristal, expresso por 2θ . O pico de máxima intensidade e a radiação de fundo foram definidos para então seguir com a determinação da precisão analítica da medida. Nesta etapa é importante adequar o tempo de maneira tal a se obter a melhor detecção em percentual de massa. Após todas estas adequações, as análises foram realizadas com todos os padrões, o resultado foi a medição da intensidade relacionada com o percentual de massa para cada elemento, com isto foi possível obter a calibração. A Figura 2.2 mostra as retas de calibração para os dois elementos, C e N, que desejava-se quantificar nas amostras de AH.

Para os dois elementos, o valor do fator de correção da reta de calibração foi 0,99, obtendo o valor de acurácia de 1,12 para o elemento Carbono, e 0,69 para o Nitrogênio.

Figura 2.2- Curvas de calibração para análise quantitativa por Fluorescência de Raios X por Dispersão de Comprimento de Onda, para (a) Carbono (C) e (b) para Nitrogênio (N).



Fonte: A autora.

As análises foram realizadas no C-labmu/UEPG em uma equipamento da marca Rigaku Modelo *ZSX Primus II*. Para cada pastilha, foi realizado três medidas quantitativas de C e N, com as quais foi obtido um valor médio, em porcentagem de massa, e desvio padrão dos valores.

2.2.4.2 Espectroscopia de Infravermelho

Para os espectros de Infravermelho, cerca de 1 a 2 mg das amostras de $AH_{SC(S)}$, $AH_{SC(P)}$, $AH_{CC(S)}$, $AH_{CC(P)}$, $AH_{Ref(S)}$ e $AH_{Ref(P)}$, foram homogeneizadas com 100 mg de KBr seco, utilizando almofariz e pistilo. Com estas misturas foram feitas pastilhas utilizando prensa com pressão de 80 kN por 5 minutos. Uma pastilha foi feita com o KBr puro para obtenção do branco.

Os espectros foram obtidos a partir de 64 varreduras, no intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} utilizando o espectrofotômetro da marca Shimadzu, modelo *IRPrestige-21* do C-Labmu/UEPG.

2.2.4.3 Espectroscopia Raman

Os experimentos para obtenção dos espectros Raman, foram realizados a temperatura ambiente, com um espectrômetro da marca Bruker modelo *Senterra*, do C-labmu/UEPG. A radiação utilizada foi de 532 nm, utilizando uma grade de linhas de 2400 linhas/mm e filtro de

10 % referente a potência do laser. As amostras foram feitas em bulk, no intervalo de 50 - 4000 cm^{-1} e tempo de aquisição de 40 s.

2.2.4.4 *Espectroscopia de absorção na região do UV-visível (razão E_4/E_6)*

As amostras de AHs foram analisadas por espectroscopia de absorção na região do Ultravioleta e Visível (UV-vis), utilizando o espectrômetro da marca Varian modelo *Cary 50*, C-labmu/UEPG. Os espectros foram obtidos na região de 200 a 800 nm.

O procedimento experimental para esta análise foi baseado em alguns estudos na literatura (CHEN et al, 1977; SENESI, 2003; SAAB, 2007). Cerca de 3 mg das amostras de AH foram dissolvidas em 10 mL de solução NaHCO_3 0,05 mol.L^{-1} . As soluções foram mantidas em mesa agitadora por 24 horas, para garantir a melhor dissolução. Antes da realização da medida, a solução foi ajustada ao pH em torno de 8,3.

Com os valores das absorbâncias nos comprimentos de onda de 465nm e 665 nm foi possível o cálculo da razão E_4/E_6 . Todas as medidas foram realizadas em triplicata, com as quais se obteve o valor médio e o desvio padrão.

2.2.4.5 *Espectroscopia de fluorescência na região do visível*

Os espectros de fluorescência foram realizados pelo modo de emissão, utilizando uma célula de quartzo e o espectrômetro *Varian Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer*, do Laboratório de Caracterização Físico-Química, do Departamento de Química da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Cerca de 3 mg das amostras de AHs, foram solubilizados em 150 mL de NaHCO_3 0.05 mol L^{-1} , esta concentração foi determinada por Milori et al (2002) que ao variar a concentração linearmente, perceberam que acima de 20 mg L^{-1} a intensidade da fluorescência decai. Esta solução permaneceu 24 horas em mesa agitadora para melhor solubilização. Todas as medidas foram realizadas em triplicata, por meio das quais se obteve o valor médio e o desvio padrão.

Minutos antes da medida, o pH das soluções foi ajustado para ficar em torno de 8 a 9, com soluções de HCl e NaOH. Além disso, a solução passou pelo processo de filtragem (com filtro de papel) para evitar precipitados na amostra.

Foram utilizados dois métodos para estimar o grau de humificação dos AHs. O primeiro foi o método proposto por Zsolnay et al. (1999), por meio de espectros de fluorescência, no modo de emissão, com excitação em 240 nm e varredura de 350 a 650 nm. O espectro total, foi dividido em 4 partes e o grau de humificação foi calculado pela razão entre a

área A₄, compreendida pela região entre 570 a 641 nm, e a área A₁, na região entre 356 a 432 nm.

O segundo método foi o proposto por Milori et al. (2002), que consiste na utilização do comprimento de onda azul (465 nm) como fonte de excitação e o valor da área total sob o espectro é proporcional ao grau de humificação e é chamado de índice A₄₆₅.

2.2.4.6 *Análises Térmicas*

As curvas de termodegradação das amostras de AHs foram obtidas em um analisador termogravimétrico da marca TA instruments modelo *STA-Q600*, do Grupo de Física Aplicada a Materiais da Universidade Estadual do Centro Oeste do Paraná. Foram pesados cerca de 5 a 10 mg de cada amostra em cadinho de alumina e submetidos a um aquecimento controlado a partir da temperatura ambiente até 800°C, com taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹ sob atmosfera de ar sintético, com um fluxo de 80 mL.min⁻¹.

O índice termogravimétrico (ITG) foi calculado pela razão entre a perda de peso no segundo evento (350 - 650°C) e a perda de peso no primeiro evento (150 - 350°C), conforme procedimento descrito em Benites et al. (2005).

2.2.4.7 *Microscopia Eletrônica de Varredura com Canhão Eletrônico por Efeito de Campo*

Para a realização da análise morfológica, as amostras de AH extraídas do solo foram homogeneizadas com auxílio de almofariz e pistilo e depositadas em suporte apropriado para microscopia. Uma fita de carbono acoplada ao suporte foi utilizada para aumentar a fixação do material. As amostras foram metalizadas utilizando um equipamento Shimadzu IC-50 por 2 minutos a 2 mA e submetidas à microscopia eletrônica de varredura com canhão eletrônico por efeito de campo (MEV-FEG) da Tescan, modelo *Vega 3*, utilizando 15 kV, do C-Labmu/UEPG.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Fracionamento Químico e Teor de Cinza

As seis amostras de solo foram submetidas ao fracionamento químico para a obtenção das frações de AHs de cada solo (AH_{SC(S)}, AH_{SC(P)}, AH_{CC(S)}, AH_{CC(P)}, AH_{Ref(S)} e AH_{Ref(P)}). Dos 100 g de solo submetido ao procedimento de extração, foram obtidos ao final de dois processos de purificação, entre 0,5 a 2,2 mg. A Tabela 2.2 apresenta os valores de teores de cinza dos AHs, em porcentagem.

Tabela 2.2- Percentual de cinza das amostras de AHs extraídas dos solos.

Amostra	Teor de Cinza (%)
AH_{SC}(S)	1,83 ± 0,07
AH_{SC}(P)	3,7 ± 0,4
AH_{CC}(S)	4,3 ± 0,1
AH_{CC}(P)	3,55 ± 0,07
AH_{Ref}(S)	3,56 ± 0,03
AH_{Ref}(P)	4,4 ± 0,7

Fonte: A autora.

Os teores de cinza dos AHs, após duas purificações, situaram-se entre 1,8 a 4,4 %. Segundo Segnini (2007) teores de cinza abaixo de 5 % indicam que a amostra está praticamente livre das frações minerais, eliminados nas purificações efetuada no fracionamento químico. Desta maneira, foi possível a caracterização dos AHs através das análises espectroscópicas.

2.3.2 Técnicas de caracterização

2.3.2.1 *Análise elementar por Fluorescência de Raios X por Dispersão do Comprimento de Onda*

Uma das características mais fundamentais de uma substância química é a sua composição elementar. Por isto, a determinação desta em compostos químicos é o primeiro passo para iniciar estudos mais avançados (RICE; MACCARTHY, 1991). Segundo Santos (2013), instrumentos de fluorescência de raios X são capazes de produzir análises quantitativas de materiais complexos com precisão que iguala ou excede aquela dos métodos clássicos ou outros métodos instrumentais.

Os valores em percentual de massa de C e N, obtidos por WDXRF, são apresentados na Tabela 2.3.

Tabela 2.3- Percentual de massa de Carbono (C) e Nitrogênio (N) das amostras de ácidos húmicos extraídos de solos.

Amostra	C	N
	-----% de Massa-----	
AH_{SC}(S)	47 ± 2	3,23 ± 0,07
AH_{SC}(P)	51 ± 2	3,70 ± 0,07
AH_{CC}(S)	54 ± 2	3,72 ± 0,05
AH_{CC}(P)	50 ± 2	3,4 ± 0,1
AH_{Ref}(S)	49 ± 2	3,5 ± 0,1
AH_{Ref}(P)	49 ± 2	3,77 ± 0,09

Foto: A autora.

O conteúdo de C para os AHs extraídos do solo, apresentaram valores entre 47 a 54 % (AH_{CC}(S) e AH_{SC}(S), respectivamente). Já para o N, os valores permanecem entre 3,2 a 3,8 %

($AH_{CC(S)}$ e $AH_{Ref(P)}$, respectivamente). Canellas et al (2005), aponta por meio de uma revisão bibliográfica que em média, o conteúdo de C e N nos ácidos húmicos é de 55,1% e 3,5%, respectivamente. Logo, os valores medidos por WDXRF para as amostras de AH extraídas de solos estão em comum acordo com a literatura.

Com a comparação de valores (Tabela 2.3), é possível constatar que a aplicação de calcário fez aumentar os níveis de carbono humificado, principalmente na superfície. A amostra de referência não possui diferença significativa na quantidade de C em superfície e profundidade. Contudo, na quantificação de N, a diferença entre superfície e profundidade fica evidente, sendo que o maior percentual é apresentado na amostra de $AH_{Ref(P)}$.

Com relação aos AHs extraídos dos solos sem adição de calcário, é possível verificar que a maior quantidade para os dois percentuais elementares, é procedente da camada de profundidade (10 – 20 cm). Em contraste a isto, os AHs extraídos do solo com adição de calcário, tiveram maiores percentuais elementares na camada de superfície (0 – 10 cm).

Com a aplicação de calagem, como consequência o aumento do pH do solo, acontece uma forte estimulação da atividade microbiana na camada de superfície do solo (MARSCHNER, e WILCZYNSKI, 1991). Isto pode ter levado ao aumento na produção de matéria orgânica humificada na superfície, ocasionando assim uma maior quantidade de C e N depositada nesta camada.

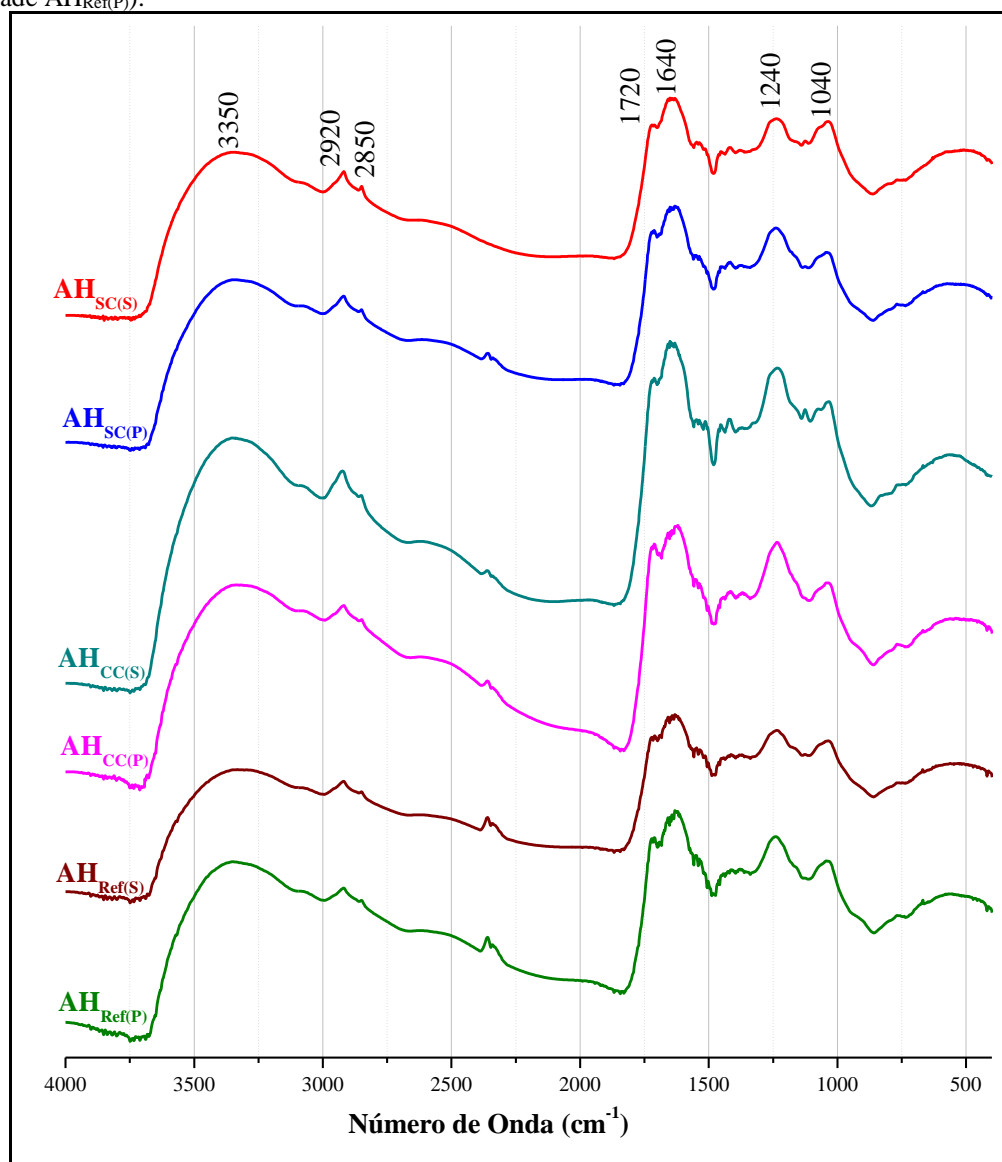
2.3.2.2 *Espectroscopia de Infravermelho*

Os espectros na região do infravermelho foram realizados com o intuito de obter informações a respeito da composição dos grupos funcionais presentes nos AHs.

Por meio de uma análise geral dos espectros de IV das amostras de ácido húmico (Figura 2.3), é possível observar algumas bandas características. A interpretação desses resultados consistiu basicamente na identificação de alguns grupos funcionais de absorção no infravermelho, caracterizados e identificados de acordo com a literatura (SILVERSTEIN, BASSLER e MORRIL, 1994, ABREU et al., 2009; STEVENSON, 1994; CANELLAS e RUMJANEK, 2005; BARBOSA, 2008).

Os espectros de infravermelho no modo absorbância, dos AHs extraídos das amostras de solos estudados, estão apresentados na Figura 2.3.

Figura 2.3- Espectros de Infravermelho dos ácidos húmicos extraídos dos solos: sem aplicação de calcário (camada de superfície $AH_{SC(S)}$ e camada de profundidade $AH_{SC(P)}$); com aplicação de calcário (camada de superfície $AH_{CC(S)}$ e camada de profundidade $AH_{CC(P)}$); e, referência (camada de superfície $AH_{Ref(S)}$ e camada de profundidade $AH_{Ref(P)}$).



Fonte: A autora.

Os principais grupos funcionais de absorção no infravermelho encontrados nos espectros das amostras de ácido húmico são: uma banda larga em 3350 cm^{-1} corresponde a uma sobreposição de bandas referentes ao estiramento OH (Álcoois e fenóis associados por ligação de hidrogênio), estiramento NH (aminas primárias e secundárias e/ou amidas) e água, presente como impureza; os picos em 2920 e 2850 cm^{-1} são referentes ao estiramento assimétrico e simétrico, respectivamente, de CH alifáticos; o pico em 2360 cm^{-1} está presente em quase todas as amostras (exceto na amostra de $AH_{SC(S)}$) é referente ao CO_2 do ambiente e não é proveniente da amostra; o pico na região de 1720 cm^{-1} é atribuído ao estiramento de cetonas ($\text{C}=\text{O}$) e de ácidos carboxílicos (COOH); acompanhado deste, tem-se em 1640 cm^{-1} o pico mais

proeminente do espectro, este pode ser associado ao estiramento C=O, deformações N-H das amidas primárias, estiramento C=C dos anéis aromático e estiramento assimétrico dos íons carboxilatos (COO⁻), que é resultado da desprotonação de grupos carboxílicos; A banda em 1240 cm⁻¹ é atribuída ao estiramento simétrico de C-O e deformação OH dos COOH; Logo ao lado é possível observar em 1040 cm⁻¹ um pico devido ao estiramento C-O de estruturas polissacarídeas e/ou estiramento Si-O de impurezas do tipo silicato.

Os espectros de IV deste estudo, são semelhantes aos encontrados na literatura na caracterização de ácidos húmicos extraídos de solos (DOBBSS, 2009; THIAGO, 2016; BENITES, 2005; CUNHA, 2016; HANKE, 2017)

Por meio da avaliação dos espectros (Figura 2.3), não é possível evidenciar nenhuma diferença, seja no deslocamento ou na intensidade das bandas dos ácidos húmicos retirados dos diferentes solos. Assim, não é possível diferenciar, somente com espectroscopia no infravermelho, as amostras de AH de solos expostos a calcário.

