

TATIANE DO VALLE

**NOVA METODOLOGIA DE FRACIONAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
HUMINAS E SUAS INTERAÇÕES COM CONSTITUINTES INORGÂNICOS
DE SOLOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Química – Área de Concentração: Química Inorgânica do Curso de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná.

**Orientador: Prof. Dr. Antonio Salvio Mangrich
Co-orientadora: Dra. Betânia Fraga Pereira**

CURITIBA

2006

**Ao meu esposo, meus pais e irmãos, pois junto a eles restauro minhas forças,
e encontro apoio e estímulo para prosseguir o meu caminho tendo a certeza de
que nunca estarei sozinha.**

Com amor.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus que me deu a vida e sempre me acompanha...

Ao Prof. Dr. Antonio Salvio Mangrich, cuja extraordinária competência nunca lhe diminuiu a compreensão para com as minhas dificuldades. Pelo constante apoio, pela valiosa e efetiva colaboração e pela sua grande amizade.

A Dra. Betânia Fraga Pereira, minha querida amiga, pela co-orientação, apoio, sugestões, grandiosa colaboração na redação final desta dissertação, e inestimável amizade.

A prof. Dra. Maria Olímpia de Oliveira Rezende, do Instituto de Química da USP/São Carlos, SP pela valiosa colaboração e gentileza em aceitar participar da Banca Examinadora.

Ao professor Patrício Peralta Zamora do DQ/UFPR, pela valiosa colaboração e gentileza em aceitar participar da Banca Examinadora.

Aos professores Gilberto Abate e Patrício Peralta Zamora pelas interessantes e oportunas observações feitas sobre este trabalho durante suas participações na banca do Exame de Qualificação.

A Prof. Dra. Iara Messerschmidt, pelas sugestões e auxílio.

Ao curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química.

Ao TECPAR, em especial ao Marcelo Ribani, pela liberação e por toda ajuda.

Aos colegas do LABPAm, Andréia, Ademar, Arai, Be, Cris, Cristiana, Claudia, Elisete, Fabinho, Jeni, Júlio, Júlio Caetano, Ísis, Kátia, Regi, Rodrigo e Ronei, pela ajuda nas discussões, pela agradável convivência, pelas amizades e pelos momentos de lazer.

As amigas queridas Cris e Elisete, as quais estimo muito, pelas pessoas maravilhosas que são. Por toda ajuda e pela amizade.

Ao meu esposo Albano, por todo amor, carinho, apoio, confiança e por sempre estar ao meu lado.

Aos meus pais, Orlei e Adilma, a quem serei eternamente grata, pelo exemplo de vida, amor, trabalho e dignidade.

Aos meus irmãos queridos, Janaína e Felipe que sempre torceram por mim.

A toda a minha família...e minha nova família também...

Se não houver frutos, valeu a beleza das flores...
Se não houver flores, valeu a sombra das folhas...
Se não houver folhas, valeu a intenção da semente.

Henfil

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	ix
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Constituintes Minerais do Solo.....	1
1.2 Matéria Orgânica Ambiental (MOA)	2
1.3 O Efeito Estufa	4
1.2.1 O Seqüestro de Carbono	5
1.4 Plantio Direto (PD)	5
1.5 Substâncias Húmicas.....	7
1.5.1 Estrutura e Propriedades Químicas das Substâncias Húmicas.....	8
1.5.2 Extração das Substâncias Húmicas de Solo	9
1.5.3 Huminas	11
1.6 Métodos Espectroscópicos.....	12
1.6.1 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR).....	12
1.6.2 Espectroscopia no Infravermelho por Reflectância Difusa (DRIFTS).....	17
1.6.3 Espectrofotometria no Ultravioleta Visível por Refletância Difusa (DRUV-VIS)	20
1.6.4 Difração de Raios-X (XRD)	22
1.6.5 Análise Elementar (C, H, N).....	23
1.6.6 Análises Quimiométricas	23
2. OBJETIVOS	26
2.1 Objetivos Específicos	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS	27
3.1 Coleta dos Solos	27
3.2 Extração das Substâncias Húmicas do solo.....	28
3.3 Metodologia de Fracionamento Utilizada para as Huminas	30
3.3.1 Extração da Fração do tipo “AH” extraído das Huminas	30
3.3.2 Extração seqüencial realizada nas Huminas	32
3.4 Métodos Utilizados para a Caracterização das Amostras	34
3.4.1 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR).....	34
3.4.2 Espectroscopia no Infravermelho por Refletância Difusa (DRIFTS) ...	34
3.4.3 Espectroscopia no Ultravioleta visível por Refletância Difusa (DRUV-VIS)	34
3.4.4 Difração de raios-X (XRD)	34
3.4.5 Análise de C, H, N.....	35
3.4.6 Análise Gravimétrica (Perda ao Rubro).....	35
3.4.7 Análises Quimiométricas	35
3.5 Identificação das amostras.....	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	37
4.1 Análise Gravimétrica	37
4.2 Análise Elementar	38
4.3 Difração de Raios-X (XRD)	40
4.4 Ultravioleta Visível por Refletância Difusa (DRUV-VIS)	42
4.5 Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR).....	45

4.6 Espectroscopia no Infravermelho por Reflectância Difusa (DRIFTS).....	48
4.7 Análises Quimiométricas.....	52
5. CONCLUSÕES.....	60
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