2.3.2.3 Espectroscopia Raman

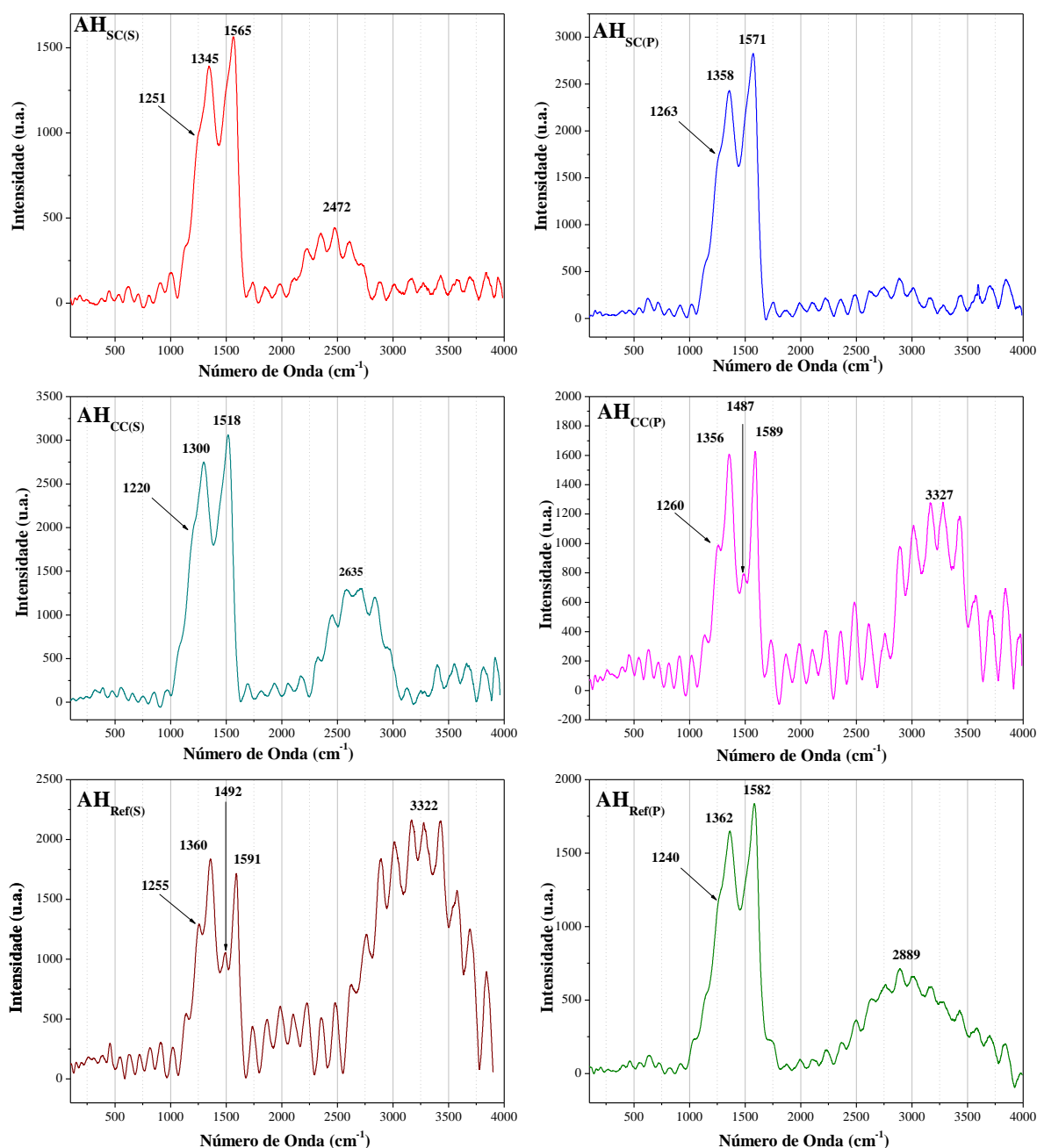
A Figura 2.4 apresenta os espectros Raman, na região de 100 a 4000 cm⁻¹, das seis amostras de AH extraídas de solos. Em quase todos os espectros foi possível evidenciar quatro bandas (~1250, ~ 1360, ~ 1600 e ~2700 cm⁻¹) de grupos funcionais contidos na estrutura molecular de AHs. Estas são características de espectroscopia Raman de AHs (DURAIA, 2015; CARLETTI, 2010).

A pequena banda, ou até mesmo podendo ser considera um ombro em alguns espectros, na da região de 1220 a 1260 cm⁻¹, típica de ligações do tipo C-C, C-O, C-N, C-H e N-H de grupos alifáticos da molécula, aparece muito fraca em todos os espectros dos AHs analisados (ALVAREZ-PUEBLA, GARRIDO e AROCA, 2004).

Em ~1490 cm⁻¹ os espectros das amostras AH_{CC(P)} e AH_{Ref(S)} apresentam uma banda referente à presença anéis benzênicos poliméricos (FRANCIOSO, 2002; ALVAREZ-PUEBLA, GARRIDO e AROCA, 2004).

As duas bandas bastante intensas em todos os espectros, na região de ~1360 cm⁻¹ (até mesmo a banda em 1300 cm⁻¹ para o AH_{CC(S)}) e 1580 cm⁻¹, são atribuídas a porções aromáticas policondensadas. A ocorrência destas, pode ser devido à deformações no plano de anéis aromáticos, deformação de fenóis altamente distribuídos, anéis benzênicos altamente poliméricos e/ou vibrações de estiramento de anéis aromáticos. Essas bandas são definidas na literatura como banda D e banda G, respectivamente, e são utilizadas para medir o grau de cristalinidade ou amorfização de materiais carbonosos (FERRARI e ROBERTSON, 2000).

Figura 2.4- Espectros Raman (entre 100 a 4000 cm^{-1}) dos ácidos húmicos extraídos dos solos: sem aplicação de calcário (camada de superfície $\text{AH}_{\text{SC(S)}}$ e camada de profundidade $\text{AH}_{\text{SC(P)}}$); com aplicação de calcário (camada de superfície $\text{AH}_{\text{CC(S)}}$ e camada de profundidade $\text{AH}_{\text{CC(P)}}$); e, referência (camada de superfície $\text{AH}_{\text{Ref(S)}}$ e camada de profundidade $\text{AH}_{\text{Ref(P)}}$)



Fonte: A autora.

Segundo Lobo et al. (2005) e Soares (2011), a banda G é atribuída a todos os sítios sp^2 e a banda D é devido ao modo de respiração dos átomos sp^2 em anéis aromáticos, a medida com que a banda D aumenta em relação a banda G, indica, para carbonos amorfos, que está ocorrendo menor amorfização, ou maior ordenamento.

Os espectros apresentados na Figura 2.4, mostram que nas amostras de $AH_{SC(S)}$, $AH_{SC(P)}$, $AH_{CC(S)}$, $AH_{Ref(P)}$ a banda D possui intensidade levemente menor do que a banda G, indicando que essas amostras apresentam natureza de carbonos estruturalmente mais desordenados ou mais amorfos. Na amostra $AH_{Ref(S)}$ a banda D está relativamente mais intensa que a banda G indicando maior grau de ordenamento da estrutura molecular.

Para números de ondas maiores, é possível verificar um ombro de fluorescência centralizado em $\sim 2700\text{ cm}^{-1}$, exceto para a amostra de $AH_{SC(P)}$, referente ao estiramento de aminas ligadas e/ou estiramento de grupos C-H (ALVAREZ-PUEBLA, GARRIDO e AROCA, 2004). Este ombro alargado também é observado nas três primeiras bandas caracterizadas dos espectros de IV, (Figura 2.4), o que confirma a complementariedade das duas técnicas.

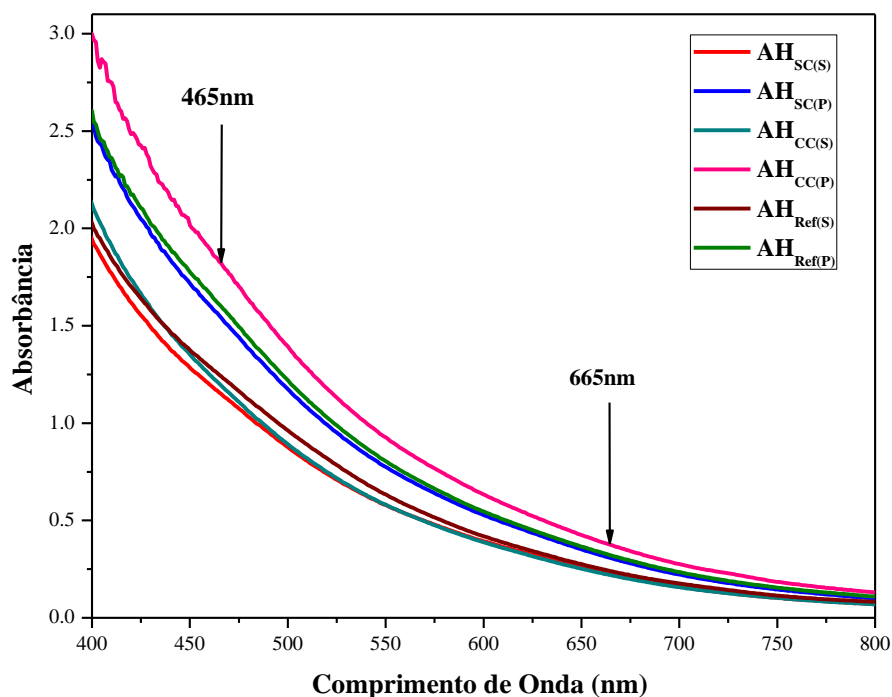
A fluorescência inerente nos espectros de AHs (Figura 2.4), foi o que impediu a caracterização de mais atributos moleculares. Ela é ocasionada pela mistura heterogênea de elementos químicos da composição do AH, que são facilmente excitados a comprimento de ondas no visível.

A excitação em comprimentos de onda no infravermelho, pode diminuir o efeito de fluorescência ressonante destas amostras, pois neste comprimento de onda as transições eletrônicas são mais difíceis de acontecer (MARTIN-NETO et al., 2009). Contudo, mesmo trabalhando com comprimento de onda maior para excitação, os sinais de Raman também são encobertos por uma radiação térmica de fundo, devido a cor escura das amostras (YANG e WANG, 1997).

2.3.2.4 Espectroscopia de absorção na região do UV-visível (razão E_4/E_6)

Os espectros de absorção na região do UV-Visível dos AHs são mostrados na Figura 2.5. Estes apresentam uma sobreposição de bandas e um comportamento logarítmico decrescente, a medida em que aumenta o comprimento de onda, diminui a absorbância.

Figura 2.5- Espectros de absorvância no UV-Visível dos AHs extraídos dos solos sem adição de calcário (AH_{SC}), com adição de calcário (AH_{CC}) e solo de referência (AH_{Ref}). Todas as amostras de solo em superfície (S) e profundidade (P).



Fonte: A autora.

Ainda no gráfico da Figura 2.5, está em destaque a absorção de luz nos comprimentos de onda associados à presença de grupos menos condensados (465 nm) e à policondensação de carbonos aromáticos (665 nm) (SAAB e MARTIN-NETO, 2007). Diante dos valores destas intensidades foi possível o cálculo da razão E_4/E_6 dos AHs extraídos das amostras de solos, estes valores estão expostos na Tabela 2.3.

Tabela 2.4-: Índices de humificação, obtidos por espectroscopia de absorção UV-vis e calculados pela razão E_4/E_6 , das amostras de AH extraídas dos solos sem adição de calcário ($AH_{SC(S)}$ e $AH_{SC(P)}$), com adição de calcário ($AH_{CC(S)}$ e $AH_{CC(P)}$) e solo de referência ($AH_{Ref(S)}$ e $AH_{Ref(P)}$).

Amostra	E_4/E_6
$AH_{SC(S)}$	$5,2 \pm 0,1$
$AH_{SC(P)}$	$5,08 \pm 0,03$
$AH_{CC(S)}$	$5,50 \pm 0,01$
$AH_{CC(P)}$	$4,88 \pm 0,02$
$AH_{Ref(S)}$	$5,22 \pm 0,03$
$AH_{Ref(P)}$	$5,01 \pm 0,01$

Fonte: A autora.

A razão E_4/E_6 é utilizada para indicar uma relação inversa com a humificação de substâncias húmicas e condensação de estruturas aromáticas, para os AHs este valor deve variar em torno de 5 (MCDONALDS et al, 2004; SENESI, N, D'ORAZIO, V e RICCA, G., 2003). Em vista disto, os valores apresentados na Tabela 2.4 estão de acordo com os valores propostos pela literatura, sugerindo assim um grau relativamente pequeno de condensação aromática.

Comparando os valores encontrados com a análise elementar de C humificado (Tabela 2.3), é possível constatar que a maior quantidade desses carbonos na amostra $AH_{CC(S)}$ encontra-se estruturado de forma alifática.

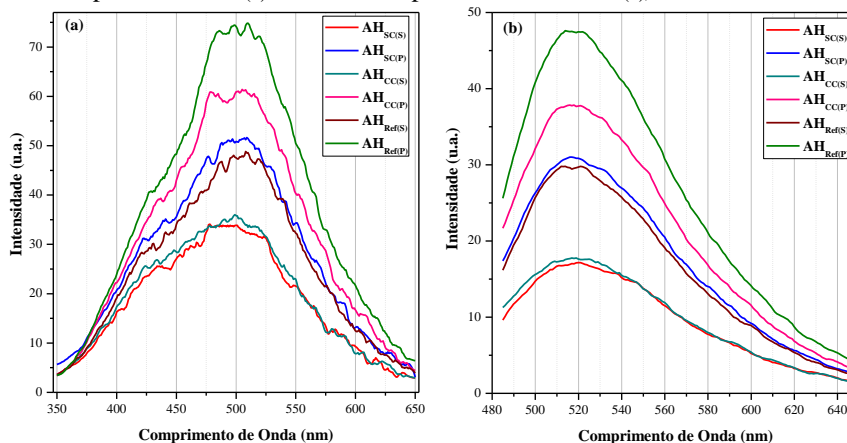
Também é possível verificar, por meio da Tabela 2.4, que os índices E_4/E_6 apresentam o mesmo comportamento em todos os pares de AHs, considerando superfície e profundidade. Todos os AHs da superfície apresentam um valor mais elevado da razão E_4/E_6 com relação às amostras da profundidade, ou seja, o grau de humificação aumenta com a profundidade. Considerando os valores da razão E_4/E_6 , as amostras que apresentaram menor e maior grau de humificação foram $AH_{CC(S)}$ e $AH_{CC(P)}$, respectivamente.

Segundo Marschner e Wilczynski (1991), o aumento do pH no solo, devido a correção com calagem, geralmente é acompanhado por uma estimulação da atividade biológica, que pode levar a evolução do processo de humificação. Isto pode explicar o maior grau de humificação, evidenciado pela razão E_4/E_6 , para a amostra de $AH_{CC(P)}$, que já passou pelo processo microbiano acelerado, e sua estrutura molecular evoluiu para condensação dos carbonos orgânicos em cadeias densas e fechadas.

2.3.2.5 Espectroscopia de fluorescência na região do visível

A Figura 2.6 mostra os espectros de fluorescência no modo emissão dos AHs. É possível verificar que estes são semelhantes aos espectros de fluorescência por emissão de AHs apresentados na literatura (ZSOLNAY et al., (1999); MILORI et al., (2002); CUNHA, et al. (2009); TADINI et al., 2018, no prelo).

Figura 2.6-Espectros de fluorescência, no modo emissão, com λ_{ex} em 240 nm (a) e λ_{ex} em 465 nm (b), dos ácidos húmicos extraídos dos solos: sem aplicação de calcário (camada de superfície $AH_{SC(S)}$ e camada de profundidade $AH_{SC(P)}$); com aplicação de calcário (camada de superfície $AH_{CC(S)}$ e camada de profundidade $AH_{CC(P)}$); e, referência (camada de superfície $AH_{Ref(S)}$ e camada de profundidade $AH_{Ref(P)}$).



Fonte: A autora.

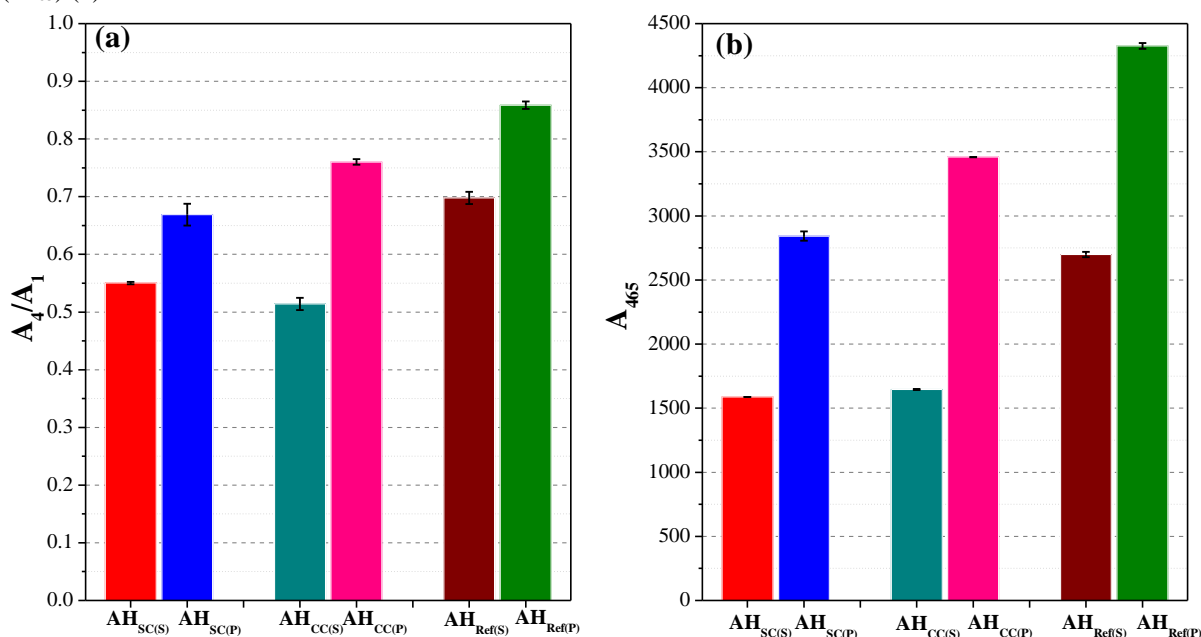
O estudo dos AHs, baseado em espectroscopia de fluorescência, além de apresentar uma facilidade e simplicidade funcional no preparo das amostras, possibilita o entendimento de vários parâmetros associados a sua estrutura química (SENESI et al., 1999). Para este estudo, os espectros dos AHs extraídos dos solos (Figura 2.6), apresentaram em cada grupo de λ_{ex} mesmo aspecto, pois todos os solos são da mesma origem. A diferença encontrada foi somente quanto a intensidade de fluorescência. Para ambos os casos, os AHs extraídos do solo em superfície foram menos intensos, e os extraídos da profundidade tiveram intensidade maior, sendo que, a amostra de $AH_{Ref(P)}$ foi a que apresentou maior intensidade nos dois casos, seguidos das amostras $AH_{CC(P)}$ e $AH_{SC(P)}$, respectivamente.

A intensidade do espectro de fluorescência está associada aos grupos fluoróforos. Segundo Miano e Senesi (1992) "os fluoróforos mais eficientes em polímeros húmicos são indicados como sendo vários anéis aromáticos condensados, e / ou altamente insaturados de cadeias alifáticas". Diante disto, o comportamento dos espectros de AHs extraídos de solos em profundidade pode estar associado a presença de mais grupos fluoróforos, e consequentemente um maior grau de humificação, como já havia sido evidenciado por meio da razão E_4/E_6 (Tabela 2.3).

Os espectros de emissão com λ_{ex} em 240 nm (Figura 2.6(a)) exibem suas bandas centradas em torno de 500 nm, similar ao grupo de λ_{ex} em 465 nm (Figura 2.6(b)) que apresentam-se em torno de 510 nm. O conjunto de espectros com λ_{ex} em 465 nm (Figura 2.6(b)) apresentou a relação sinal ruído qualitativamente melhor do que o conjunto de espectros com λ_{ex} em 240 nm (Figura 2.6(a)). Isto por que, a utilização de λ_{ex} em 240 nm é capaz de excitar várias estruturas, aromáticas e alifáticas, enquanto que λ_{ex} em 465 nm restringe esta excitação apenas a estruturas aromáticas, deixando a relação sinal ruído melhor (MILORI et al., 2002).

O principal objetivo da realização da espectroscopia de fluorescência foi calcular o grau de humificação dos AHs extraídas das amostras de solo. Os cálculos basearam-se nas metodologias propostas por Zsolnay et al. (1999) (A_4/A_1) e Milori et al. (2002) (A_{465}) e estão expostos, juntamente com o desvio padrão, em forma de um diagrama comparativo na Figura 2.7.

Figura 2.7- Diagrama representativo dos índices de humificação para os AHs extraídos dos solos sem e com adição de calcário e referência, obtidos pelos métodos de Zsolnay et al. (1999) (A_4/A_1) (a) e Milori et al. (2002) (A_{465}) (b).



Fonte: A Autora.

Os índices A_4/A_1 , variam de 0,51 a 0,86, referentes aos AH_{CC(S)} e AH_{Ref(P)} respectivamente. Já para o índice A_{465} , os valores variam de 1587,60 a 4326,30 referentes aos AH_{SC(S)} e AH_{Ref(P)} respectivamente. Estes valores demonstram novamente o que foi avaliado nas intensidades dos espectros. Todavia, ao direcionar a avaliação somente aos AH extraídos dos solos com e sem adição de calcário, é possível verificar que para o índice A_4/A_1 , as frações menos e mais humificada são, respectivamente, o AH_{CC(S)} (com valor de 0,51) e AH_{CC(P)} (com valor de 0,76). Estes valores estão corroborando com os valores dos índices E_4/E_6 (Tabela 2.4) que também demonstraram ser estas as frações menos e mais humificada, indicando uma influência do calcário no processo de humificação.