LISTA DE TABELAS

TABELA 01 - IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	36
TABELA 02 - VALORES DE MATÉRIA ORGÂNICA E CINZAS DAS FRAÇÕES ESTUDADAS.....	37
TABELA 03 - COMPOSIÇÃO ELEMENTAR E RAZÃO ATÔMICA DAS AMOSTRAS ESTUDADAS	39
TABELA 04 - VALORES DA RAZÃO ENTRE AS ABSORBÂNCIAS EM 465 NM E 665 NM (E4/E6).....	44
TABELA 05 - ATRIBUIÇÕES DE BANDAS NO INFRAVERMELHO PARA AS FRAÇÕES DAS HÚMINAS	48

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 – FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGÂNICA	03
FIGURA 1.2 - AÇÃO DOS GASES NO AUMENTO DO EFEITO ESTUFA	04
FIGURA 1.3 - PLANTIO SOB O MANEJO PLANTIO DIRETO.....	07
FIGURA 1.4 - MODELO DE GRUPOS ÁCIDOS FENÓLICOS E CARBOXÍLICOS EM SH.....	07
FIGURA 1.5 - CROMATOGRAMA POR SEC DE SH DE SOLO.....	08
FIGURA 1.6 - COMPARAÇÃO* ENTRE A CURVA DE ABSORÇÃO, PRIMEIRA DERIVADA E SEGUNDA DERIVADA DE UM EXPERIMENTO DE EPR PARA UMA AMOSTRA CUJO SPIN ELETRÔNICO $S = \frac{1}{2}$	13
FIGURA 1.7 - PERDA DA DEGENERESCÊNCIA DOS ESTADOS DE SPIN PARA UM SISTEMA DE $S = \frac{1}{2}$, PELA APLICAÇÃO DE UM CAMPO MAGNÉTICO (EFEITO ZEEMAN).....	15
FIGURA 1.8 - SEMIQUINONAS PRODUZIDAS PELA REDUÇÃO DE QUINONAS OU PELA OXIDAÇÃO DE ORTO- E PARA-DIFENÓIS.....	16
FIGURA 1.9 - ESPECTRO TÍPICO DE EPR DE AH.....	17
FIGURA 1.10 - ALGUMAS VIBRAÇÕES DE UM GRUPO METILENO.....	18
FIGURA 1.11 - ESTRUTURA ORGÂNICA: (A – ALIFÁTICA; B – AROMÁTICA).....	21
FIGURA 1.12 - COMPARAÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA DE ABSORBÂNCIA MÁXIMA λ_{max} , A COR, E A EMISSÃO DE TRES MOLÉCULAS COM 1, 3, E 5 ANÉIS AROMÁTICOS RESPECTIVAMENTE. A EMISSÃO E MUDANÇA DE ABSORÇÃO PARA COMPRIMENTO DE ONDA MAIORES COM O AUMENTO DA CADEIA CONJUGADA.....	22
FIGURA 3.1 – ESQUEMA DAS ÁREAS DE COLETA DAS AMOSTRAS	27
FIGURA 3.2 – PROCEDIMENTO SEQUENCIAL DE XTRAÇÃO FEITAS NO LABORATÓRIO DE SOLOS DA UNIVERSIDADE DE LIMERICK, IRLANDA (PEREIRA, 2004).....	29
FIGURA 3.3 - FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO DA FRAÇÃO DO TIPO "AH"(SOLO SOB PD E FLORESTA).....	31
FIGURA 3.4 - FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO DAS FRAÇÕES "HUMINAS" (SOLO SOB PD E FLORESTA).....	33
FIGURA 4.1 - DIFRATOGRAMAS DAS AMOSTRAS DAS "HUMINAS" ESTUDADAS: HUFL, "HFUR", "HFDM", "HFHF" E "AHFL".....	40
FIGURA 4.2 - DIFRATOGRAMAS DAS AMOSTRAS DAS "HUMINAS" ESTUDADAS: HUPD, "HPUR", "HPDM", "HPHF" E "AHPD"..	41
FIGURA 4.3 - - ESPECTROS NO ULTRAVIOLETA VISÍVEL POR REFLECTÂNCIA (LOG1/R) DAS FRAÇÕES DAS "HUMINAS" ESTUDADAS: HUFL, "HFUR", "HFDM", "HFHF" E "AHFL"	43
FIGURA 4.4 - ESPECTROS NO ULTRAVIOLETA VISÍVEL POR REFLECTÂNCIA (LOG1/R) DAS FRAÇÕES DAS "HUMINAS" ESTUDADAS: HUPD, "HPUR", "HPDM", "HPHF" E AHPD	43
FIGURA 4.5 - ESPECTROS DE EPR (77K) DAS FRAÇÕES DAS "HUMINAS" ESTUDADAS: HUFL, "HFUR", "HFDM", "HFHF" E "AHFL".....	45
FIGURA 4.6 - ESPECTROS DE EPR (77K) DAS FRAÇÕES DAS "HUMINAS" ESTUDADAS: HUPD, "HPUR", "HPDM", "HPHF" E "AHPD".	46
FIGURA 4.7 - ESPECTROS DE EPR (77K) NA REGIÃO DO Cu^{2+}	47
FIGURA 4.8 - DETALHE NA REGIÃO DO Cu^{2+}	47

FIGURA 4.9 - ESPECTROS DE DRIFTS DAS FRAÇÕES DAS “HUMINAS” ESTUDADAS: HUFL, “HFUR”, “HFDM”, HUPD, “HPUR” E “HPDM”	49
FIGURA 4.10 – ESPECTROS DE DRIFTS DAS FRAÇÕES DAS “HUMINAS” ESTUDADAS: "AHFL", "AHPD", “HFHF” E “HPHF”	49
FIGURA 4.11 - ESTRUTURA DE CAULINITA MOSTRANDO O OH INTERNO	50
FIGURA 4.12 - SCORES PARA PC1 VERSUS PC2 PARA OS DADOS DE DRIFTS	52
FIGURA 4.13 - SCORES PARA PC2 VERSUS PC3 PARA OS DADOS DE DRIFTS.	53
FIGURA 4.14 - LOADINGS PARA PC1, PC2 E PC3 PARA OS DADOS DE DRIFTS	53
FIGURA 4.15 - SCORES PARA PC1 VERSUS PC2 PARA OS DADOS DE DRUV- VIS.....	55
FIGURA 4.16 - SCORES PARA PC2 VERSUS PC3 PARA OS DADOS DE DRUV- VIS.....	56
FIGURA 4.17 - LOADINGS PARA PC1, PC2 E PC3 PARA OS DADOS DE DRUV- VIS.....	56
FIGURA 4.18 - SCORES PARA PC1 VERSUS PC2 PARA OS DADOS DE EPR...	58
FIGURA 4.19 - SCORES PARA PC2 VERSUS PC3 PARA OS DADOS DE EPR...	58
FIGURA 4.20 - LOADINGS PARA PC1, PC2 E PC3 PARA OS DADOS DE EPR...	59

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AF: Ácido Fúlvico

AH: Ácido Húmico

AHFL: Resíduo obtido por tratamento com HCl do extrato alcalino de HUFL com NaOH/uréia

AHPD: Resíduo obtido por tratamento com HCl do extrato alcalino de HUPD com NaOH/uréia

DMSO: Dimetilsulfóxido

DRIFTS: Espectroscopia no infravermelho por reflectância difusa

DRUV-VIS: Espectroscopia no ultravioleta visível por reflectância difusa

E_4/E_6 : relação das absorbâncias em 465 nm e 645 nm

EPR: Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica

g_e : fator g do elétron livre

H/C: relação atômica, hidrogênio/carbono

HU: Humina

HUFL: Resíduo sólido (humina) da extração do solo sob floresta com NaOH/Na₄P₂O₇

“HFUR”: Resíduo sólido (“humina”) da extração de HUFL com NaOH/uréia

“HFDM”: Resíduo sólido (“humina”) da extração de “HFUR” com DMSO/HCl

“HFHF”: Resíduo sólido (“humina”) da extração de “HFDM” com solução de HF/HCl

HUPD: Resíduo sólido (humina) da extração do solo de Plantio direto com NaOH/Na₄P₂O₇

“HPUR”: Resíduo sólido (“humina”) da extração de HUPD com NaOH/uréia

“HPDM”: Resíduo sólido (“humina”) da extração de “HPUR” com DMSO/HCl

“HPHF”: Resíduo sólido (“humina”) da extração de “HPDM” com solução de HF/HCl

IHSS: Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas

MI: Matéria inorgânica

MO: Matéria orgânica

MOA: Matéria orgânica ambiental

MOS: Matéria orgânica do solo

N/C: relação atômica, nitrogênio/carbono

O/C: relação atômica, oxigênio/carbono

PD: Plantio direto

RLO: Radical livre orgânico

SEC: Cromatografia de exclusão por tamanho molecular

SH: Substância húmica

SNH: Substância não húmica

XRD: Difração de raios-X

RESUMO

A matéria orgânica do solo (MOS), ou húmus, é fator determinante no conceito de desenvolvimento sustentável devido a sua influência na manutenção da qualidade do solo (Piccolo, 1996). O húmus está dividido em substâncias húmicas (SH) e substâncias não húmicas (SNH). As SH são classificadas, operacionalmente, em ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH) e huminas HU. As HU, objeto de estudo deste trabalho, normalmente são pouco estudadas em função da alta interação entre a matéria inorgânica e matéria orgânica (MI-MO) e da dificuldade de extração de inorgânicos na mesma. Os solos são utilizados de diferentes modos e para diversos fins. Na função de sustentador e alimentador das plantas, o solo pode ser submetido a diferentes sistemas de manejo. O manejo do plantio direto (PD), quando não há revolvimento do solo por aração, tem sido considerado o menos prejudicial, quando comparado ao plantio convencional, onde se utiliza o processo de revolvimento da camada superior do solo (~ 20 cm) por aração. Portanto, é importante caracterizar a MOS do manejo PD, comparando-a com as de sistemas naturais. Neste trabalho caracterizou-se, utilizando métodos químicos, espectroscópicos e quimiométricos, amostras da fração humina de solo submetido ao manejo PD e, como testemunho, solo da mesma região sob floresta nativa com predominância de araucárias. Para este estudo foram utilizadas soluções extratoras com diferentes finalidades, como: solução aquosa de NaOH/Na₄P₂O₇, em diferentes pH, para separar a HU das outras SH (Pereira, 2004); solução aquosa extratora de NaOH/uréia, para separar compostos ácidos das HU fortemente ligados a matriz inorgânica por ligações de hidrogênio; solução aquosa extratora de DMSO/HCl, para extrair compostos básicos pouco polares e solução aquosa HF/HCl, para eliminar a estrutura sólida da matriz inorgânica (MI) e liberar a matéria orgânica (MO) nela intercalada. Os resultados mostraram diferenças de comportamento importantes nos dois tipos de manejo de solo no que diz respeito às interações MI-MO. As “huminas” apresentaram, como esperado, altos teores de cinzas, no entanto a MO foi liberada pela solução extratora NaOH/uréia, mais eficientemente no caso da HU do solo sob floresta que do manejo de PD. Ao se eliminar estruturas da MI por tratamento com solução de HF/HCl, foi possível verificar por DRIFTS, a presença de ácidos carboxílicos alifáticos nestas “huminas” nos dois tipos de manejo estudados. A aplicação da análise de componentes principais (PCA) aos dados de DRIFTS destacaram as “huminas” do tratamento com HF/HCl, de ambos os manejos, como diferentes dos demais, mas semelhantes entre eles. Os resultados de XRD mostraram que a MO do solo sob floresta apresenta principalmente estruturas aromáticas, enquanto que o de PD mais estruturas alifáticas de cadeias laterais, empacotados de forma menos condensada. Por espectroscopia de EPR verificou-se sinal mais intenso de radical livre orgânico (RLO) de estruturas de semiquinonas, no “AH” de floresta, correlacionando com o alto teor de MO e as estruturas aromáticas dessa amostra determinadas por XRD. O “AH” de solo sob floresta também apresenta, por EPR, estruturas de Cu²⁺-porfirinas, não verificadas no solo sob PD. A nova metodologia de caracterização de HU, desenvolvida nesta dissertação, surge como importante modo de caracterizar as estruturas químicas da MO do solo. Os resultados obtidos sugerem que o manejo de plantio direto produz fortes interações entre os componentes MI-MO, quando comparado com o cultivo de floresta.