Continuando esta avaliação, agora para o índice A_{465} , os valores para as frações menos e mais humificada são, respectivamente, o AH_{SC(S)} (com valor de 1587,60) e AH_{CC(P)} (com valor de 3458,60), novamente indicando que a adição de calcário pode ter influenciado no aumento da humificação.

Os índices de humificação da referência são maiores devido a mudança de aporte de matéria orgânica, que neste caso deve ser oriundo de dejetos animais, pois segundo Auler (2014) sobre este solo ocorre lotação de animais. Diferente dos solos sem e com adição de calcário que o sistema de manejo adotado é o plantio direto e, com isto, o aporte de matéria orgânica é oriundo da decomposição vegetal.

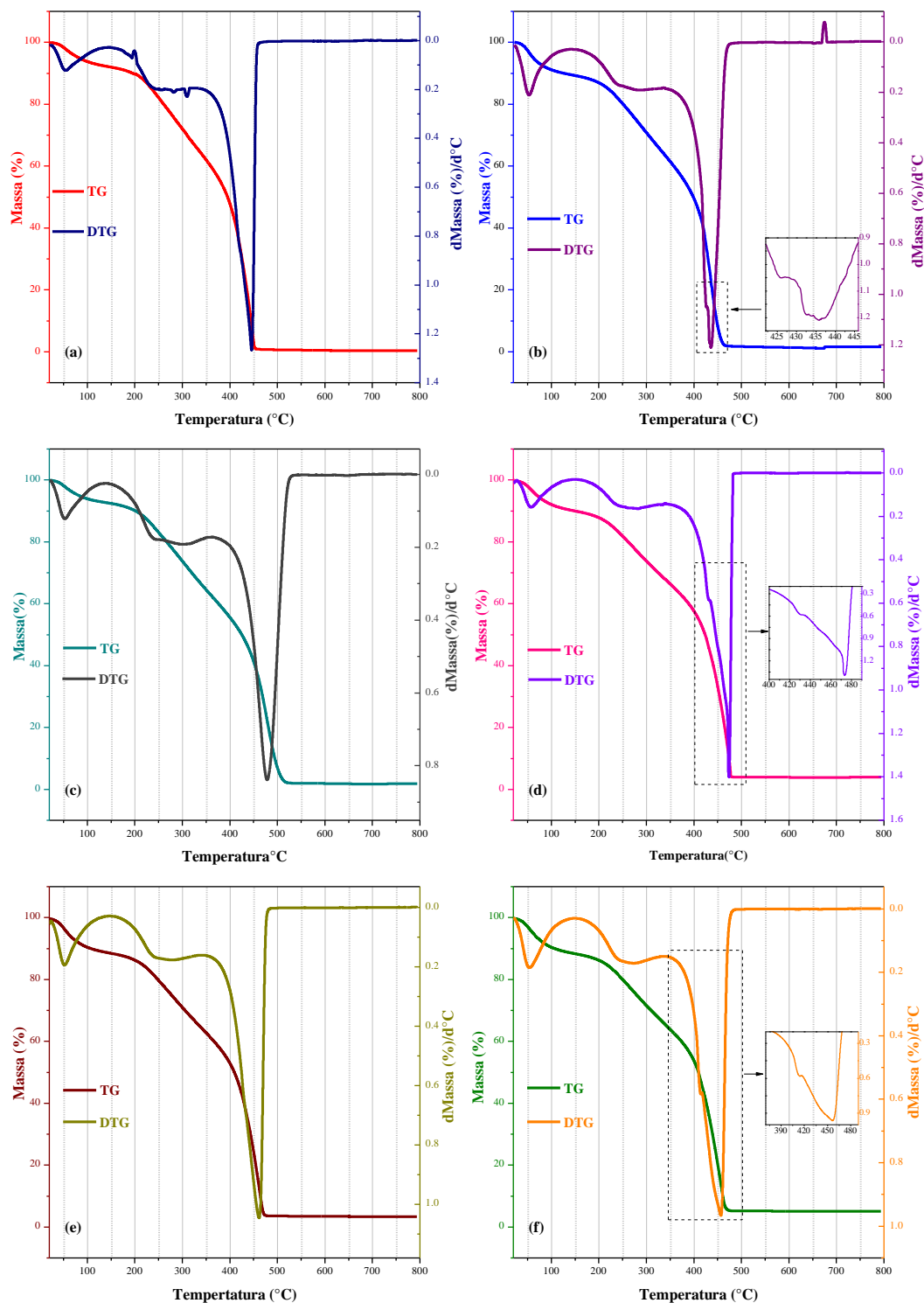
Para os resultados dos dois métodos, Milori e Zsolnay, são observados a mesma tendência com relação ao grau de humificação: AH extraídos da profundidade (10-20 cm) possuem maior grau de humificação. De maneira que, também para os dois métodos, o AH extraído do solo com adição de calcário em profundidade mostrou-se com um índice de humificação maior. Tanto que, quando calculado por A_{465} , apresentou valores que caracterizam um alto teor de condensação de estruturas aromáticas, o que demonstra uma aceleração do processo de humificação quando comparado com AH encontrado em profundidade de solo sem a adição de calcário. Ainda neste mesmo contexto, os AH extraído do solo com adição de calcário em superfície, apresenta-se com menor índice de humificação, em relação ao AH de solo sem adição de calcário. Isto sugere novamente que a calagem provoca algum efeito, tanto na disponibilidade de matéria orgânica pouco humificada em superfície, quanto na aceleração do processo de humificação.

Os valores encontrados para os dois índices estão em concordância com os valores da literatura (MILORI et al., 2002; CUNHA et al., 2009; SIGNOR et al., 2016; FUENTES, 2016).

2.3.2.6 *Análises Térmicas*

As curvas termogravimétricas e suas respectivas derivadas, dos AHs extraídos dos solos em estudo estão apresentadas nas Figura 2.8. Os termogramas de todos os AH apresentam três fases de termodegradação, sendo a primeira de 20 a 150 °C, a segunda de 150 a 350°C e a terceira e, mais proeminente, em 350 a 600°C. A visualização dessas fases foi facilitada com auxílio da curva da primeira derivada dos termogramas (DTG). Para muitos autores, a principal reação característica da primeira fase de termodegradação (20 a 150 °C) é a desidratação, os valores de perda para esta fase, estão indicados na Tabela 2.4 como umidade. A segunda fase (150 a 350°C) é atribuída a eliminação de estruturas alifáticas, grupos funcionais e peptídicos. Por fim, em temperaturas superiores (350 a 600°C) ocorre a termodegradação de estruturas aromáticas (SHURYGINA et al., 1971; BENITES et al., 2005; CUNHA et al. 2007; GIOVANELA, 2010; PURMALIS, PORSNOVS e KLAIVINS, 2011 ; SANTOS et al., 2018).

Figura 2.8- Curvas de TG e DTG das amostras de ácido húmico extraídas do solo sem aplicação de calcário na camada de superfície (a) e profundidade (b); Ácido húmico extraído do solo com aplicação de calcário na camada de superfície (c) e profundidade (d); Ácido húmico extraído do solo de referência na camada de superfície (e) e profundidade (f). O zoom da região pontilhada, nos gráficos (b), (d) e (f) mostra as duas etapas de perda de massa no terceiro evento térmico.



Fonte: A autora.

Os gráficos representados por (b), (d) e (f) na Figura 2.8, são referentes às amostras de AHs extraídos da camada de profundidade dos solos. Estes mostram perda de massa no terceiro

evento dividida em duas etapas. Possivelmente é devido a presença de dois grupos de distribuição de estruturas aromáticas, um mais disperso, em temperaturas menores, outro mais policondensado, em temperaturas maiores.

A perda de massa no terceiro evento, foi em média de 61 % e a para o segundo evento foi de 21 %, resultando em uma relação média de 2.9. Esta relação foi denominada por Benites et al. (2005), por índice termogravimétrico (ITG), que representa a resistência da amostra a termodegradação. A Tabela 2.5 apresenta as perdas de massa para cada evento, bem como os valores de ITG para cada AH.

Tabela 2.5- Resultado da Análise termogravimétrica de ácidos húmicos extraídos de solos: sem adição de calcário na camada de superfície (AH_{SC(S)}) e profundidade (AH_{SC(P)}); com adição de calcário na camada da superfície (AH_{CC(S)}) e profundidade (AH_{CC(P)}); e, solos de referência na superfície (AH_{Ref(S)}) e profundidade (AH_{Ref(P)}).

Amostra	Teor de Cinza -----%-----	Umidade	Perda de Massa (%)		ITG
			150 -350 °C	350–600°C	
AH _{SC(S)}	0,39	2,24	35,74	53,68	1,50
AH _{SC(P)}	1,60	3,30	24,12	49,46	2,05
AH _{CC(S)}	1,83	2,17	24,64	50,99	2,07
AH _{CC(P)}	3,92	3,15	20,17	66,14	3,28
AH _{Ref(S)}	3,39	3,80	20,62	62,75	3,04
AH _{Ref(P)}	5,05	3,67	20,31	62,17	3,06

Fonte: A autora.

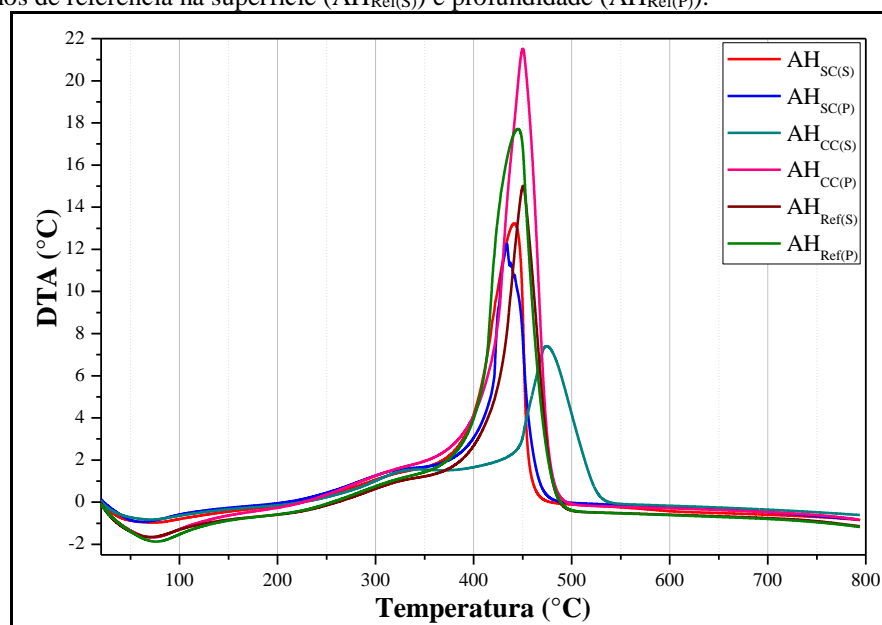
Os valores de ITG sugerem uma forte resistência à decomposição química dos AHs extraídos das camadas de profundidade, confirmando os dados obtidos pela razão E₄/E₆ (Tabela 2.4) e os índices de humificação obtidos pela técnica de fluorescência na região do visível (Figura 2.7) que haviam constatado um maior grau de aromaticidade na molécula dos AHs extraídos na camada de profundidade.

O resíduo após a estabilização da curva termogravimétrica, designado aqui por teor de cinza, apresentou valores entre 0.39 a 5.05 %, para AH_{SC(S)} e AH_{Ref(P)} respectivamente, revelando boa eficiência no processo de purificação das amostras. Quando comparado com os valores obtidos por calcinação em mufla (Tabela 2.2), os resultados não foram iguais, pois as metodologias para obtenção dos mesmos foram diferentes. Todavia, é possível verificar uma coerência nos valores, principalmente no reconhecimento das amostras que apresentaram o menor e maior teor de cinza, que para ambas as metodologias foram as mesmas.

As curvas de DTA, mostradas na Figura 2.9, apresentam na faixa de 20 a 200 °C, um ombro endotérmico de desidratação. No intervalo de 250 a 350 °C existe de um ombro exotérmico largo que diz respeito a perda de calor no processo de termodegradação de estruturas alifáticas (MESSIAS, 2004; PURMALIS, PORSNOVS e KLAVINS 2011). A amostra que apresentou este ombro exotérmico mais ressaltado foi o AH_{CC(S)}, corroborando com

identificação via razão E_4/E_6 (Tabela 2.4) e razão A_4/A_1 (Figura 2.7), como sendo a amostra que apresentou menor grau de humificação, por consequência maior quantidade de estruturas alifáticas em sua composição. Em contraste, esta mesma curva mostrou um leve deslocamento para temperaturas maiores, no pico exotérmico referente às estruturas aromáticas. Segundo Cunha (2007) isto demonstra maior resistência térmica, que pode estar associada a presença de grupos aromáticos mais policondensados.

Figura 2.9- Curvas de DTA de ácidos húmicos extraídos de solos sem adição de calcário na camada de superfície ($AH_{SC(S)}$) e profundidade ($AH_{SC(P)}$), com adição de calcário na camada da superfície ($AH_{CC(S)}$) e profundidade ($AH_{CC(P)}$) e solos de referência na superfície ($AH_{Ref(S)}$) e profundidade ($AH_{Ref(P)}$).



Fonte: A autora.

A maioria dos AHs, apresentam picos exotérmicos agudos. O que, segundo Voguel (2013), corresponde a reações químicas de natureza oxidativa, sendo para esta faixa de temperatura (350 a 600°C), perda de calor no processo de queima de estruturas aromáticas. Estes picos exotérmicos agudos estão próximos aos pontos de máxima perda de massa verificadas por DTG, o que confirma que as perdas máximas ocorrem por reações exotérmicas.

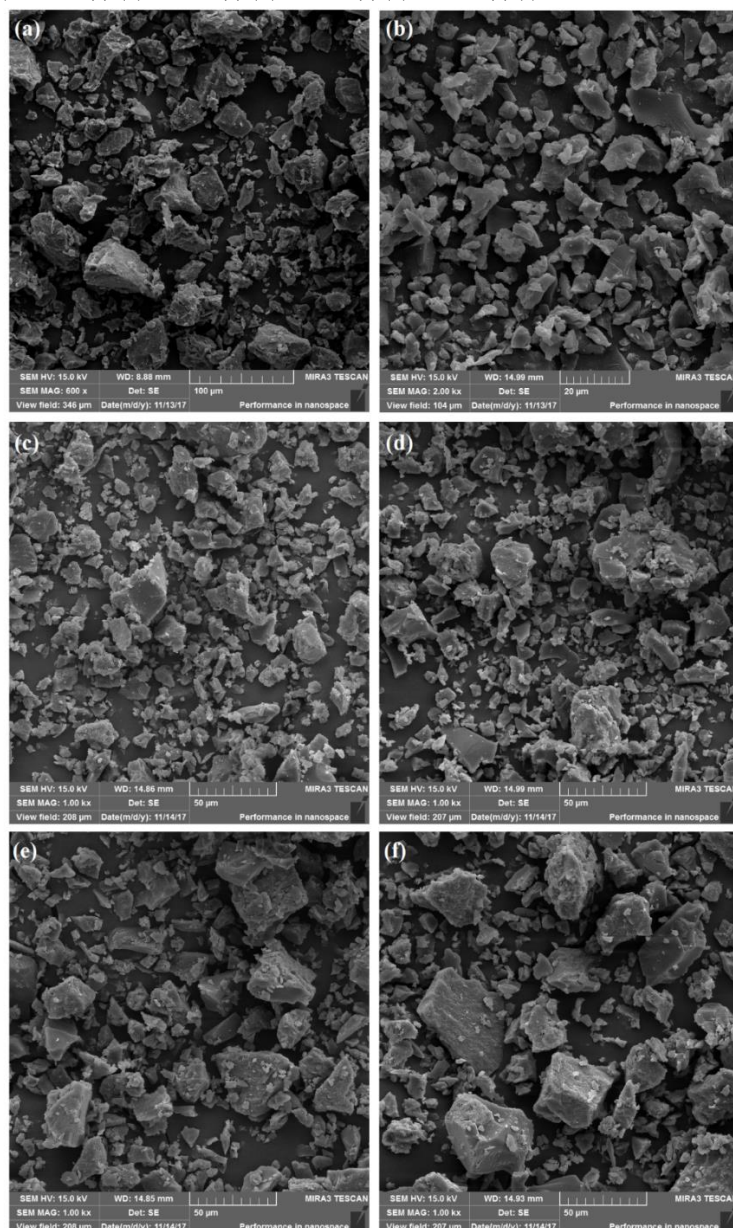
Efeitos endotérmicos e exotérmicos também foram observados por Purmalis, Porsnovs e Klavins (2011), ao analisar o caráter de decomposição térmica, dos ácidos húmicos extraídos de diferentes turfas.

2.3.2.7 Microscopia Eletrônica de Varredura com Canhão Eletrônico por Efeito de Campo

As características morfológicas dos materiais são ferramentas úteis para o entendimento das reações físico-químicas que os cercam. As micrografias dos AHs extraídos dos solos estão apresentadas nas Figuras 2.10, 2.11 e 2.12.

Por meio das micrografias que mostram uma visão geral (Figura 2.10), é possível verificar que não houve mudança significativa na morfologia dos AHs com relação à diferença de amostragem. Todas as amostras são formadas de aglomerados em microporções compactadas, com formas e tamanhos variados.

Figura 2.10- Micrografias, com baixo nível de ampliação, em escala varindo de 20 a 100 μm , das amostras de $\text{AH}_{\text{SC(S)}}$ (a), $\text{AH}_{\text{SC(P)}}$ (b), $\text{AH}_{\text{CC(S)}}$ (c), $\text{AH}_{\text{CC(P)}}$ (d), $\text{AH}_{\text{Ref(S)}}$ (e), $\text{AH}_{\text{Ref(P)}}$ (f).



Fonte: A autora.

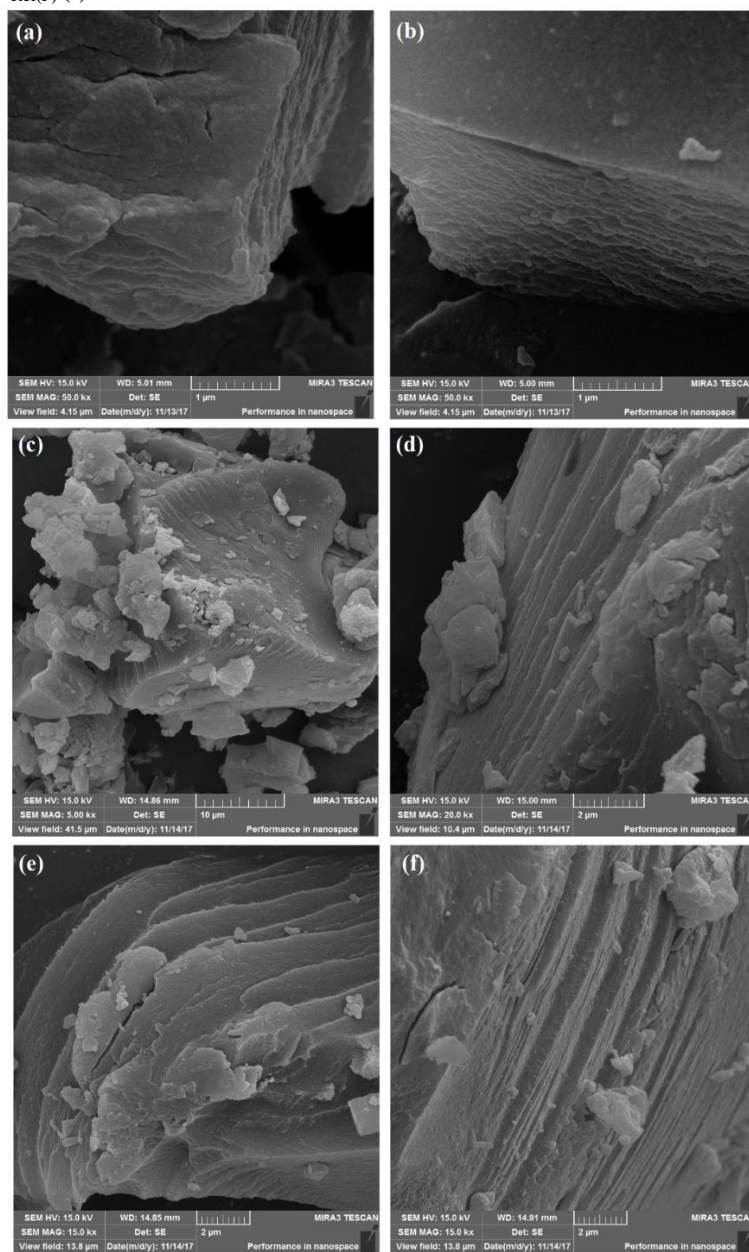
A morfologia de AHs descrita na literatura são geralmente dependentes do pH e das condições de preparação do mesmo (GIOVANELLA et al., 2010). Segundo Nègre et al. (2004) o processo de agregação, que leva a formação de microagregados, ocorre durante o processo de

liofilização, quando a eliminação de água aumenta a interação entre as macromoléculas húmicas.