ABSTRACT

The soil organic matter (SOM), or humus, is a determinative factor in the concept of sustainable development, which influence directly the soil quality maintenance. Humus is divided in humic substances (HS) and non humic substances (NHS). The HS are classified, operationally, in fulvic acids (FA), humic acids (HA) and humin (HU). The HU, object of this study, are normally little studied in terms of the high interaction between the inorganic and organic matter (IM - OM) and of the difficulty of inorganic extraction from it. The soils are used in different ways and for diverse ends. In the lifting and feeder plants function, the soil can be submitted to different management systems. The low tillage management system (LT), where there is not soil movement through tillage, has been considered better when compared to the conventional tillage (CT) management, where there is revolving process of the soil superior layer (~ 20 cm) for tillage. Therefore, it is important to characterize the OM from soils submitted to LT management and to compare it with the natural systems ones as forest. In this work, soil humin fraction samples submitted to LT management were characterized using chemical, spectroscopic and chemometrics methods, and compared with soil humin fraction samples of the same region under native forest with predominance of Araucarias. For that, extracting solutions had been used with different purposes as: $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ wet extracting solution, at different pH, to separate the HU from the other SH (Pereira, 2004); NaOH/urea wet extracting solution, to separate acid composites from HU strongly linkage to the inorganic matrix by hydrogen bounds; DMSO/HCl wet extracting solution, to extract little polar basic composites and HF/HCl wet extracting solution, to eliminate the solid structure from the inorganic matrix (IM) and to release the organic matter (OM) interlayer in it. The results had shown important differences between the two management types regarding the interactions IM-OM. The humin had presented high ash content, however the OM was efficiently release from the HU from forest than the HU from low tillage management when extracted with NaOH/urea wet solution. When the IM structures were eliminated by HF/HCl treatment it was possible to verify by DRIFTS, the aliphatic carboxylic acid presence in these humin in the two-studied management. The application of the principal components analysis (PCA) to DRIFTS data had separated the humin treated with HF/HCl from both management, as different from the others but similar among them. The XRD results had shown that OM from forest soil presents aromatic structures mainly, whereas OM from LT soil presents more aliphatic structures of lateral chains, less condensed packed. By EPR spectroscopy, more intense signal of organic free radical (OFR) from semiquinone structures was verified in "HA" from forest, which was correlated with the OM high content and the aromatic structures from this sample determined by XRD. By EPR, "HA" from forest also presents Cu^{2+} -porphyrins structures that were not verified in the LT management. The new methodology of HU characterization developed in this study appears as an important way to characterize the chemical structures of OM soil. The results suggest that the low tillage management produces more strong interactions between IM-OM components when compared to the forest soil.

1. INTRODUÇÃO

Análise por decaimento radiativo de $^{40}\text{K}_{19}$ de amostras de rochas mostrou que a Terra tem cerca de 4,6 bilhões de anos (Masson, 1995). Desde o início a superfície da Terra (solo) tem sido alterada continuamente através da ação de diversos processos naturais, chamados, no seu conjunto, de intemperismo. As paisagens que vemos hoje são os últimos resultados destes processos de mudança (McRae, 1988).

Assim, solo é o material encontrado na superfície da Terra que sustenta a cobertura vegetal e outros bens dos quais os animais, incluindo o homem, dependem (McRae, 1988). Há basicamente cinco fatores de formação do solo: tempo, clima, organismos vivos, material original, erosão e topografia, todos sumarizados por McRae, 1988. O solo consiste de frações orgânicas e minerais, ar, água e microrganismos (Colinvaux, 1986).

1.1 Constituintes Minerais do Solo

As partículas minerais do solo podem ser classificadas tanto quanto ao seu tamanho como à sua origem e composição. Em relação à origem, existem dois tipos:

- Os remanescentes da rocha que deu origem ao solo.
- Os produtos secundários, decompostos e/ou recompostos depois da intemperização dos minerais da rocha-mãe.

Os primeiros são denominados minerais primários ou minerais originais, os segundos, minerais secundários ou pedogênicos.

Os minerais primários existentes, na maior parte dos solos, são aqueles componentes das rochas mais resistentes ao intemperismo químico e, por isso, permanecem mais tempo no solo, mantendo sua composição original, mas podendo fragmentar-se pela ação do intemperismo físico (Lepsh, 2002).

Os minerais secundários provêm da decomposição daqueles da rocha-mãe, que são mais suscetíveis de se alterarem. Em sua maioria, encontram-se caracteristicamente em partículas de pequeno tamanho e a composição química é muito peculiar. São, em sua grande maioria, as argilas que imprimem ao solo propriedades muito importantes (Lepsch, 2002).

Os minerais do solo podem ser classificados em argila, silte e areia, conforme a dimensão de suas partículas (Lepsch, 2002).

1.2 Matéria Orgânica Ambiental (MOA)

A matéria orgânica ambiental (MOA) é amplamente distribuída nos solos, águas e sedimentos. É proveniente da mistura de restos de origem vegetal ou animal e formada por degradação e re-síntese desses materiais. As folhas, raízes, caules e frutos das plantas, e produtos de origem animal, como os corpos mortos de animais maiores, dos vermes e de micróbios bem como as suas excreções estão entre os principais tipos de adição, tanto naturais (reciclagem dos vegetais e animais), como artificiais (adição de esterco e palhas dos cultivos) na formação da MOA (Budziak, 2004).

Dependendo das condições ambientais, a MOA, por processos de mineralização (ação de microrganismos), libera CO_2 , CH_4 , NO_x , H_2O e alguns outros nutrientes minerais para plantas e outros organismos. Em condições de boa aeração, a MOA original é mineralizada relativamente depressa, pela ação dos microrganismos do solo. Na degradação provocada pelos microrganismos, o material mais resistente (recalcitrante), ou aquele resultante da condensação, mesmo de materiais mais lábeis, formam as substâncias húmicas (SH). Em climas mais secos e/ou frios, a taxa de ação dos microrganismos é menor, a de mineralização também é menor e a de humificação é maior, fazendo com que haja um maior acúmulo de SH (Mangrich, e colaboradores, 1998). A incidência direta do Sol leva a destruição da MOA (mineralização sem humificação). Com o recobrimento do solo evitam-se também processos de erosão hídrica e/ou eólica. Por isso, recomenda-se que o solo fique recoberto por vegetação, ou palhas.

As SH formam a parte mais estável da MOA, de certa forma similar aos argilominerais, devido ao estado coloidal, com alta densidade de cargas elétricas em sua superfície, capazes de adsorver e trocar íons. Sua capacidade de adsorver e ceder nutrientes excede em muito à das argilas, o que faz com que pequenas quantidades de SH aumentem grandemente as características nutricionais do solo. Por esse motivo, as SH são consideradas de vital importância para a vida no solo. Por possuírem

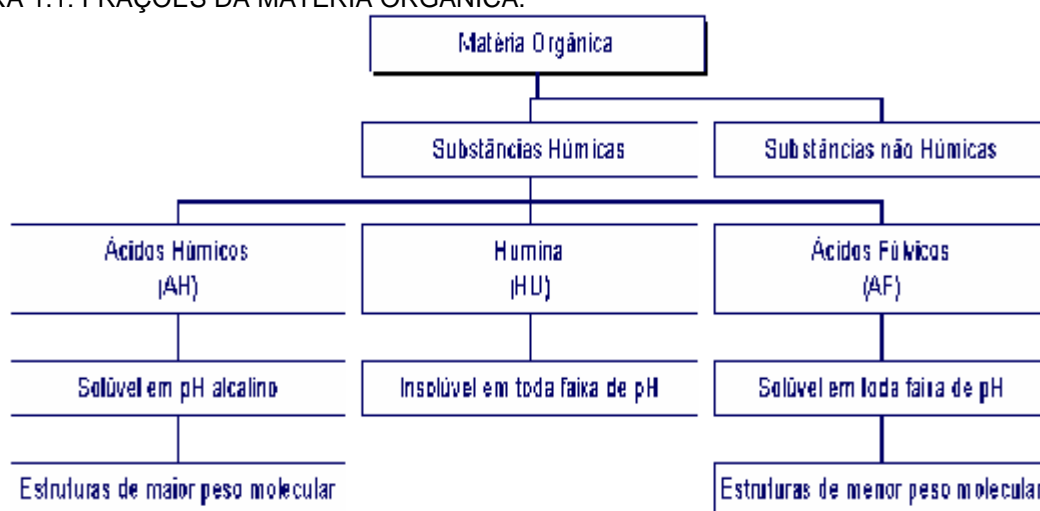
grupamentos carboxílicos e fenólicos com diferentes forças ácidas constantes (variados valores de pK_a), as SH servem, também, para tamponar o pH (acidez) do solo.

Como ligantes macromoleculares, as SH coordenam com argilas, oxi-hidroximetálicos e cátions metálicos livres, melhorando a estruturação do solo, evitando erosões hídrica ou eólica. Melhoram, dessa forma, também a permeabilidade do solo, para facilitar o contato dos nutrientes com as raízes das plantas, a porosidade, para facilitar a aeração das raízes das plantas e a retenção de água pelo solo (Mangrich, 2000).