Em um aspecto geral, a morfologia dos AHs estudados, é compatível com alguns estudos que utilizaram as mesmas condições de extração e secagem (NEGRÈ et al., 2004; GARCIA, 2016; GIOVANELLA et al., 2010; PRADO; PERTUSATTI e NUNES, 2011).

A Figura 2.11 apresenta as micrografias, com uma resolução de 1 a 10 μm , que evidenciam a morfologia dos microagregados dos AHs extraídos dos solos. Estes exibem estruturas compactadas com camadas em aspecto de finas folhas.

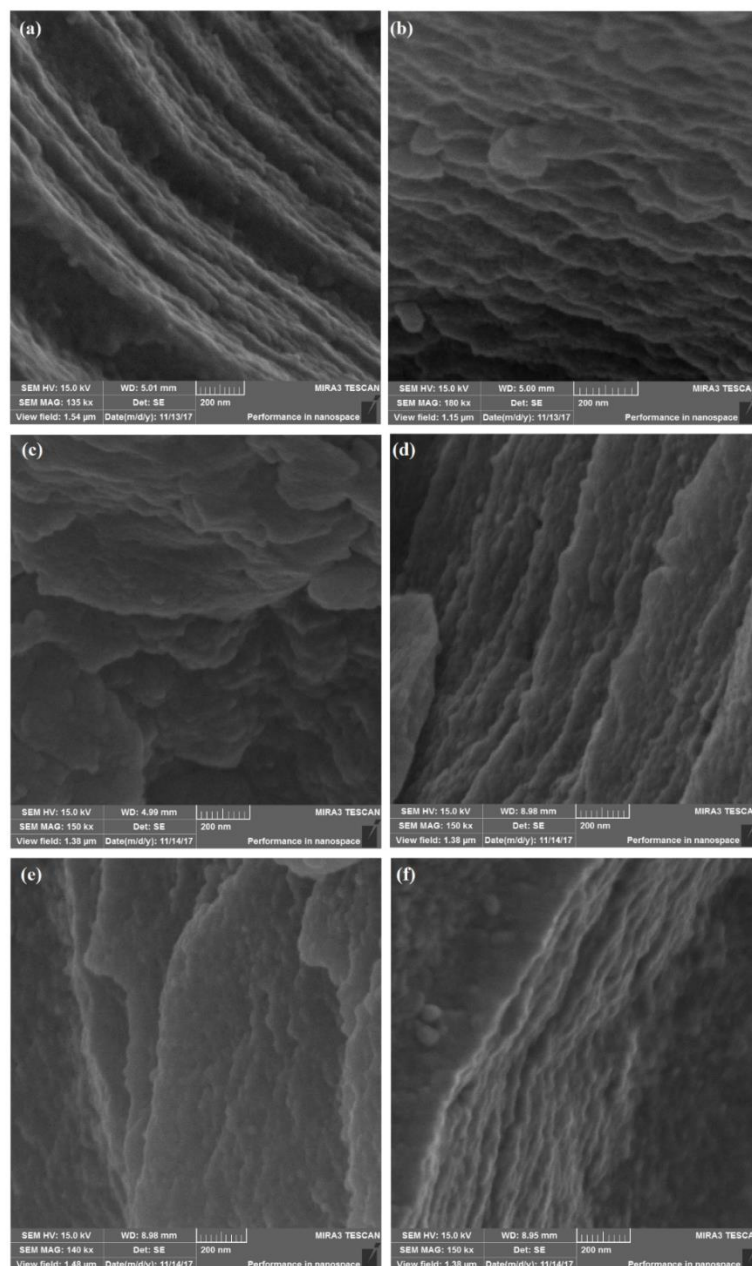
Figura 2.11- Micrografias, em escala de 1 a 10 μm , das amostras de $\text{AH}_{\text{SC(S)}}$ (a), $\text{AH}_{\text{SC(P)}}$ (b), $\text{AH}_{\text{CC(S)}}$ (c), $\text{AH}_{\text{CC(P)}}$ (d), $\text{AH}_{\text{Ref(S)}}$ (e) e $\text{AH}_{\text{Ref(P)}}$ (f).



Fonte: A autora.

Estas folhas ficam mais evidentes na Figura 2.12, revelando muitas estruturas com aspectos de esponjas, agregadas as interfaces dessas folhas.

Figura 2.12- Micrografias, na ordem de 200 nm, de AH_{SC(S)} (a), AH_{SC(P)} (b), AH_{CC(S)} (c), AH_{CC(P)} (d), AH_{Ref(S)} (e) e AH_{Ref(P)} (f).



Fonte: A autora.

Xing et al. (2017), propuseram em seu trabalho uma metodologia de síntese de óxido de grafeno a partir de ácido húmico. Por MEV, foi possível avaliar a morfologia deste material, que apresentou uma estrutura em forma de finas folhas. Além disso, eles também identificaram que as folhas de grafeno têm uma estrutura enrugada, semelhante ao observado nas micrografias expostas nas Figuras 2.11 e 2.12.

O mapeamento de Fluorescência de Raio X por Dispersão de Energia (EDS) das amostras de AHs extraídos de solos, mostrado na Tabela 2.6, indica a composição quantitativa de alguns elementos contidos na amostra.

Tabela 2.6- Quantificação Elemental por EDS das amostras ácidos húmicos extraídos de solos: sem adição de calcário na camada de superfície ($AH_{SC(S)}$) e profundidade ($AH_{SC(P)}$); com adição de calcário na camada da superfície ($AH_{CC(S)}$) e profundidade ($AH_{CC(P)}$); e, solos de referência na superfície ($AH_{Ref(S)}$) e profundidade ($AH_{Ref(P)}$).

Amostra	Elementos (%)	
	C	N
$AH_{SC(S)}$	59,8	3,3
$AH_{SC(P)}$	71,2	4,0
$AH_{CC(S)}$	74,1	0,8
$AH_{CC(P)}$	60,3	2,7
$AH_{Ref(S)}$	63,3	2,9
$AH_{Ref(P)}$	66,7	3,4

Fonte: A autora.

A quantificação de C e N, não apresentaram valores iguais aos encontrados pela análise de composição elemental realizada por WDXRF (Tabela 2.3), pois aqui, a análise é mais susceptível a erro devido a não utilização de calibração específica para este material e também, pois as análises foram feitas em uma região específica. Contudo, as indicações das amostras que apresentaram menor e maior quantidade de C para esta análise ($AH_{CC(S)}$ e $AH_{SC(S)}$, respectivamente), corroboraram com os resultados de WDXRF (Tabela 2.3).

2.4 CONCLUSÕES

A análise elemental revelou que para os AH_{sc} , a maior quantidade de C e N é proveniente da profundidade. Em contraste a isto, para AH_{cc} o maior percentual elemental está nas frações extraídas da superfície. Isto pode estar relacionado a forte estimulação da atividade microbiana, devido ao aumento de pH.

A maioria das técnicas utilizadas neste trabalho, oferecem valores de índices, que relacionam intensidades referentes a estruturas alifáticas, ou de fácil termodegradação, com estruturas mais complexas, por exemplo cadeias aromáticas policondensadas. Para todos índices (E_4/E_6 , A_4/A_1 e ITG) e até mesmo para A_{465} , que é uma medida direta da área baixa curva da fluorescência das estruturas aromáticas, a amostra de $AH_{CC(P)}$ apresentou valores que classificam a molécula como sendo constituída de estruturas aromáticas mais policondensadas, dando a ela um caráter mais humificado em relação as demais. Demonstrando assim a influência do calcário na aceleração do processo de humificação de AHs. Já as amostras que apresentaram valores relacionados a menor humificação, foram $AH_{CC(S)}$ e $AH_{SC(S)}$. Sugerindo que na camada de superfície encontra-se a disponibilidade de material orgânico menos humificado.

As micrografias de MEV-FEG revelaram que todas as amostras são formadas de aglomerados em microporções, com formas e tamanhos variados, exibindo compactação de

camadas em aspecto de finas folhas. Também é possível verificar a existência de estruturas com aspecto esponjoso agregadas nas interfaces dessas folhas.

Referências

ABREU, C. H. J. et al. Métodos Analíticos Utilizados em Química do solo. In: MELO, V.F.; ALLEONI, F.R.L. **Química e Mineralogia do Solo**. Parte II- Aplicações. 1ed. Viçosa, MG: SBCS, 2009. cap. 11. p. 529-685, p. 685.

ALVAREZ-PUEBLA, R. A.; GARRIDO, J. J.; AROCA, R. F. Surface-enhanced vibrational microspectroscopy of fulvic acid micelles. **Analytical chemistry**, v. 76, n. 23, p. 7118-7125, 2004.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no Infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Ed. UFV: Viçosa, 2008. 189p.

BENITES, V. M. et al. Properties of black soil humic acids from high altitude rocky complexes in Brazil. **Geoderma**, 127: 104-113, Janeiro 2005.

CANELLAS, L. P. et al. Isolamento, purificação e métodos químicos de análise de substâncias húmicas. In: CANELLAS, L. P.; VELLOSO, A. C. X.; SANTOS, G. D. A. **Humosfera, tratado preliminar sobre a química das Substâncias húmicas**. Ed. Campos dos Goytacazes: Soropédica, 2005. cap. 1, p. 13-33, 309 p.

CANELLAS, L. P.; RUMJANEK, V. M. Espectroscopia na região do infravermelho. In: CANELLAS, L. P.; VELLOSO, A. C. X.; SANTOS, G. D. A. **Humosfera, tratado preliminar sobre a química das Substâncias húmicas**. Ed. Campos dos Goytacazes: Soropédica, 2005. cap. 6, p. 143-159, 309 p.

CARLETTI, P. et al. Structural characterization of humic-like substances with conventional and surface-enhanced spectroscopic techniques. **Journal of Molecular Structure**, v. 982, n. 1, p. 169-175, 2010.

CHEN, Y.; SENESI, N.; SCHNITZER, M. Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. **Soil Science Society of America**, v. 41, p. 352-358, 1977.

CUNHA, T. J. F. et al. Fracionamento químico da matéria orgânica e características de ácidos húmicos de solos com horizonte a antrópico da Amazônia (Terra preta). **Acta Amazônica**, v. 37, n. 1, p. 91-98, 2007.

CUNHA, T. J. F. et al. Ácidos húmicos em solo fertirrigado no vale do São Francisco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 1583 – 1592, 2009.

CUNHA, T. J. F. et al. Humifield fraction of organic matter due to plant mixture cultivation. **Revista Caatinga**, v. 29, p. 578-586, Setembro, 2016.

DOBBSS, L. B. et al. Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e fúlvicos isolados da camada superficial de latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n 1, p. 51-63, 2009.

DURAIA, E. M.; HENDERSON, B.; BEALL, G. W. Reduced humic acid nanosheets and its uses as nanofiller. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 85, p. 86-90, 2015.

FERRARI, A. C.; ROBERTSON, J. Interpretation of Raman spectra of disordered and amorphous carbon. **Physical review B**, v. 61, n. 20, p. 14095-14107, 2000.

FRANCIOSO, O. et al. Spectroscopic study (DRIFT, SERS and ^1H NMR) of peat, leonardite and lignite humic substances. **Journal of molecular structure**, v. 565, p. 481-485, 2001.

FUENTES, M. et al. New methodology to assess the quantity and quality of humic substances in organic materials and commercial products for agriculture. **Journal of Soils and Sediments**, p. 1-11, 2016.

GARCIA, A. C. et al. Structure-function relationship of vermicompost humic fractions for use in agriculture. **Journal of Soils and Sediments**, p. 1-11, 2016.

GIOVANELA, M. et al. Chemical and spectroscopic characterization of humic acids extracted from the bottom sediments of a Brazilian subtropical microbasin. **Journal of molecular structure**, v. 981, n. 1, p. 111-119, 2010.

HANKE, D.; DICK, D. P. Organic matter stocks and the interactions of humic substances with metals in araucária moist forest soil with humic and histic horizons. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 41:1-20, Julho, 2017.

INTERNATIONAL Humic Substance Society (IHSS). Disponível em : < <http://humic-substances.org/elemental-compositions-and-stable-isotopic-ratios-of-ihss-samples/>>. Acesso em 01 de Maio de 2017.

KREUTZER, K. Effects of forest liming on soil processes. **Plant and soil**, v. 168, n. 1, p. 447-470, 1995.

LOBO, A. O. et al. Caracterização de materiais carbonosos por espectroscopia Raman. **Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo**, v. 24, n. 2, p. 98-103, 2005.

MACCARTHY, P. The principles of humic substances. **Soil Science**. v. 166, n. 11, p. 738-751, novembro, 2001.

MARSCHNER, B.; WILCZYNSKI, A. W.. The effect of liming on quantity and chemical composition of soil organic matter in a pine forest in Berlin, Germany. **Plant and Soil**, v. 137, n. 2, p. 229-236, 1991

MARTIN-NETO, L. EPR, FTIR, Raman, UV-Visible absorption, and fluorescence spectroscopies in studies of NOM. In: SENESI, N.; XING, B.; HUANG, P. **Biophysico-chemical processes involving natural nonliving organic matter in environmental systems**. New Jersey -EUA: John Wiley & Sons, 2009, cap. 16, p. 651-728.

MCDONALDS, S. et al. Analytical chemistry of freshwater humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v 527, p. 105-124, 2004.

MELO, B. A. G.; MOTTA, F. L.; SANTANA, M. H. A. Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. **Materials Science and Engineering**, v. 62, p.967-974, 2016

MESSIAS, R. A. **Avaliação estrutural de ácidos húmicos de vermicompostos e tufas por diferentes técnicas de caracterização**. 2004, 134 f. Tese (Doutorado em Ciências -Química Analítica), Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos – SP, 2004.

MILORI, D. M. B. P. et al. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**, v. 167, n. 11, p. 739-749, 2002.

MUZYKA, R. et al. Oxidation of grafite by diferente modified Hummers methods. **New Carbon Materials**, v.32, n. 1, p. 15-20, 2017.

NÈGRE, M. et al. Characterization of model soil colloids by cryo-scanning électron microscopy. **Geoderma**, v.121, p.1-16, 2004.

PIGATIN, L. B. F.; NUNES, R. R.; REZENDE, M. O. O. Substâncias Húmicas. In: NUNES, R. R.; REZENDE, M. O. O. **Recurso solo: propriedades e usos**. 1 ed. São Carlos-SO: Editora Cubo, 2015. Cap. 10, p. 294-309, 808 p.

PRADO, A. G. S.; PERTUSATTI, J.; NUNES, A. R. Aspects of protonation and deprotonation of humic scid durface on molecular conformation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1478-1483, 2011

PURMALIS, O.; PORSNOVS, D.; KLAVINS, M.. Differential thermal analysis of peat and peat humic acids. **Scientific Journal of Riga Technical University**, v. 24, p. 89- 94, 2011.

RICE, J. A.; MACCARTHY, P.. Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances. **Organic Geochemistry**, v. 17, n. 5, p. 635-648, 1991.

ROTH, C. H.; WILCZYNSKI, W.; CASTRO-FILHO, C. Effect of tillage and liming on organic matter composition in a Rhodic Ferralsol from Southern Brazil. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 155, n. 3, p. 175-179, 1992.

SAAB, S. C.; MARTIN-NETO, L. Anéis aromáticos condensados e relação E4/E6: estudo de ácidos húmicos de Gleissolos por RMN de ¹³C no estado sólido utilizando a técnica CP/MAS desacoplamento defasado. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 260-263, 2007.

SANTOS, E. S. et al. Espectrometria de Fluorescência de Raios-X na Determinação de Espécies Químicas. **Enciclopédia Biofera**, v. 9, n. 17, p. 3413-3432, 2013.

SANTOS, A. M. P. et al. New Organomineral Complex from Humic Substances Extracted from Poultry Wastes: Synthesis, Characterization and Controlled Release Study. **J. Braz. Chem. Soc**, v. 29, n. 1, p. 140-150, 2018.

SEGNINI, A. **Estrutura e estabilidade da Matéria Orgânica em áreas com potencial de sequestro de carbono no solo**. 2007, 130 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciências-Química Analítica) – Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2007.

SENESI, N.; D'ORAZIO, V.; RICCA, G. Humic acids in the first generation of EUROSOLS. **Geoderma**, v.116, p. 325-344, 2003.

SHURYGINA, E. A. et al. Differential thermal analysis (DTA) and thermogravimetry (TG) of soil humus substances. **Geoderma**, v. 6, n. 3, p. 169-177, 1971.

SIGNOR, D. et al. Soil chemical attributes and organic matter quality in sugarcane harvest systems with and without burning. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 9, p. 1438-1448, 2016.

SILVERSTEIN, R. N.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação Espectroscópica de compostos orgânicos**. 5. Ed. São Paulo: Guanabara, 1994. 387 p.

SOARES, J. R. **Estudo de solos antropogênicos da Amazônia utilizando espectroscopia Raman**. 2011. 81 p. Dissertação (Mestrado em Física)- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

SOUZA, F.; BRAGANÇA, S. R.. Extraction and characterization of humic acid from coal for the application as dispersant of ceramic powders. **Journal of Materials Research and Technology**, 2017. No prelo.

STEVENSON, E. J. **Humus Chemistry: genesis, composition, reactions**. 2. Ed. New York: John Willey e Sons, 1994. 496 p.

SWIFT, R. S.. Organic matter characterization. In: Sparks, D. L. et al. **Methods of soil analysis: chemical methods**. Vol. 3. Soil Science Society of America; American Society of Agronomy, Madison, 1996. p. 1011-1020.

TADINI, A. M. et al. Soil organic matter in podzol horizons of the amazona region: humification, recalcitrance, and dating. **Science of the Total Environment**, v. 613-614, p. 160-167, Fevereiro de 2018. No prelo.

THIAGO, N. O. S. **Utilização de métodos espectroscópicos para a avaliação de ácidos húmicos extraídos de solos de diferentes sistemas produtivos de pastagem**. 2016, 109p. Dissertação (Mestrado em Ciências-Química)-Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo , 2016.

VOGUEL, A. I. **Análise química quantitativa**. 6 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2013, 488p.

XING, B. et al. Facile synthesis of graphene nanosheets from humic acid for supercapacitors. **Fuel Processing Technology**, v. 165, p. 112-122, 2017.

YUNUS, N. Z. M.; WANATOWSKI, D.; STACE, L. R. Effect of humic acid on physical and engineering properties of lime-treated organic clay. **Engineering and Technology**, v. 59, n. 201, p. 1, 2011.

ZSOLNAY, A. et al. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. **Chemosphere**, v. 38, n. 1, p. 45-50, 1999.

3 CARACTERIZAÇÃO QUANTITATIVA E QUALITATIVA DA GRANULOMETRIA DE UM CAMBISSOLO HÁPLICO Alumínico

Resumo

O estudo da granulometria é fator inicial a ser considerado em qualquer estudo relacionado a solos, pois tem papel fundamental nos índices físicos e químicos. Este estudo teve como objetivo caracterizar quantitativamente e qualitativamente as frações granulométricas de um solo, obtidas pelo método de peneiramento e sedimentação. As técnicas de Espalhamento Dinâmico da Luz (Dynamic Light Scattering - DLS), Infravermelho (IV) e Microscopia Eletrônica de Varredura com Canhão Eletrônico por Efeito de Campo (MEV-FEG) foram utilizadas para este fim. Os resultados quantitativos demonstraram que este solo possui uma porcentagem alta de argila, seguida da fração areia fina, fração silte e, por fim, a fração areia grossa. As análises de IV, detectaram estados vibraçóais característicos de minerais como caulinita, haloisita, gibbsita e quartzo. A análise de MEV-FEG, demonstrou a predominância de estruturas pseudo hexagonais, típicas do mineral caulinita e, em menor quantidade, estruturas com morfologia em formato de agulhas filamentosas, podendo ser atribuídas a illita e/ou haloisita. Os resultados obtidos por DLS, para avaliação da qualidade do fracionamento granulométrico da argila, qualifica esta técnica como um novo procedimento para avaliação da qualidade do fracionamento granulométrico da fração argila.

Palavras-Chaves: Fracionamento Granulométrico. Argila. DLS. MEV-FEG. IV.

3.1 INTRODUÇÃO

A granulometria consiste na quantificação (em porcentagem) dos grupos de partículas, classificadas por tamanho, do solo. Seu estudo está diretamente ligado a atribuição de classes texturais que, ressaltando sua grande importância, tem papel fundamental nos índices físicos e químicos do solo, tais como densidade, porosidade, fluxo de água e ar e composição química. Além disso, conhecer e caracterizar as frações granulométricas do solo, é a primeira e mais valiosa informação obtida, pois é porta de entrada para muitas outras conclusões a respeito do solo.

As frações granulométricas são descritas através de suas classes de tamanhos, com base na escala de classificação de partículas USDA (Figura 1.3, página 21), dividindo-se em:

partículas de areia, compreendidas entre os diâmetros de 53 a 2000 μm , são constituídas principalmente de quartzo (SiO_2) ou outros minerais primários; partículas de silte, classe de tamanho de 2 a 53 μm , são bastante semelhantes a partículas de areia tanto na forma quanto na composição, porém possuem diâmetro bem menor; e, argila, partículas do solo menores que 2 μm , que devido ao seu formato e tamanho, são altamente reativas constituídos principalmente de material silicatado cristalino ou não, óxidos de ferro e alumínio e material orgânico (EMBRAPA, 2012; BRANDY e WEIL, 2013).

Por se tratar de uma técnica relativamente simples e de fácil acesso em laboratórios, a espectroscópica no Infravermelho (IV) é usualmente utilizada na caracterização mineral e orgânica das frações granulométricas do solo. Brinatti et al. (2010), em um estudo de caracterização mineralógica das frações granulométricas de um solo altamente intemperizado, utilizou a técnica de infravermelho, de forma auxiliar, para a comprovação da eficácia da utilização da técnica de difração de raios X usando o método de Rietveld.

Para caracterização individual das frações granulométricas, inicialmente é necessário separá-las. O procedimento para tal objetivo, consiste na utilização de energia física e química para romper os agregados do solo e individualizar as partículas minerais. Normalmente, os métodos de fracionamento granulométrico, são baseados em duas etapas: a separação das partículas maiores (areia grossa) é feita por peneiramento e a separação das demais frações é realizada por sedimentação em água (EMBRAPA, 2012). Posteriormente, alíquotas de cada classe de partícula, são retiradas da solução, secas em estufa e pesadas para então realizar a quantificação de cada fração no solo.

A realização deste procedimento experimental, baseado na dispersão e na sedimentação de partículas de diferentes tamanhos, é muitas vezes sujeito a erro. Já que a dispersão de agregados de tamanhos menores pode ser difícil, bem como a contaminação entre diferentes tamanhos de partículas devido a considerações errôneas de parâmetros no momento do cálculo do tempo de sedimentação.

Uma outra forma de determinar a granulometria do solo que vem chamando bastante atenção, devido a sua praticidade, é a utilização de granulômetro a laser, que apesar de não haver procedimentos normativos para este ensaio, alguns pesquisadores utilizam esta técnica por possuir resultados superiores em termos de confiabilidade, precisão, reprodutibilidade e rapidez de análise (PRADO e CAMPOS, 2009; RIBEIRO, ANGELIM e GUIMARÃES, 2014; OLIVEIRA et al., 2016). A técnica baseia-se no cálculo do tamanho das partículas por meio de um padrão de espalhamento de luz, gerado devido a interação desta com partículas dispersas na

amostra. Em outras áreas esta técnica é conhecida com Espalhamento Dinâmico da Luz (Dynamic Light Scattering - DLS), ou DLS.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar qualitativamente as frações granulométricas de um solo, obtidas pelo método de peneiramento/sedimentação. A técnica de DLS serviu para avaliar a confiabilidade do método de fracionamento físico por sedimentação do solo. Já a técnicas de IV, auxiliou na determinação de grupos orgânicos e inorgânicos contidos no solo e em suas frações individuais. E, por fim, o MEV-FEG foi realizado com o objetivo de avaliar a morfologia da fração argila.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Amostragem

As amostras utilizadas para o procedimento de fracionamento físico são oriundas do solo de Referência descrito no item 2.2.1 deste trabalho.

3.2.2 Fracionamento Físico

O fracionamento físico do solo foi realizado com objetivo de separar cada fração granulométrica do solo. Este procedimento baseou-se na classificação de diâmetro de partículas do USDA, diferenciando-se apenas na transição entre areia fina e areia grossa (53 μm) (Tabela 3.1), pelo método da separação granulométrica, baseado nos procedimentos propostos por Christensen (1992) e EMBRAPA (2012).

Tabela 3.1- Tamanho das frações granulométricas do solo.

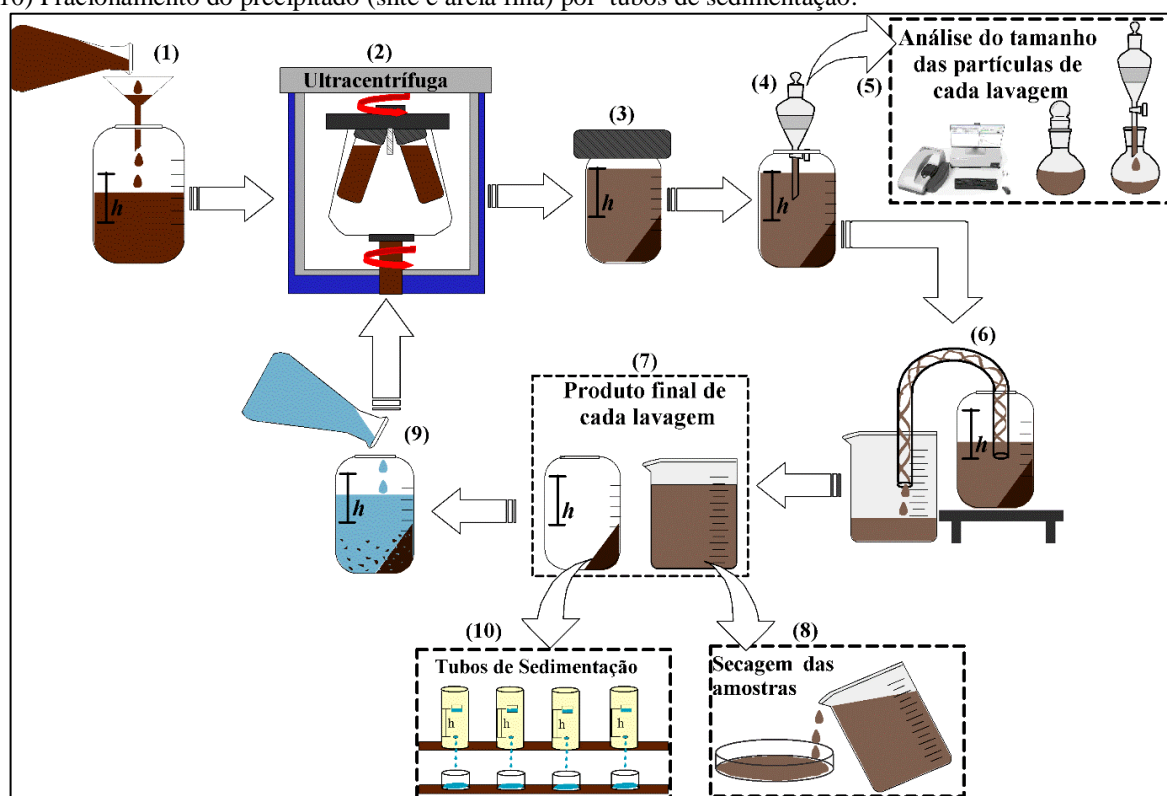
Fração	Limite de diâmetro das partículas (μm)
Argila	0 – 2
Silte	2 – 20
Areia Fina	20 -53
Areia Grossa	53 - 2000

Fonte: Adaptado de IBGE (p. 71, 2015).

Inicialmente, para a separação da fração areia grossa, 20 g de TFSA foi misturada em 10 mL da solução dispersante de NaOH (na concentração de 1 mol.L⁻¹) e 200 mL de água destilada. Esta mistura permaneceu em repouso por 24 horas para a ação do dispersante. Em seguida, foram submetidas ao processo físico de dispersão, recebendo tratamento ultrassônico com o equipamento *Vibra-Cell* (da Sonic) com potência média de 20 W e tempo de 1 hora. Como este procedimento causa aumento da temperatura da amostra, a mistura permaneceu em

banho de gelo. Com a finalidade de separar a fração areia grossa, agora já desagregada do restante, a mistura foi peneirada em malha de 53 μm , com auxílio de um borrifador com água destilada. A fração areia grossa, retida na peneira, foi transferida para placas de *Petri* e secas em estufa a 40 °C. A suspensão que passou pela peneira, composta da fração argila, silte e areia fina, foi colocada em diversos tubos de centrifugação, para proceder com o de fracionamento por sedimentação, mostrado na Figura 3.1.

Figura 3.1- Metodologia de fracionamento físico do solo: (1) A suspensão contendo argila, silte e areia fina é colocada em tubos para centrifugação; (2) Ultracentrifugação; (3) Precipitação das partículas maiores (silte, areia fina), sobrenadante contendo argila em suspensão; (4) Retirada de alíquota do sobrenadante; (5) Análise DLS do sobrenadante; (6) Remoção do sobrenadante por sifonação; (7) Obtenção do produto final; (8) Secagem da suspensão contendo argila; (9) Ressuspensão do precipitado, com o intuito de remover qualquer resquício de argila; (10) Fracionamento do precipitado (silte e areia fina) por tubos de sedimentação.



Fonte: A Autora

A suspensão contendo argila, silte e areia fina é colocada em tubos para centrifugação (Figura 3.1- passo 1) e levada para o processo de sedimentação acelerada, com a utilização de ultracentrífuga (Figura 3.1- passo 2).

Este procedimento é baseado na lei de Stokes, que permite determinar o tempo (t) de sedimentação de uma partícula, no interior de um líquido, com um certo diâmetro (D) que está a uma determinada altura (h):

$$t = 18 \cdot \frac{h\eta}{gD_p^2(\rho_p - \rho_l)}, \quad (6)$$

onde η é a viscosidade da água, um valor tabelado que depende da temperatura (TANNER e JACKSON, 1947), g é a aceleração da gravidade (978 cm/s^2) o ρ_p e ρ_l são as densidades da partícula e do líquido. O valor para ρ_p do solo em estudo foi encontrado pelo método do Picnômetro por Ferreira et al. (2017). O fracionamento da argila foi realizado com a utilização de ultracentrífuga, para que fosse possível alteração do valor de g . Para este procedimento foi utilizado $200 \cdot g$, que resultou em um valor para t muito menor do que se somente g estivesse atuando sobre a amostra.

Após o processo de centrifugação, ocorre a precipitação das partículas maiores (silte, areia fina) e as partículas de argila ficam em suspensão no sobrenadante (Figura 3.1- passo 3). Uma alíquota do sobrenadante é retirada (Figura 3.1- passo 4) para análise do tamanho das partículas (Figura 3.1- passo 5), o restante do sobrenadante foi removido dos tubos por sifonação (Figura 3.1- passo 6) e o produto final de cada lavagem (Figura 3.1- passo 7) é uma suspensão contendo argila e o precipitado contendo silte e areia fina. A suspensão é encaminhada para secagem da argila em estufa a 40°C (Figura 3.1- passo 8), enquanto que o precipitado é novamente ressuspenso com água destilada (Figura 3.1- passo 9), para retirar qualquer resquício de argila que possa ter sedimentado juntamente com as demais frações. A nova solução é encaminhada novamente para a ultracentrífuga (Figura 3.1- passo 2), repetindo o procedimento de sedimentação. Este processo é realizado 6 vezes para que o máximo da fração argila seja removida das demais frações. Por fim, o precipitado contendo silte e areia fina, é encaminhado para os tubos de sedimentação para separação destas frações (Figura 3.1- passo 10).

O fracionamento nos tubos segue o mesmo processo de cálculo do tempo de sedimentação pela Lei de Stokes, todavia, para este caso é utilizado somente o valor de g (978 cm/s^2) e o valor do diâmetro da maior fração, neste caso areia fina. Os tubos de sedimentação são preenchidos com o precipitado, proveniente dos tubos de ultracentrifugação, diluído em água destilada, até uma altura h fixa. Esta mistura é agitada durante um minuto e após permanece em repouso pelo tempo calculado através da Lei de Stokes. Passado o tempo t , uma alíquota de aproximadamente 100 mL é retirada, referente a suspensão contendo a fração silte. Para este procedimento, foram realizados ao todo 30 lavagens. Este valor foi estipulado mediante ao momento em que a água do sobrenadante coletado estava limpa.

A fração sedimentada, que se manteve nos tubos, é a areia fina. Todas as amostras foram secas em estufa a temperatura de 40 °C. A massa de cada fração foi obtida em balança analítica.

O procedimento de fracionamento físico foi repetido 15 vezes para cada camada do solo (superfície e profundidade), com o objetivo de fracionar a quantidade suficiente para realização do fracionamento químico da matéria orgânica, abordado no capítulo 4 deste trabalho.

O procedimento de ultracentrifugação foi realizado com ultracentrífuga refrigerada *Himac CR21GII* da marca *Hitachi*, do Complexo de Laboratórios Multiusuário da Universidade Estadual de Ponta Grossa (C-Labmu/UEPG).

Os demais procedimentos foram realizados no Laboratório de Pesquisa em Física Aplicada a Solos e Ciências Ambientais (FASCA), do Departamento de Física da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

3.2.3 Caracterização

3.2.3.1 *Análise de Espalhamento Dinâmico da Luz*

A análise de espalhamento dinâmico da luz (DLS) é uma técnica embasada no conceito de movimento Browniano das partículas, onde o choque entre moléculas em um fluído provoca o movimento aleatório das partículas. Este movimento faz com que o feixe de luz disperse e varie com o tempo (BHATTACHARJEE, 2016). Esta variação da dispersão da luz com o tempo, forma padrões de dispersão, que teoricamente, para uma única partícula esférica, seria faixas concêntricas claras e escuras que diminuem a intensidade com o aumento da posição radial. A medida em que esta partícula se movimenta, os padrões de dispersão são registrados, e um coeficiente de difusão (D) é calculado. Dessa forma, conhecendo a temperatura e a viscosidade do meio, o software do equipamento calcula o tamanho das partículas baseado na equação de Stokes- Einstein:

$$r_h = \frac{k_B T}{6\pi\eta D}, \quad (7)$$

onde r_h é o raio hidrodinâmico da partícula, k_B é a constante de Boltzmann ($1,38 \times 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$), T é a temperatura do meio, η é a viscosidade do meio e D é o coeficiente de difusão (BRAR e VERMA, 2011). É importante frisar que algoritmos matemáticos utilizados pelos softwares dos equipamentos de DLS, utilizam de outros parâmetros mais complexos combinados a equação de Stokes-Einstein. A definição apresentada anteriormente, expressa de forma simplificada o conceito físico que propicia a técnica de DLS.

A análise de DLS para obtenção do tamanho das partículas de argila, foi realizada com cerca de 10 µL do sobrenadante de cada lavagem contendo argila, misturado 50 mL de água destilada. Esta suspensão permaneceu em ultrassom de banho por 20 minutos, para que houvesse a dispersão das partículas de argila. Logo em seguida, a suspensão foi colocada em cubetas de plástico e analisadas por um equipamento *Zetasizer Nano ZS90* da marca *Malvern*, com ângulo de espalhamento de 90 graus, no C-Labmu/UEPG.

Após as medidas, o equipamento obtém o diâmetro médio das partículas contidas na solução e fornece um gráfico gaussiano com a distribuição de tamanho e suas respectivas porcentagens.

3.2.3.2 *Infravermelho*

Para análise de espectroscopia de IV das amostras de TFSA e de suas frações granulométricas, foi utilizada a mesma metodologia descrita no tópico 2.2.4.2 deste trabalho. Contudo as amostras analisadas nesta abordagem são de TFSA, argila, silte e areia, oriundas da superfície (S) e profundidade (P).

3.2.3.3 *Microscopia Eletrônica de Varredura com Canhão Eletrônico por Efeito de Campo*

A análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura com canhão eletrônico por efeito de campo (MEV-FEG), das amostras da fração argila foi realizada conforme a metodologia já citada no tópico 2.2.4.7 deste trabalho.

3.3 RESULTADO E DISCUSSÕES

3.3.1 Fracionamento Físico

A tabela 3.2 mostra os valores, em porcentagem, dos teores das frações granulométricas, obtidas no procedimento do fracionamento físico por sedimentação.

Tabela 3.2- Teores de argila, silte e areia das camadas 0-10 cm (superfície) e de 10-20 cm (profundidade) do solo estudado.

Fração	Superfície	Profundidade
	----- % -----	----- % -----
Argila	50,6 ± 6,3	53,2 ± 4,0
Silte	17,8 ± 3,1	16,8 ± 1,7
Areia Fina	23,1 ± 2,8	22,5 ± 2,5

Areia Grossa	$8,4 \pm 0,9$	$7,4 \pm 0,5$
---------------------	---------------	---------------

Fonte: A autora.

Os valores revelam que, este solo apresenta em média, uma porcentagem alta de argila ($\approx 52\%$), seguida da fração areia fina ($\approx 23\%$), fração silte (≈ 17) e, por fim, a fração areia grossa ($\approx 8\%$). Por meio destes valores, também é possível verificar que a quantidade da fração argila aumentou com a profundidade, resultando em decréscimo das demais frações. Segundo Nguyen (2013), o acúmulo de argila em profundidade é bastante comum em solos sem cobertura, pois em contato com água, está formando uma solução bastante dispersa, que acarreta a facilidade do transporte por escoamento superficial.

3.3.2 Caracterização

3.3.2.1 Análise de Espalhamento Dinâmico da Luz

A utilização da técnica de DLS neste trabalho teve como objetivo avaliar a confiabilidade do método de fracionamento físico por sedimentação do solo, baseado na lei de Stokes, utilizando ultracentrifugação. A tabela 3.3 apresenta o diâmetro médio das partículas de argila, contidas em cada alíquota, das 6 lavagens realizada no fracionamento da argila, bem como os valores de polidispersividade da medida.

Tabela 3.3- Valores de diâmetro médio das argilas (A) contidas em cada lavagem (L) realizada no fracionamento granulométrico, das amostras provenientes da camada de superfície (S) e profundidade (P) do solo, juntamente com o índice de polidispersividade (PDI) de cada solução analisada.

Amostra	Diâmetro médio (μm)	PDI	Amostra	Diâmetro médio (μm)	PDI
A_S (L₁)	0.27	0.32	A_P (L₁)	0.67	0.32
A_S (L₂)	0.25	0.47	A_P (L₂)	0.66	0.34
A_S (L₃)	0.22	0.72	A_P (L₃)	0.59	0.57
A_S (L₄)	0.25	0.69	A_P (L₄)	0.46	0.59
A_S (L₅)	0.48	0.87	A_P (L₅)	0.43	0.49
A_S (L₆)	0.47	0.68	A_P (L₆)	0.48	0.73

Fonte: A autora.