À medida que a MOS vai sendo decomposta, novas SH vão sendo continuamente formadas, e o equilíbrio desse processo determina a quantidade de húmus estável presente no solo em dado momento (Hayes, 1991). Quando se trata de solo virgem ou, ainda do manejo PD, a quantidade de húmus formada é superior à porção transformada em SH, e/ou, mineralizada, e, em conseqüência, há acumulação gradual de MOA. À medida que o solo caminha para a sua maturidade gênica, a quantidade de MO mineralizada aumenta até equilibrar a quantidade de húmus que se forma. Nessa ocasião os dois processos, adição de MO nova (liter), mineralização e humificação atingem a mesma proporção (Hayes 1991).

A Figura 1.1. a seguir mostra as frações da matéria orgânica.

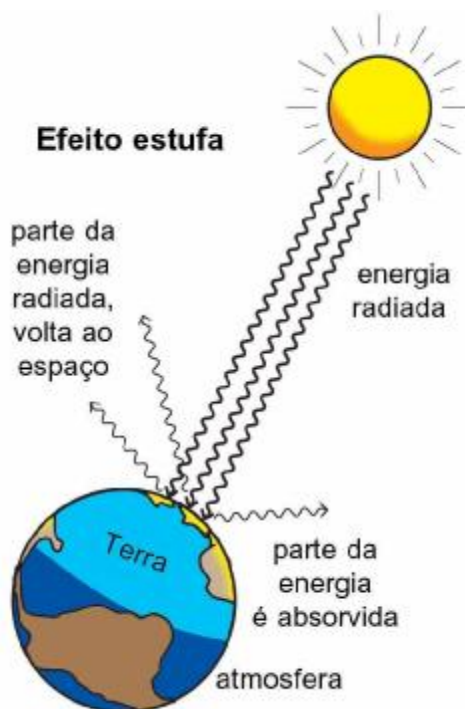
FIGURA 1.1: FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGÂNICA.



1.3 O Efeito Estufa

Dados obtidos em amostras de árvores, corais e outros métodos indiretos, sugerem que as atuais temperaturas da superfície da Terra são maiores do que em qualquer época dos últimos 600 anos (Bndes, 2002). Este fato tem sido atribuído a gases, distribuídos na atmosfera terrestre, que agem como a cobertura de uma estufa sobre o planeta. A Terra absorve radiação do sol, principalmente na forma de luz visível, de elevada energia, e emite radiação de baixa energia (luz infravermelha) para o espaço, completando assim o balanço de energia radiante. As moléculas dos gases do efeito estufa absorvem a luz infravermelha vibram e aquecem o ar, redirecionando a radiação não absorvida de volta para a Terra ou para o espaço (Bndes, 2002). A radiação infravermelha convertida em calor provoca o aquecimento global (Figura1.2).

FIGURA 1.2: AÇÃO DOS GASES NO EFEITO ESTUFA.*



*www.escolavesper.com.br

Outras conseqüências adversas do “efeito estufa”, vêm sendo sinalizadas e já percebidas nos dias atuais, como o aumento do nível do mar; a alteração no suprimento

de água doce, o maior número de ciclones, tempestades, neve fortes e mais frequentes e o forte e rápido ressecamento do solo (Bndes, 2002).

1.2.1 O Seqüestro de Carbono

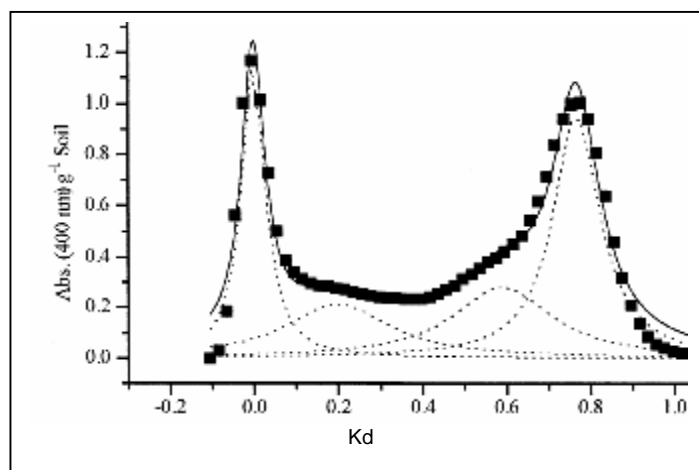
O conceito de seqüestro de carbono foi consagrado pela Conferência de Kyoto, em 1997, com a finalidade de conter e reverter o acúmulo de CO₂ na atmosfera, visando à diminuição do efeito estufa (Rocha e colaboradores, 2004). A conservação de estoques de carbono nos solos, florestas e outros tipos de vegetação, a preservação de florestas nativas, a implantação de florestas e sistemas agroflorestais e a recuperação de áreas degradadas são algumas ações que contribuem para a redução da concentração do CO₂ na atmosfera (Rocha e colaboradores, 2004). Os resultados do efeito de seqüestro de carbono podem ser quantificados através da estimativa da biomassa das plantas acima e abaixo do solo, do cálculo de carbono estocado nos produtos madeireiros e pela quantidade de CO₂ absorvido no processo de fotossíntese e da MOS (Rocha e colaboradores, 2004). Para se proceder à avaliação dos teores de carbono dos diferentes componentes da vegetação (parte aérea, raízes, camadas decompostas sobre o solo, entre outros) e, por conseqüência, contribuir para estudos de balanço energético e do ciclo de carbono na atmosfera, é necessário, inicialmente, quantificar a biomassa vegetal de cada componente da vegetação (Rocha e colaboradores, 2004). Uma fonte de erros relacionados à avaliação do carbono realmente seqüestrado está na falta da caracterização das estruturas orgânicas do solo. Normalmente os teores de carbono são determinados por queima da MOS.