Mediante aos dados apresentados na tabela 2.3, é possível certificar que a extração da fração argila foi bem-sucedida, com diâmetro médio das partículas variando, para argila extraída da camada da superfície 0.22 a 0.48 μm e em profundidade 0.43 a 0.67 μm . Esses valores estão de acordo com a literatura (KRETZSCHMAR, HOLTHOFF E STICHER, 1998; NGUYEN et al. 2013).

A utilização de DLS, é citada na literatura como uma técnica adequada para análise do diâmetro médio de argilas bem como o estudo da granulometria do solo. Contudo, a maioria de trabalhos que utilizaram tal técnica, tiveram como objetivo estudar a floculação ou coagulação

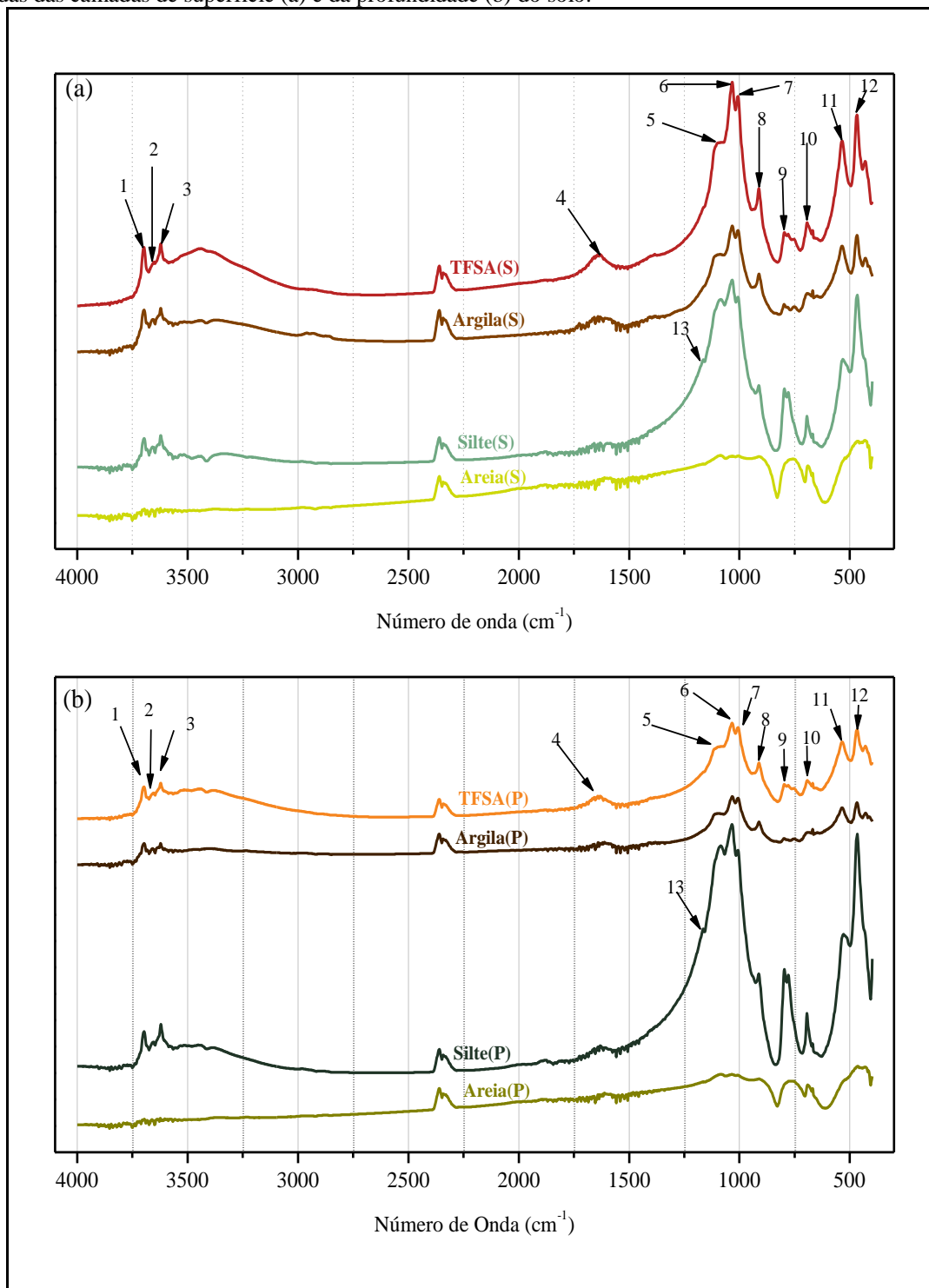
da argila em determinadas condições. Kretzschmar; Holthoff e Sticher (1998), em um estudo observaram, por DLS, que a adição de ácido húmico à suspensões contendo argila, resultam em aumento na estabilidade coloidal, diminuindo significativamente as taxas de coagulação da argila. Após medidas de mobilidade eletroforética, concluíram que o efeito do ácido húmico na estabilidade coloidal é puramente eletrostático.

O índice de polidispersividade (PDI) refere-se à intensidade de luz dispersa por diferentes tamanhos de partículas. Os valores de PDI < 0.1 são consideradas soluções monodispersas, ou seja, a partícula contida em solução tem praticamente o mesmo tamanho, valores de PDI entre 0.1 a 0.7 são considerados moderadamente polidispersos, sendo a faixa em que os algoritmos de distribuição, do software do equipamento utilizado, está ajustado. Por fim, valores > 0.7 são soluções muito polidispersas, ou seja, com partículas muito largas/grandes e de diferentes tamanhos (BHATTACHARJEE, 2016; BARRETO, 2014). Os valores de PDI das análises das argilas extraídas da camada de superfície, variaram de 0.32 a 0.87 e, para profundidade de 0.32 a 0.73, demonstrando que em média as solução se classificam como moderadamente polidispersas, de tal modo que os valores podem ser considerados confiáveis.

3.3.2.2 *Espectroscopia de Infravermelho*

Os espectros de IV das amostras de TFSA e de suas frações granulométricas do solo, estão apresentados na Figura 3.2. Os espectros foram divididos em dois gráficos, considerando a origem da camada do solo, superfície (S) ou profundidade(P).

Figura 3.2- Espectros de absorbância no Infravermelho das amostras de TFSA e de suas frações granulométricas, oriundas das camadas de superfície (a) e da profundidade (b) do solo.



Fonte: A autora.

As bandas de absorção no espectros foram representados por números, e estão identificados na Tabela 3.4, considerando suas atribuições orgânicas e inorgânicas. Para a identificação foram utilizados tabelas e dados da literatura (FERRARESI et al., 2012; DICK,

SANTOS e FERRANTI, 2003; FARMER e PALMIERI, 1975; CHUKANOV e CHERVONNYI, 2016; TIVET et al., 2013; FABRIS et al., 2009).

Tabela 3.4- Atribuições orgânicas e inorgânicas para as bandas indicadas nos espectros de infravermelho. As siglas indicam ν estiramento, ν_a estiramento assimétrico, τ estiramento fora do plano e δ vibrações angulares.

Picos	Número de onda (cm^{-1})	Atribuição Orgânica	Atribuição inorgânica
1	3697	-	$\nu\text{O-H}$ Caulinita
2	3655	-	$\nu\text{O-H}$ Caulinita
3	3620	-	$\nu\text{O-H}$ Caulinita e/ou $\nu\text{O-H}$ Gibbsita
4	1630	$\nu_a\text{C=O}$, $\nu\text{C=C}$, banda amida I	-
5	1090	$\nu\text{C-O}$ de polissacarídeos	$\nu\text{Si-O}$ em minerais de argila e/ou $\nu\text{Si-O-Si}$ no quartzo.
6	1033	$\nu\text{C-O}$ de polissacarídeos	$\nu\text{Si-O-Si}$ da Caulinita, νOH da Gibbsita.
7	1006	$\nu\text{C-C}$ aromático e /ou $\nu\text{C=S}$	$\nu\text{Si-O-Si}$ na caulinita
8	912	-	δOH interna da Caulinita e/ou Gibbsita
9	796	$\tau\text{C-H}$	νAl da Caulinita, Halosita e Gibbsita, Goethita, $\nu\text{Si-O}_2$ (quartzo)
10	694	-	$\nu\text{Si-O}$
11	536	-	νAl , δOH em Gibbsita ou Caulinita, $\delta\text{Si-O}$
12	468	-	$\delta\text{Si-O}$
13	1165	νSO_4^{2-}	-

Fonte: A autora.

Considerando as atribuições orgânicas, um ombro largo é formado na região de 3440 cm^{-1} , para os espectros das amostras de TFSA(S), TFSA(P) e Silte(P). Este ombro pode ser atribuído ao estiramento de NH livre ($\nu\text{N-H}$). A banda de 1630 cm^{-1} pode referir-se ao estiramento assimétrico de carboxilatos ($\nu_a\text{C=O}$), estiramento de C=C aromáticos, e ao estiramento dos grupos amidas (banda amida I). Os únicos espectros em que esta banda não está presente são das amostras Silte (S), Areia (S) e Areia (P), isto deve-se principalmente à pouca ocorrência de material orgânico humificado associado a estas frações.

Na região de 1090 cm^{-1} e 1033 cm^{-1} , é possível que haja um estiramento C-O ($\nu\text{C-O}$) de polissacarídeos. Também na região de 1006 cm^{-1} do espectro, pode haver um estiramento C-C aromático e /ou um estiramento C=S. A banda em 796 cm^{-1} atribui-se a deformações angulares CH fora do plano ($\tau\text{C-H}$). Por fim, no espectro da amostra Silte(S) e Silte (P), encontra-se uma banda bem pequena na região 1165 cm^{-1} , atribuída ao estiramento de sulfato (νSO_4^{2-}).

Na análise de atribuições inorgânicas para as bandas presentes nos espectros de absorção no IV, temos inicialmente as bandas em 3697 cm^{-1} e 3655 cm^{-1} as quais referem-se aos estiramentos OH ($\nu\text{O-H}$) internos e externos da Caulinita. Também em 3620 cm^{-1} , apresenta o estiramento OH ($\nu\text{O-H}$) internos da Caulinita e/ou da Gibbsita. Na banda de 1090 cm^{-1} ,

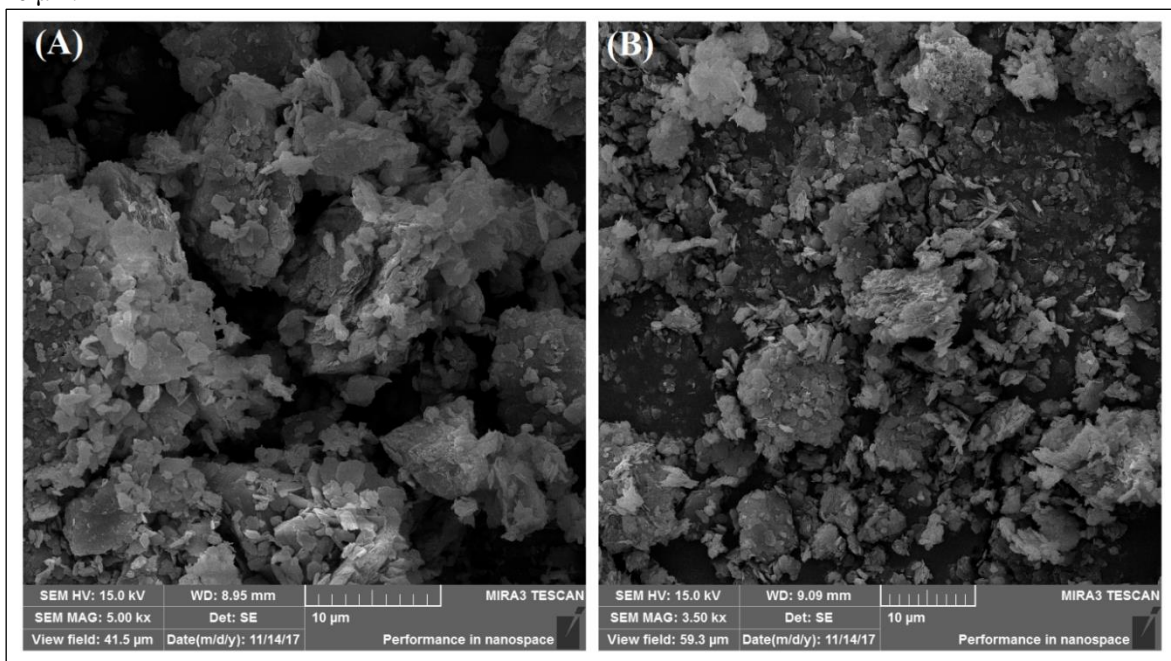
sobreposta a atribuições orgânicas, contém o estiramento de silicatos contidos em argila e /ou quartzo. A região que vai da banda 1033cm^{-1} até 536cm^{-1} , destacam-se a atribuições de vibrações de estiramento, angulares e no plano de materiais silicatados e grupos hidroxilo da Caulinita, Haloisita e/ou da Gibbsita. Destacando-se em 796 cm^{-1} e 536 cm^{-1} possíveis vibrações em torno de íons de Al da Caulinita, Haloisita e Gibbsita.

Nos espectros da fração areia predomina a absorção de Quartzo, como mostrado na Figura 3.2, não havendo nenhuma absorção de atribuição orgânica e de outros minerais.

3.3.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura com Canhão Eletrônico por Efeito de Campo

As micrografias de MEV-FEG da fração argilas estão apresentadas na figura 3.3, 3.4. e 3.5. Na figura 3.3 é apresentado as micrografias da fração argila provenientes da superfície (A) e da profundidade (B) de um CAMBISSOLO HÁPLICO Alumínico, mostrando uma visão geral, com escala em $10\text{ }\mu\text{m}$. Esta fração apresentam morfologia similares, para os dois casos, com partículas de tamanho variados, superfície irregulares e algumas formações de agregados com estruturas dispostas em camadas.

Figura 3.3- Micrografias da fração argila provenientes do solo de superfície (A) e profundidade (B), em escala de $10\text{ }\mu\text{m}$.

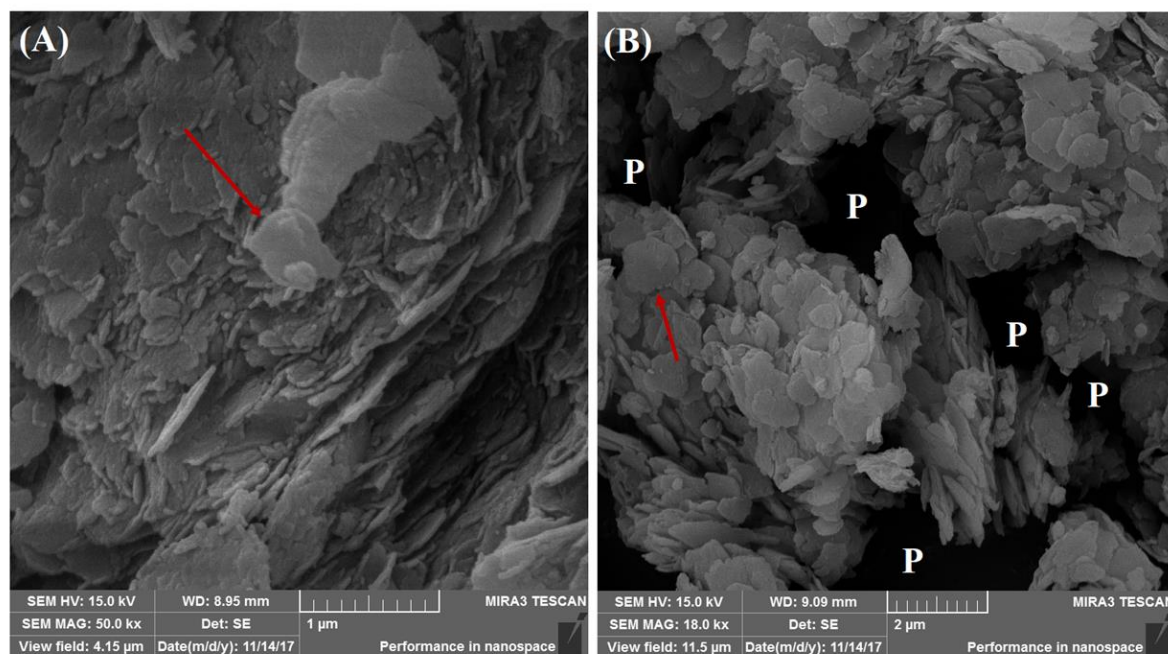


Fonte: A autora.

Em uma avaliação mais aproximada das micrografias (Figura 3.4), é possível verificar a predominância de estruturas laminares, com bordas irregulares e morfologia pseudo-hexagonal, podendo ser o mineral caulinita. Segundo Melo e Wypych (2009), a formação da caulinita em solos sob influências de outros minerais e/ou da matéria orgânica e íons que não fazem parte da

estrutura do mineral, resulta na formação de partículas com formas diferentes da hexagonal. Para eles, a forma hexagonal íntegra, é ocorrência em solos mais intemperizados. Também, segundo D'Acqui et al. (1998), que em seu estudo expôs o mineral caulinita a resquícios orgânicos, verificou que após um tempo de incubação (30 dias) o material orgânico contribui significativamente para agregação e formação de poros, enquanto que o mineral caulinita puro, que também passou pelo mesmo processo de incubação, não apresentou formação de poros. A figura 3.4 (B) apresenta a formação de poros expressos pela letra P e, embora não esteja evidenciado na figura 3.4 (A), esta formação é observada nas duas amostras (ver figura 3.3 (A)). O que pode ser um indício de que neste solo contenha significativa quantidade de material orgânico.

Figura 3.4- Micrografias da fração argila provenientes do solo de superfície (A) e profundidade (B), em escala de 1 a 2 μm . Os poros existentes na amostra (B) estão representados pela letra P. As setas indicam o mineral caulinita.



Fonte: A autora.

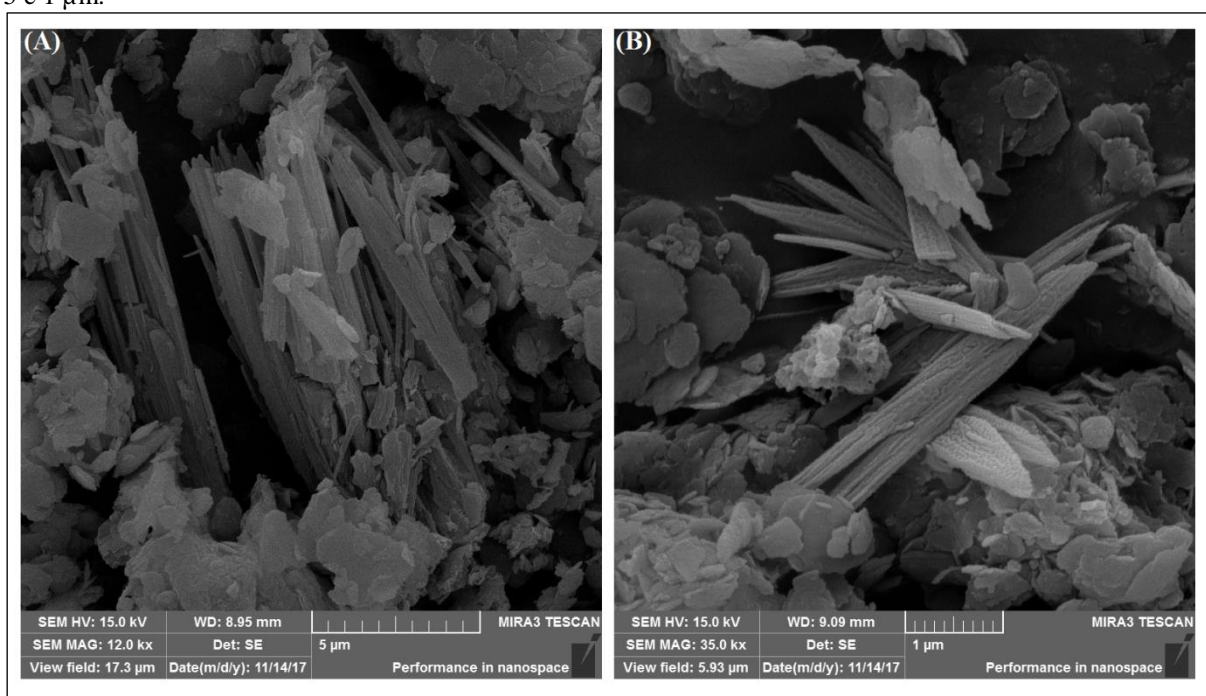
Nas Figuras 3.3 e 3.4 é possível confirmar a predominância do mineral Caulinita, o que corrobora com os dados obtidos por infravermelho que apontam muitos picos característicos de absorção na região deste mineral. Ferreira (2016), cujo estudo foi realizado com difração de raios X da fração argila provenientes do mesmo solo, constatou também a presença de Caulinita, Quartzo, Halosita, Muscovita, Ilita e Vermiculita.

Também foi possível observar (Figura 3.5), em menor quantidade, a presença de um mineral com morfologia em formato de agulhas filamentosas. Diante dos resultados sugeridos pela difração de raios X deste mesmo solo, realizado por Ferreira (2016) e, a morfologia de

minerais apresentada em alguns trabalhos (LANSON et al. 1996; LANSOON et al. 2002; DUZGOREN-AYDIN, AYDIN E MALPAS 2002), é possível que estas imagens sejam de Ilita ou Haloisita.

Segundo Lanson et al (2002), as partículas em forma de “ripas” finas ou agulhas, constituem a população dominante da Ilita. Em outro estudo Lanson et al. (1996), ao avaliar a morfologia de minerais contidos em arenitos de Países Baixos constatou que, com o aumento da profundidade o mineral Ilita mostrou morfologia de lança mais rígida, o que pode ser observado ao compararmos a micrografia da fração argila de superfície com a de profundidade, mostrada na figura 3.5.

Figura 3.5- Micrografias da fração argila provenientes do solo de superfície (A) e profundidade (B), em escala de 5 e 1 μm .



Fonte: A autora

Para Duzgoren-Aydin, Aydin e Malpas (2002), em seu estudo de caracterização dos minerais da argila de Hon Kong, evidenciou Haloisitas em formato de agulha. Neste mesmo estudo, foi possível observar que a abundância relativa de Caulinita aumenta à medida que a abundância relativa de Ilita e Haloisita diminui. Isto, segundo os autores está relacionado com o grau de intemperismo sofrido pelas amostras. O que demonstra, na Figura 3.5, o grau de intemperismo sofrido pelo solo estudado e explica a predominância do mineral Caulinita em relação aos demais mineral encontrado em menor quantidade.

Em um aspecto geral não foi encontrado nenhuma partícula que apresentassem tamanhos referentes a outras frações granulométricas, o que demonstra a qualidade do fracionamento da argila.

3.4 CONCLUSÕES

O estudo quantitativo de teores das frações granulométricas, obtido pelo procedimento de fracionamento físico por sedimentação do solo, demonstra que mais da metade do solo é correspondente a fração argila ($\approx 52\%$). A técnica de infravermelho possibilitou a caracterização espectroscópica de atributos orgânicos e inorgânicos presentes nas frações do solo e no solo inteiro. As atribuições orgânicas ficaram a cargo das frações argila e silte, enquanto que na fração areia prevaleceu sinais referentes a materiais silicatados. Também com esta análise, foi possível verificar que os minerais presentes nas frações granulométricas em sua maioria são constituídos de caulinita, haloisita, quartzo e gibbsita.

As micrografias realizadas por MEV-FEG, serviram para confirmar a pureza do fracionamento granulométrico da argila, bem como evidenciaram a predominância de estruturas laminares, com bordas irregulares e morfologia pseudo-hexagonal, típicas do mineral caulinita. As estruturas com morfologia em formato de agulhas filamentosas, presente em menor quantidade, podem ser atribuídas ao mineral illita e/ou haloisita. A caracterização morfológica destes minerais foi fundamentada em trabalhos já existentes na literatura.

Os resultados na utilização da técnica de DLS, para avaliação da qualidade do fracionamento granulométrico da argila, confirmou não haver contaminação de partículas de outras frações granulométricas. O índice de polidispersividade das análises se manteve na faixa de valores seguros para cálculo de diâmetro médio, o que qualifica esta técnica para avaliação da qualidade do procedimento de fracionamento granulométrico da fração argila.

Referências

AULER, A. C. **Atributos físico-hídricos de um cambissolo háplico alumínico em função de aplicação de calcário**. 2014, 63 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Área de Concentração: Agricultura-Linha de Pesquisa Uso e Manejo do Solo), Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa-PR, 2014.

BARRETO, G. R. **Como interpretar os dados do Zetasizer Nano: análise de tamanho**. Malvern, 2014. Disponível em: <

<https://www.brainshark.com/malvern/vu?pi=631894377&b=1&tx=552519&c1=32&nodesktopflash=1>>. Acesso em 11 de novembro de 2017.

BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential- What they are and what they are not? **Jornal of Controlled Release**, v. 235, p. 337-351, 2016.

BRADY C. N.; WEIL R. R. **Elementos da Natureza e Propriedades dos Solos**. 3 ed. Porto Alegre-RG: Bookman, 2013. 686 p.

BRAR, S. K.; VERMA M. Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, n. 1, p. 4-17, 2011.

BRINATTI, A. M. et al. Mineralogical characterization of a highly-weathered soil by the Rietveld Method. **Scientia Agricola**, v.67, n.4, p. 454-464, 2010.

CHRISTENSEN, B. T. Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density separates. In: **Advances in soil science**. Springer-Verlag: New York, 1992, cap. 1, p. 1-76.

CHUKANOV, N. V.; CHERVONNYI, A. D. **Infrared spectroscopy of minerals and related compounds**. Springer Mineralogy: Springer, 2016. E-book ISBN 978-3-319-25349-7.

D'ACQUI, L. P. et al. Interaction between clay microstructure, decomposition of plant residues and humification. **European journal of soil science**, v. 49, n. 4, p. 579-587, 1998.

DICK, D. P.; SANTOS, J. H. Z.; FERRANTI, E. M. Chemical characterization and infrared spectroscopy of soil organic matter from two southern Brazilian soils. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 27, n. 1, p. 29-39, 2003.

DUZGOREN-AYDIN, N. S.; AYDIN, A.; MALPAS, J. Distribution of clay minerals along a weathered pyroclastic profile, Hong Kong. **Catena**, v. 50, n. 1, p. 17-41, 2002.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro). **Manual de Padronização de Métodos para Análise Granulométrica no Brasil**. Centro Nacional de Pesquisa de Solos, Rio de Janeiro, Comunicado 66, p. 1 -11, 2012.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de Solos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013.

FABRIS, J. D. et al. Métodos Físicos de Análise em Mineralogia do Solo. In: MELO, V.F.; ALLEONI, F.R.L. **Química e Mineralogia do Solo**. Parte I- Conceitos Básicos. 1ed. Viçosa, MG: SBCS, 2009. cap. 10. p. 611-695.

FARMER, V. C.; PALMIERI, F. The characterization of soil minerals by infrared spectroscopy. In: GIESEKING, J. E. **Soil components: Inorganic components**. New York: Springer Berlin Heidelberg, 1975. p. 573-670.

FERRARESI, T. M. et al. Espectroscopia de infravermelho na determinação da textura do solo. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 36, n. 6, p. 1769 -1777, 2012.

FERREIRA, T. R. **Caracterização de Propriedades Físicas de um CAMBISSOLO HÁPLICO Alumínico Submetido à Calagem Superficial Usando Microtomografia de Raios X**. 2016, 27 f. Qualificação (Doutorado em Ciências: área de concentração Física), Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa-PR, 2016.

FERREIRA, T. R. et al. Surface liming effects on soil radiation attenuation properties. **Journal of Soils and Sediments**, v.5, p. 1-13, 2017. No prelo.

IBGE. **Manual técnico de pedologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 2015. 430 p.

KRETZSCHMAR, R.; HOLTHOFF, H.; STICHER, H. Influence of ph and humic acid on coagulation kinetics of kaolinite: a dynamic light scattering study. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 202, p. 95-103, 1998.

LANSON, B. et al. (1996) Late-stage diagenesis of clay minerals in porous rocks: Lower Permian Rotliegendes reservoir off- shore of The Netherlands. In: LANSO, B. et al. Authigenic kaolin and illitic minerals during burial diagenesis of sandstones: a review. **Clay minerals**, v. 37, n. 1, p. 1-22, 2002.

LANSON, B. et al. Authigenic kaolin and illitic minerals during burial diagenesis of sandstones: a review. **Clay minerals**, v. 37, n. 1, p. 1-22, 2002.

MARTINS, E. C. **Caracterização e quantificação mineralógica da fração argila do horizonte Bi de Cambissolos da região de Irati, Paraná, pelo método de Rietveld**. 2010. 79 f. Dissertação (Mestrado em Química Aplicada) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2010.

MELO, V. F.; WYPYCH, F. Caulinita e Halosita. In: MELO, F. V.; ALLEONI, F. R. L. **Química e mineralogia do solo: Parte I-Conceitos Básicos**. 1ed. Viçosa-MG: SBCS, 2009. cap. VII, p. 427 – 504.

MINERAIS DO PARANÁ S.A. – MINEROPAR. **Avaliação geológica e geotécnica para o planejamento territorial e urbano do município de Irati**. Curitiba: Mineropar, 2005.

NGUYEN, M. N. et al. Effect of anions on dispersion of a kaolinitic soil clay: A combined study of dynamic light scattering and test tube experiments. **Geoderma**, v. 209, n. 210, p. 209 – 213, 2013.

OLIVEIRA, T. G. et al. Análise comparativa entre o granulômetro a laser e o método convencional de granulometria por sedimentação. In: XVIII Congresso Brasileiros de Mecânica dos Solos e Engenharia Geotécnica, 2016, **Anais**. Belo Horizonte: ABMS, 2016.

PRADO, G. S.; CAMPOS, J. R. O emprego da análise de imagem na determinação da distribuição de tamanho de partículas da areia presente no esgoto sanitário. **Engenharia Sanitária Ambiental**. v. 14, n. 3, p. 401-410, 2009.

RIBEIRO, I.; ANGELIM, R. R.; GUIMARÃES, R. C. Análise granulométrica de solos tropicais com granulômetro a laser. In: XVII Congresso Brasileiro de Mecânica dos Solos e Engenharia Geotécnica, 2014, Goiânia. **Anais de Eventos**. Disponível em: < https://www.abms.com.br/links/bibliotecavirtual/cobramseg/2014/599711_80_ANALISE_GRANULOMETRICA_DE_SOLOS_TROPICAIS_COM_GRANULOMETRO_A_LASER.pdf >. Acesso em 24 de novembro de 2017.

ROSCOE, R.; MACHADO, P. L. O. A. **Fracionamento físico do solo em estudo da matéria orgânica**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2002, 86 p.

TANNER, C. B.; JACKSON, M. L. Nomographs of sedimentation times for soil particles under gravity or centrifugal acceleration. **Soil Science Society Proceeding**, v.12, p. 60- 65, 1947.

TIVET, F. et al. Assessing humification and organic C compounds by laser-induced fluorescence and FTIR spectroscopies under conventional and no-till management in Brazilian Oxisols. **Geoderma**, v. 207, p. 71-81, 2013.

4 ESTUDO DA HUMIFICAÇÃO DO ÁCIDO HÚMICO PRESENTE NAS FRAÇÕES GRANULOMÉTRICAS DO SOLO

Resumo

O fracionamento químico de substâncias húmicas associadas as frações físicas do solo (argila, silte e areia), foi realizado com intuito de caracterizar e avaliar a estabilidade química dos AHs vinculados a cada fração. As técnicas utilizadas foram de absorção no ultravioleta-visível (UV-vis), para o cálculo da razão E_4/E_6 , e fluorescência no visível, com dois comprimentos de onda de excitação (240 e 465 nm), para os cálculos dos índices de humificação dos AHs. Os resultados referentes a razão E_4/E_6 indicam a tendência de estruturas mais policondensadas para AHs extraídos da profundidade, sendo a fração silte e areia, as parcelas que possuem maior e menor grau de humificação, respectivamente. Para ambos os índices, calculados por fluorescência, a fração areia da camada de superfície apresentou o AH com estrutura molecular menos evoluída no estágio de humificação. Já para detecção de estruturas mais humificadas, os valores para estes índices não corroboram entre si. Segundo A_4/A_1 , o AH mais humificado está associado a fração silte e para A_{465} é a estrutura molecular vinculada a fração argila.

Palavras-Chaves: Ácido Húmico. Frações Físicas. Humificação. UV-vis. Fluorescência no visível.

4.1 INTRODUÇÃO

A quantidade significativa de trabalhos abordando a caracterização de substâncias húmicas extraídas quimicamente do solo, fazem com que alguns mecanismos e processos de evolução já estejam bem documentados e entendidos (MILORI et al., 2002; SAAB; MARTIN-NETO, 2007; GIOVANELA et al., 2010; SIGNOR et al., 2016). Porém, quando o interesse é o estudo da associação dessas substâncias com frações físicas do solo, o ambiente fica obscuro, devido à poucos estudos nesta área.

Segundo Martin-Neto, Andriuto e Traghetta (1996), a estabilização da MOS pela associação com a fração mineral do solo pode ser dividida em estabilidade estrutural e estabilidade coloidal. A estabilidade estrutural está relacionada à formação de microagregados. A disposição da MOS no interior desses microagregados, protege-a da ação de

microorganismos. Já a estabilidade coloidal está relacionada à ligação da MOS com cátions metálicos dos minerais do solo.

De forma geral, a maioria dos trabalhos que buscam entender os mecanismos destas estabilidades, utilizam de fracionamento físico da MOS por se tratar de uma técnica menos destrutível comparado com o fracionamento químico. O procedimento consiste na separação das frações de solo em suspensão aquosa por peneiramento e, ou, por sedimentação (STEVENSON, 1982; MARTIN-NETO; ANDRIUTO E TRAGNETA, 1996; DICK et al., 2009).

Todavia, a principal dificuldade encontrada na caracterização de SHs associadas as frações granulométricas, está na sobreposição da fração mineral, que impossibilita a realização de uma caracterização mais seletiva. Uma alternativa para esta dificuldade está no fracionamento químico das frações granulométricas do solo.

Lunardi (2002), em sua dissertação de mestrado, investigou a distribuição e qualidade de SHs extraídas quimicamente das frações silte e argila. Os valores para a razão E_4/E_6 apresentaram-se inferiores aos usualmente citados na literatura, indicando que o fracionamento físico afetou a distribuição e a qualidade das substâncias húmicas fracionadas quimicamente. Brunetti et al. (2016), em um estudo sobre a relação entre mineralogia do solo e a estabilidade da MOS, obteve as frações físicas do solo e, posteriormente, isolou o AH das frações silte e argila. A caracterização do AH levou a concluir que as moléculas húmicas se acumulam na superfície de minerais em função da sua afinidade. Para eles, os AHs extraídos da fração silte são estruturas mais policondensadas e intrinsicamente menos propensos a degradação do que compostos hidrofílicos mais simples, como os associados a fração argila.

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar o grau de humificação de AHs associados as frações físicas do solo, obtidas no estudo abordado no capítulo 3. Para isto, as espectroscopias de fluorescência no visível e absorção de luz no UV-vis foram utilizadas.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Fracionamento químico das frações físicas do solo

As frações granulométricas (argila, silte e areia) são oriundas do experimento realizado no terceiro capítulo deste trabalho, onde um solo recoberto por gramínea (Referência), classificado como CAMBISSOLO HÁPLICO Alumínico (EMBRAPA, 2013) de textura argilo-siltosa, foi fracionado fisicamente.

O fracionamento químico das frações granulométricas do solo, foi realizando seguindo a mesma metodologia expressa no item 2.2.2 deste trabalho, salvo que, ao final da extração, as amostras foram secas em estufa a temperatura de 40 °C, ao invés de congeladas e liofilizadas.

As frações AH obtidas foram extraídas das amostras de: Argila na superfície ($AH_{Argila(S)}$) e profundidade ($AH_{Argila(P)}$); Silte na superfície ($AH_{Silte(S)}$) e profundidade ($AH_{Silte(P)}$); e, Areia na Superfície ($AH_{Areia(S)}$) e profundidade ($AH_{Areia(P)}$).

4.2.2 Caracterização dos AHs presentes em cada fração do solo

4.2.2.1 Espectroscopia de absorção na região do UV-visível (razão E_4/E_6)

As medidas de espectroscopia de absorção na região UV-visível foram realizadas na região de 200 a 800 nm, com cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico, utilizando um espectrofotômetro da marca Varian modelo *Cary 50*, do C-Labmu/UEPG.

Cerca de 3 mg de AH extraído das frações granulométricas do solo foram diluídos em 150 mL de uma solução de bicarbonato de sódio, $NaHCO_3$ 0,05 mol.L⁻¹, para que a solução atingisse uma concentração de 20 mgL⁻¹. As soluções foram mantidas em mesa agitadora por 24 horas, para garantir a melhor dissolução. Antes da realização da medida, a solução foi filtrada (com filtro de papel) para evitar precipitados e seu pH foi ajustado para valores em torno de 8, com soluções de HCl e NaOH. A linha de base foi obtida com a solução bicarbonato de sódio, $NaHCO_3$ 0,05 mol.L⁻¹. Todas as medidas foram realizadas em triplicata, com as quais se obteve o valor médio e o desvio padrão das razões E_4/E_6 .

Os valores da razão E_4/E_6 dos AHs foram ponderados com relação as porcentagens de suas respectivas frações no solo inteiro. Para isto, a equação de média ponderada foi utilizada:

$$\overline{x_p} = \frac{\sum_{i=1}^n (p_i \cdot x_i)}{\sum_{i=1}^n p_i}, \quad (8)$$

em que x_i é os valores de E_4/E_6 obtidos para cada fração, p_i a porcentagem de cada fração no solo inteiro (Tabela 3.2) e $\overline{x_p}$ será a média ponderada do valor da humificação do AH de cada fração do solo.

4.2.2.2 Espectroscopia de fluorescência na região do visível

Os espectros de fluorescência por emissão foram realizados utilizando uma célula de quartzo e espectrômetro *Varian Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer*, do Laboratório de Caracterização Físico-Química, do Departamento de Química da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

O preparo das soluções para análise ocorreu da mesma forma que para a realização das medidas de espectroscopia de absorção na região do UV-visível, abordadas no tópico 4.2.2.1.

Para a estimativa do grau de humificação dos AHs extraídos das frações do solo foram utilizados os métodos de Zsolnay et al. (1999) (conhecido como razão A_4/A_1) e Milori et al. (2002) (conhecido como A_{465}), já detalhados no item 2.2.4.5 deste trabalho.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.3.1 Fracionamento químico das frações físicas do solo

O fracionamento químico das frações granulométricas do solo de referência, foi realizado pelo método padronizado pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) e adaptada por Swift (1996). A tabela 4.1 apresenta as quantidades de AHs retiradas de cada fração.

Tabela 4.1- Quantidade extraída de ácido húmico, em relação a massa total de cada fração física utilizada.

Amostra	Massa da Fração (g)	Massa de AH (g)
AH_{Argila}(S)	100	0,279
AH_{Argila}(P)	100	0,237
AH_{Silte}(S)	47	0,003
AH_{Silte}(P)	44	0,016
AH_{Areia}(S)	79	0,034
AH_{Areia}(P)	74	0,003

Fonte: A autora.

Os valores para realização do procedimento de extração química não foram iguais devido à dificuldade de extração das frações silte e areia, visto que 50 % deste solo é correspondente a fração argila (ver Tabela 3.2).

A afinidade de interação da MOS com a fração argila é abordada na literatura como sendo devido a mecanismos de interação organomineral, que ocorrem entre grupos funcionais situados em superfícies minerais e orgânicas (CHESHIRE et al., 2000; DICK, et al., 2009). Através dos valores expostos na tabela 4.1 é possível verificar que a maior quantidade de AH no solo está associada a fração argila.