1.4 Plantio Direto (PD)

A necessidade de preservação ambiental tem sido enfatizada em diversas esferas de discussão, e sua importância é inquestionável. A conservação do solo, adotando-se práticas que reduzam a decomposição da MO, é louvável e de extrema necessidade. O tipo de manejo agrícola do solo chamado plantio direto (PD) foi desenvolvido, no Brasil, na década de 70, no Município de Rolândia, Norte do Paraná

(Novotny, 1997). O manejo chamado plantio convencional, com revolvimento do solo pelo uso do arado, facilitando a decomposição da MO por exposição ao sol, foi trazido para o Brasil pelos colonizadores europeus (Novotny, 1997). Na Europa, como os microrganismos da superfície do solo são inativados durante o inverno, é necessário se revolver o solo na primavera para se trazer os microrganismos das camadas mais profundas do solo. Expostos agora ao calor do sol, os microrganismos atuam, refazendo a vida na superfície do solo (Caetano, 2002). Isto não é necessário nos países de clima tropical e semitropical, onde o inverno não é tão intenso. O plantio direto, ao evitar o revolvimento excessivo do solo, proporciona condições de altas produtividades e reduz também as perdas de MO por mineralização, minimizando a emissão de CO₂ à atmosfera (Caetano, 2002). O plantio direto é uma técnica de cultivo conservacionista na qual se procura revolver o solo ao mínimo, conforme dito acima, mantendo-o sempre coberto por resíduos vegetais, protegendo o solo do impacto direto da luz e calor, das gotas da chuva e dos ventos, reduzindo a mineralização intensa e as erosões hídrica e eólica (Caetano, 2002). Efetivamente, se poderia considerar o plantio direto como um cultivo mínimo, visto que o preparo do solo limita-se à ligeira operação de gradagem, semeadura, adubação e eventualmente aplicação de herbicidas em uma única operação. No plantio direto o distúrbio total provocado limita-se ao requerido à adequada colocação das sementes (Novotny, 1997). É um sistema em plena consolidação no Brasil. Na safra 2004/2005, dos 47 milhões de hectares plantados, 25 milhões foram sob o manejo PD (Graziano, 2005). Um exemplo desse tipo de manejo é mostrado na figura a seguir:

FIGURA 1.5 CROMATOGRAMA POR SEC DE SH DE SOLO: ■ PONTOS EXPERIMENTAIS; FAIXAS DE TAMANHOS MOLECULARES SEMELHANTES OBTIDAS POR DECONVOLUÇÃO (NOVOTNY, 1999).



As SH apresentam uma “coleção” de moléculas proximamente relacionadas. Não é possível separar SH em compostos puros. Têm sido parcialmente fracionadas por cromatografia de exclusão por tamanho (SEC), ou seja, considerando-se os tamanhos moleculares (Figura 1.5). Mesmo em se tratando de frações homogêneas, ainda assim são conjuntos de moléculas com faixas de pesos moleculares relativamente amplas (Novotny, 1999).

1.5.1 Estrutura e Propriedades Químicas das Substâncias Húmicas

As SH são misturas brutas que ainda não foram separadas em frações razoavelmente puras. Em consequência, os dados obtidos de degradações químicas, espectroscopias, e afins devem ser interpretados com cuidado (Stevenson, 1994). Assim, em uma amostra de substâncias húmicas, por exemplo, somente algumas das moléculas podem apresentar fluorescência; somente uma proporção pequena contribuirá a um sinal de ressonância eletrônica paramagnética, isto é, somente algumas moléculas reagirão a um dado experimento (Stevenson, 1994). Usando os resultados de vários procedimentos químicos e físico-químicos de substâncias húmicas, é possível identificar grupos funcionais, ligações, alguns componentes estruturais, etc.

Entretanto, não é possível atribuir estes a uma molécula ou a posição particular dentro de uma molécula.

Um grande número de técnicas, tais como as espectroscopias [ressonância magnética nuclear (RMN), em estado líquido ou sólido, espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica, espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espectrometria de massa, espectroscopia no ultravioleta (UV), dentre outras], têm sido usadas na identificação de componentes das SH.

De acordo com Stevenson (1985), uma molécula do “tipo” ácido húmico consiste de micelas de natureza polimérica, de estrutura básica na qual um anel aromático do tipo di ou tri hidróxi-fenol é ligado por -O-, -CH₂-, -NH-, -N=, -S-, e outros grupos, contendo tantos grupos OH livres como ligações duplas de quinonas.

Outros componentes estruturais têm sido identificados, como açúcares e aminoácidos, a partir de hidrólises. Baseado em dados espectroscópicos, o núcleo de materiais húmicos parece conter alto conteúdo de aromáticos/fenólicos, bem como ácidos carboxílicos e grupos funcionais hidroxil (Stevenson, 1994).