4.3.2 Estudo da humificação dos AHs presentes em cada fração física do solo

4.3.2.1 Espectroscopia de absorção na região do UV-visível (razão E_4/E_6)

A razão E_4/E_6 das amostras de AHs extraídas das frações físicas (argila, silte e areia) do solo estão apresentadas na tabela 4.2.

Tabela 4.2- Índice de humificação e média ponderada da razão E_4/E_6 , das amostras de AH extraídas das frações físicas do solo, nas camadas de superfície (0 - 10 cm) (S) e profundidade (10 – 20 cm) (P).

Amostra	E_4/E_6	Média Ponderada da Razão E_4/E_6 do AH das Frações	
		-----Superfície-----	-----Profundidade-----
AH _{Argila(S)}	$4,7 \pm 0,1$	5,04	4,38
AH _{Argila(P)}	$4,3 \pm 0,1$		
AH _{Silte(S)}	$4,7 \pm 0,1$		
AH _{Silte(P)}	$4,2 \pm 0,2$		
AH _{Areia(S)}	$5,7 \pm 0,2$		
AH _{Areia(P)}	$4,5 \pm 0,1$		

Fonte: A autora.

Os valores da relação E_4/E_6 dos AH estão dentro da faixa de valores encontrada para AHs extraídos de solos, entre 3 e 5 (Chen et al., 1977), sendo que estes apresentam valores menores quando comparados ao do AH extraído deste mesmo solo (Tabela 2.4), o que já era esperado, pois aqui o valor de cada razão é referente a uma fração do solo, não ao solo inteiro.

Diante disto, uma média ponderada com os valores da razão E_4/E_6 dos AHs das frações físicas e suas respectivas porcentagens no solo (Tabela 3.2) foi realizada. É possível verificar que, AHs extraídos das frações contidas na superfície são menos humificados do que os AHs extraídos das frações de profundidade, resultado semelhante ao encontrado no AH extraído deste mesmo solo (ver Tabela 2.4).

Na literatura possuem poucos trabalhos que realizam fracionamento químico das frações físicas. Um dos únicos trabalhos encontrados foi de Lunardi (2002), que ao analisar AH extraídos das frações argila e silte, de um Latossolo Vermelho e um Latossolo Amarelo, obteve valores para a razão E_4/E_6 da fração argila muito pequenos (1,2; 2,6 e 4,4). Segundo a autora, estes resultados baixos podem estar relacionado com o método de fracionamento físico, utilizando energias ultrassônicas, que pode ter alterado a distribuição e a qualidade do AH. Porém, para a fração Silte, os resultados da razão E_4/E_6 estão próximos aos encontrados neste estudo (5,5; 4,9 e 4,1) (LUNARDI, 2002).

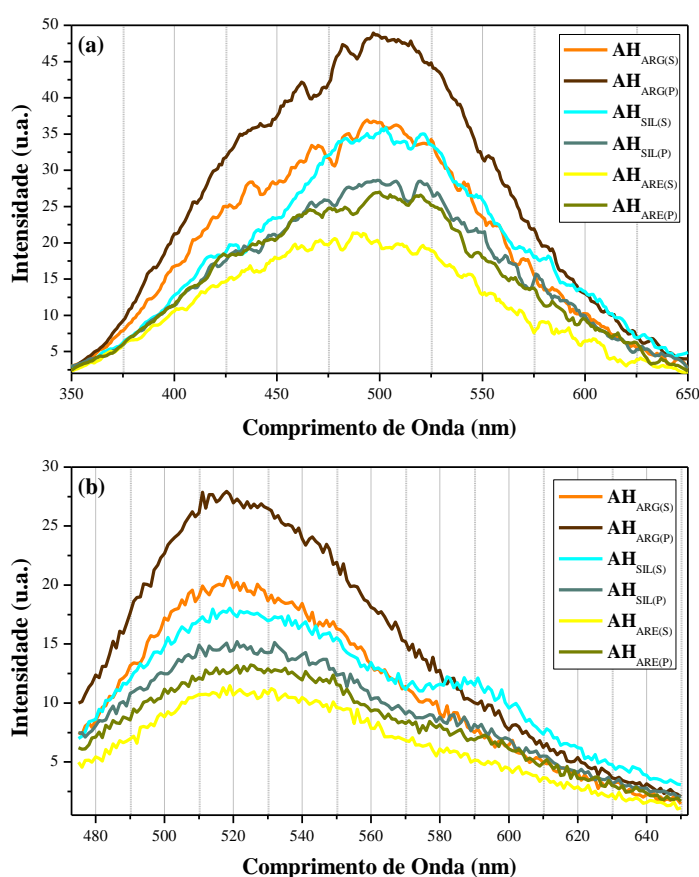
A razão E_4/E_6 , apresentou uma tendência, tanto para superfície quanto para profundidade: AHs extraídos das frações Silte possuem o maior grau de humificação, seguidos dos AHs extraídos da fração Argila. Por fim, classificando-se com o menor grau de humificação, (consequentemente o maior valor da razão E_4/E_6) os AHs extraídos da fração areia. Bayer, Martin-Neto e Saab (2003), também encontraram a mesma tendência ao avaliar o grau de humificação da matéria orgânica associada a frações granulométricas de um Cambissolo Húmico, por meio da técnica de ressonância paramagnética eletrônica (EPR), constataram que a matéria orgânica associada a fração silte apresentou maior concentração de

radicais livres semiquinona, o que indica um maior grau de humificação e, ou, maior interação com a fração mineral, em comparação com as demais frações.

4.3.2.2 Espectroscopia de fluorescência no visível

A figura 4.1 apresenta os espectros de fluorescência no modo emissão dos AHs extraídos das frações físicas do solo.

Figura 4.1- Espectros de fluorescência dos ácidos húmicos extraídos das frações físicas do solo, na camada de superfície (0 – 10 cm)(S) e profundidade (10 – 20 cm) (P), no modo emissão, com λ_{ex} em 240 nm (a) e λ_{ex} em 465 nm (b).



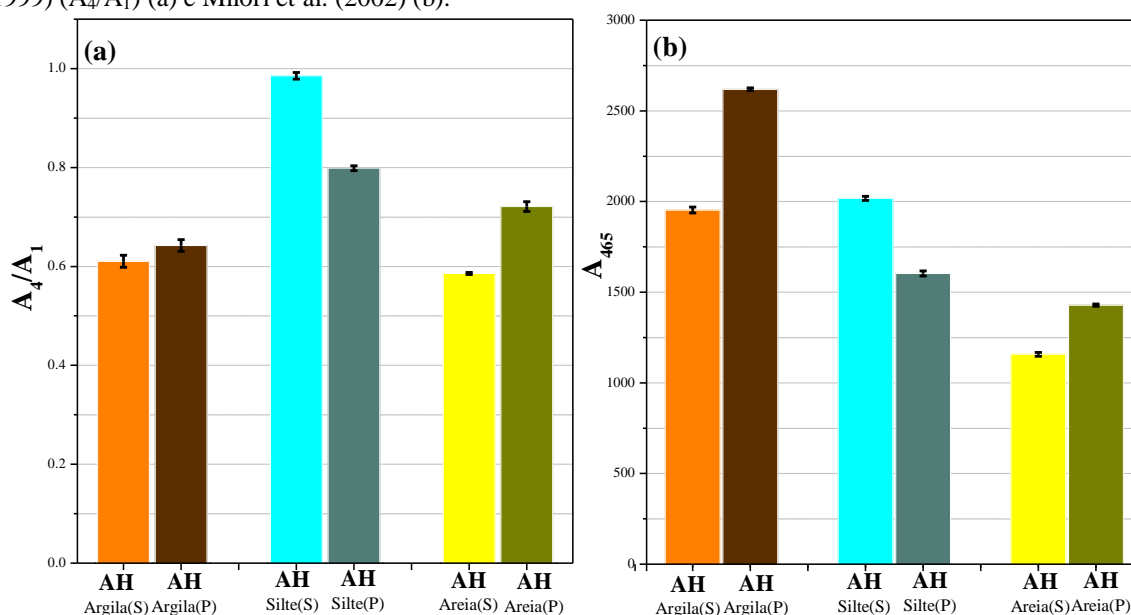
Fonte: A autora.

Os espectros exibem seus picos centrados em 500 e 515 nm para λ_{ex} em 240 nm e 465 nm, respectivamente. Para ambos os grupos de λ_{ex} , houve: uma diminuição dos valores das intensidades em relação ao gráfico dos AH extraído deste mesmo solo (ver Figura 2.6); o AH extraído da argila na camada de profundidade, foi o que apresentou espectro de maior intensidade; o AH extraído da fração de silte foi o único que apresentou a intensidade dos espectros de superfície maior do que o de profundidade.

Ainda nos espectros dos $AH_{SIL(S)}$, $AH_{SIL(P)}$ e $AH_{ARE(P)}$ da Figura 4.1(b) é possível verificar um ombro centrado em 588 nm. Em geral, a formação de bandas, ou deslocamento destas para comprimentos de onda no vermelho, pode estar associado a fluorescência de grupos com estruturas mais complexas, como quinonas e fenóis com um grau de policondensação mais estendida (SENESI et al., 1991). Logo, esta formação de uma banda adicional pode estar relacionada à formação de grupos com um alto grau de condensação, que se diferenciam dos demais, presentes em maior quantidade.

A figura 4.2, apresenta um diagrama representativo dos índices de humificação calculado pelas metodologias propostas por Zsolnay et al. (1999) (A_4/A_1) e Milori et al. (2002) (A_{465}).

Figura 4.2- Diagrama representativo dos índices de humificação para os AHs extraídos das frações físicas do solo na camada de superfície (0 – 10 cm) (S) e profundidade (10 – 20 cm) (P), obtidos pelo método de Zsolnay et al. (1999) (A_4/A_1) (a) e Milori et al. (2002) (b).



Fonte: A autora.

Os índices A_4/A_1 , demonstraram que o AH com maior grau de humificação (0.98) está associado a fração silte extraído da camada de superfície. O AH que apresentou a parcela menos humificada está associado a fração areia na camada de superfície (0.58). Já para o índice A_{465} , os valores dos AHs mais e menos humificados são os associados a fração argila em profundidade (2618.55) e a fração areia em superfície (1157.34), respectivamente.

Nos AHs extraídos das frações argila e areia, repetiu-se a constatação de que em profundidade o grau de humificação aumenta (Tabela 4.2). Porém, para o AH extraído da fração silte, ocorreu uma inversão, em superfície o grau de humificação foi maior do que em profundidade, para ambos os grupos de λ_{ex} .

O método A_4/A_1 é uma forma de avaliar a razão entre aromaticidade e alifaticidade, já A_{465} , é mais seletivo, mostra a quantidade de estruturas aromáticas que fluoresceram. Logo, para ambos os métodos, existe uma tendência com relação ao grau de aromaticidade.

Comparando qualitativamente os dois métodos, expostos na Figura 4.2 (a) e (b), é possível descrever algumas hipóteses. O índice A_{465} do $AH_{ARG(P)}$ demonstra que esta estrutura molecular possui um alto grau de aromaticidade, sendo o maior quando comparado com os demais. Contudo, ao comparar-se com o índice A_4/A_1 , é possível perceber que seu valor diminui em relação as outras frações, isto significa que neste AH existe grande quantidade de estruturas alifáticas. Isto pode ser devido a forma de interação entre a fração argila e a porção orgânica do solo, que resulta em proteção das estruturas orgânicas, fazendo com que a presença de estruturas alifáticas mantenha-se quase que fora do alcance de microorganismos ou até mesmo, dificultando a doação destas estruturas para raízes e o meio.

Os menores índices, para ambos os métodos, foram encontrados para os AHs extraídos da fração areia, que mantiveram-se com a mesma disposição para os dois cálculos, as frações extraídas da profundidade possuem maior quantidade de estruturas policondensadas do que os extraídos da superfície.

Diante dos dois resultados, para o AH associado a fração silte, ficou constatado que na camada de superfície a aromaticidade prevalece na estrutura molecular e, diante do grande valor encontrado no índice A_4/A_1 , é validado a pouca presença de estrutura alifática, que pouco interferiram para diminuição do valor neste método, contrário ao que aconteceu com a fração argila.

Brunetti et al. (2016), em seu estudo da caracterização química e espectroscópica dos AHs associados as frações argila e silte constataram que, as estruturas moleculares observadas nos AHs extraídos do silte são intrinsecamente menos propensas à degradação do que os compostos hidrofílicos mais simples. Contudo, neste trabalho mostrou-se que a fração silte possui menor quantidade de grupos alifáticos em relação ao aromáticos, isto não quer dizer que esta fração esteja menos propensa a degradação e sim, que sua estrutura é menos protegida fisicamente e, devido a isto, ela possui uma razão aromática por alifática maior do que a fração argila.

4.4 CONCLUSÕES

A caracterização de AHs extraídos das frações granulométricas do solo, através da absorção de luz no visível, revelam que o maior grau de humificação é característica de AHs

extraídos das frações contidas na profundidade, corroborando com os dados encontrados para o AH extraído do mesmo solo. A fração silte possui a parcela de AHs com maior grau de humificação, seguidos dos AHs extraídos da fração Argila e, por fim, o menor grau de humificação é referente a AHs extraídos da fração areia.

Para a Fluorescência no visível foi possível evidenciar um ombro centrado em 588 nm, nos espectros dos $AH_{SIL(S)}$, $AH_{SIL(P)}$ e $AH_{ARE(P)}$. Possivelmente, é referente a grupos com um alto grau de condensação que se diferenciam dos demais, presentes em maior quantidade. Os cálculos dos índices de humificação demonstraram que para a razão A_4/A_1 , a fração silte da camada de superfície, está vinculada ao AH com maior grau de humificação, já fração areia, também da camada de superfície, contém a parcela de AH menos humificadas. Para o índice A_{465} , os valores dos AHs mais e menos humificados estão associados a fração argila em profundidade e a fração areia em superfície, respectivamente. Os valores calculados para estes índices de humificação dos AHs associados a fração silte, demonstram que ocorreu uma inversão com o grau de humificação dos AHs dispostos em superfície e profundidade, o que não corrobora com os dados obtidos pela razão E_4/E_6 .

As análises de Ressonância Magnética Nuclear e, ou, Ressonância Paramagnética Eletrônica, poderão ser realizadas para a confirmação dos resultados quanto ao grau de policondensação das estruturas moleculares estudadas.

Referências

- ABREU, C. H. J. et al. Métodos Analíticos Utilizados em Química do solo. In: MELO, V.F.; ALLEONI, F.R.L. **Química e Mineralogia do Solo**. Parte II- Aplicações. 1ed. Viçosa, MG: SBCE, 2009. cap. 11. p. 529-685.
- BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; SAAB, S. C. Diminuição da humificação da matéria orgânica de um Cambissolo Húmico em plantio direto. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 27, n. 3, 2003.
- BRUNETTI, G. et al. Characterization of Clay-and Silt-Sized Fractions and Corresponding Humic Acids Along a Terra Rossa Soil Profile. **CLEAN–Soil, Air, Water**, v. 44, n. 10, p. 1375-1384, 2016.
- CHEN, Y.; SENESI, N.; SCHNITZER, M. Information provided on humic substances by E_4/E_6 ratios. **Soil Science Society of America**, v. 41, p. 352-358, 1977.

CHESHIRE, M. V. et al. The interaction between soil organic matter and soil clay minerals by selective removal and controlled addition of organic matter. **European Journal of Soil Science**, v. 51, p. 497 – 509, 2000.

DICK, D. P. et al. Química da matéria orgânica do solo. In: MELO, F. V.; ALLEONI, F. R. L. **Química e mineralogia do solo: Parte II- Aplicações**. 1ed. Viçosa-MG: SBCS, 2009. Cap. XI, p. 1 – 67.

GIOVANELA, M. et al. Chemical and spectroscopic characterization of humic acids extracted from the bottom sediments of a Brazilian subtropical microbasin. **Journal of molecular structure**, v. 981, n. 1, p. 111-119, 2010.

INTERNATIONAL Humic Substance Society (IHSS). Disponível em : < <http://humic-substances.org/elemental-compositions-and-stable-isotopic-ratios-of-ihss-samples/>>. Acesso em 01 de Maio de 2017.

LUNARDI, M. H. B.. **Fracionamento físico da matéria orgânica do solo em diferentes energias de sonicação em três latossolos brasileiros sob vegetação nativa**. 2002. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo)- Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS), 2002.

MARTIN NETO, L.; ANDRIULO, A.; TRAGHETTA, D. G.. Fracionamento físico da matéria orgânica do solo e caracterização por espectroscopia de EPR. **Embrapa Instrumentação- Comunicado Técnico** (INFOTECA-E), 1996.

MILORI, D. M. B. P. et al. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**, v. 167, n. 11, p. 739-749, 2002.

SAAB, S. C.; MARTIN-NETO, L. Anéis aromáticos condensados e relação E4/E6: estudo de ácidos húmicos de Gleissolos por RMN de ^{13}C no estado sólido utilizando a técnica CP/MAS desacoplamento defasado. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 260-263, 2007.

SIGNOR, D. et al. Atributos químicos e qualidade da matéria orgânica do solo em sistemas de colheita de cana-de-açúcar com e sem queima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 9, p. 1438-1448, 2016.

SWIFT, R. S. Organic Matter Characterization. In: D. L Sparks. Eds. **Methods of soil analysis**. Part 3. Chemical Methods. Book Series: 5. Wisconsin: Soil Science Society of American, 1996. Cap. 35, p. 1011-1069.

SENESE, N. et al.. Characterization, differentiation, and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy, **Soil Sci.** 1991, 152, 259–271.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da humificação dos AHs extraídos do solo revelou por meio da maioria das técnicas que a fração $AH_{CC(P)}$ apresentou valores que classificam a molécula como sendo constituída de estruturas aromáticas mais policondensadas, dando a ela um caráter mais humificado em relação as demais. Já para os valores relacionados a menor humificação, as amostras de $AH_{CC(S)}$ e $AH_{SC(S)}$ foram as mais indicadas. Demonstrando assim, a influência do calcário na aceleração do processo de humificação e que a camada de superfície possui a disponibilidade de material orgânico menos humificado. Os AHs exibiram, por MEV-FEG, ser formados de aglomerados em microporções, que exibem compactação de camadas em aspecto de finas folhas com estruturas esponjosas agregadas nas interfaces.

Quanto a caracterização quantitativa e qualitativa das frações granulométricas do solo, foi possível determinar que a fração presente em maior quantidade no solo é a fração argila. Por meio dos espectos de IV foi possível evidenciar que os atributos orgânicos estão associados as frações Argila e Silte e, a maioria dos minerais presentes nas frações granulométricas, são constituídos de caulinita, haloisita, quartzo e gibbsita. As micrografias realizadas por MEV-FEG, evidenciaram a predominância de estruturas laminares, com bordas irregulares e morfologia pseudohexagonal, típicas do mineral caulinita, e estruturas com morfologia em formato de agulhas filamentosas presente em menor quantidade, que podem ser atribuídas ao mineral ilita e/ou haloisita. Com este estudo foi possível qualificar a técnica de DLS como um procedimento para avaliação da qualidade do fracionamento granulométrico da fração argila.

Por fim, o estudo da humificação dos AHs extraídos das frações granulométricas, evidenciou na maioria dos valores, que a fração silte possui a parcela de AHs com maior grau de humificação, seguidos dos AHs extraídos da fração Argila e, por fim, os AHs extraídos da fração areia. Salvo para o índice A_{465} , que apresentou maiores valores de grau de humificação para os AHs associados a fração argila em profundidade. Os valores calculados para os índices de humificação, via fluorescência no visível, dos AHs associados a fração silte, demonstram que ocorreu uma inversão com o grau de humificação das substâncias dispostas na superfície e profundidade, o que não corrobora com os dados obtidos pela razão E_4/E_6 , que demonstrou a tendência de maior humificação nas frações contidas na camada de profundidade, assim como os dados encontrados para o AH extraído do mesmo solo. As análises de Ressonância Magnética Nuclear e, ou, Ressonância Paramagnética Eletrônica, poderão ser realizadas para a confirmação dos resultados quanto ao grau de policondensação das estruturas moleculares estudadas.