1.5.2 Extração das Substâncias Húmicas de Solo

Para se estudar a estrutura de qualquer produto natural, é necessário isolá-lo de seu ambiente natural e purificá-lo. Entretanto, isto não ocorre facilmente quando se trata de substâncias húmicas (Clapp e colaboradores, 1993). Como já mencionado SH são polieletrólitos extremamente complexos, associados a colóides inorgânicos e outros componentes do solo (Stevenson, 1994). De acordo com Clapp e colaboradores (1993) os procedimentos usados para isolar SH devem levar em consideração a composição das moléculas, os meios pelos quais estão associadas umas com as outras e com os colóides inorgânicos do solo. Em função de que não há nenhuma evidência do controle genético ou biológico da síntese das substâncias húmicas, seria inviável tentar isolar as moléculas húmicas que são homogêneas com relação à composição e à estrutura. Os procedimentos de extração representaram sempre a etapa mais crítica no estudo de substâncias húmicas de solo (Clapp e colaboradores, 1993).

Vários métodos têm sido propostos para o isolamento e o fracionamento da MOS (Flaig e colaboradores, 1975; Hayes e Swift, 1978; Schnitzer, 1978) e os princípios envolvidos nestas metodologias de fracionamento de SH são descritos em Swift (1985). O fracionamento se refere à subdivisão da SH baseado em alguma das propriedades da sua composição molecular. De acordo com Swift (1985) ainda há alguns pesquisadores que propõem o fracionamento de SH com o objetivo de serem recompensados com compostos identificados razoavelmente puros. Em função de que SH são uma mistura, não é sensato esperar isolar um composto puro. Na sua maioria, o fracionamento pode somente diminuir a heterogeneidade do sistema tanto quanto possível. Na maioria dos casos o fracionamento é realizado após a extração para facilitar o entendimento das estruturas que compõem as SH realizando-se posteriores análises. É usado assim como uma etapa preliminar às medidas espectrais.

Hayes e Swift (1978) sugeriram que a extração seqüencial fornece um refinamento adicional aos procedimentos, obtendo-se assim frações menos heterogêneas da matéria orgânica de solo; e que os solventes não-polares, seguidos por solventes apróticos dipolares e então por soluções alcalinas, fornecem uma boa série de solventes para o isolamento e fracionamento simultâneos da matéria orgânica de solo (Hayes e Malcolm, 2001).

Idealmente, os métodos usados para a extração das substâncias húmicas do solo não devem alterar quimicamente a matéria húmica e o produto final deve estar livre de contaminantes orgânicos e inorgânicos (Hayes, 1985; Stevenson, 1994). O tratamento com HCl, utilizado como pré-tratamento na metodologia de extração adotada pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas ("IHSS") para isolar ácidos húmicos (AH) e ácidos fúlvicos (AF), pode resultar na formação de artefatos (Malcolm, 1976; Grøn e Raben-Lange, 1992) afetando assim os rendimentos totais dos produtos húmicos (Garcia e colaboradores, 1993). O tratamento de HCl/HF é usado geralmente para remover os contaminantes inorgânicos das SH, e é também usado para retirar as "cinzas" dos padrões húmicos de solo no procedimento sugerido pela IHSS.

1.5.3 Huminas

A fração humina das SH era, ou é descrita quimicamente como sendo constituída de macromoléculas estáveis, intimamente ligadas aos colóides inorgânicos do solo, por isso a forma mais estável da MO no solo (Rice, 2001). Recentemente, no entanto, verificou-se que a estabilidade das HU está muito mais relacionada com a inacessibilidade delas aos microrganismos do solo por proteção devido à interação com os colóides inorgânicos do solo do que com a estabilidade química proporcionada por suas estruturas orgânicas (Hayes e colaboradores, 2005; Lombardi e colaboradores, 2006). Historicamente, as HU têm gerado relativamente pouca pesquisa quando comparadas com as outras frações húmicas. Rice (2001) mostra que nos volumes do “Chemical Abstract”, 1 – 130, sob a palavra chave, humic, apareceram, 11.849 citações de AH, 4.200 citações sobre AF e 759 citações de HU.

Rice (2001) mostrou a importância do maior conhecimento das estruturas das HU e de suas interações com os colóides inorgânicos do solo, para o entendimento da atuação da MOS no seqüestro de carbono e da perenidade, ou restabelecimento, das boas características agrícolas dos mesmos. Com aplicações de método de análise, usando metil-isobutilcetona, Rice e MacCarthy (1989, 1990) deduziram que a HU é uma mistura de lipídeos com estruturas húmicas.

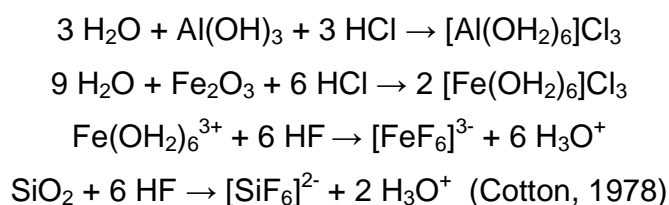
A escolha da fração humina das SH, analisada nesta dissertação, deve-se ao fato de que essa é a fração das SH menos estudada (Rice, 2001), se comparada com as outras frações, AH e AF. Como essa é a fração mais estabilizada das SH, por estar intimamente ligada aos colóides inorgânicos do solo, provavelmente as huminas são as principais responsáveis pelo seqüestro de C no solo.

1.5.3.1 Isolamento da Humina

A histórica relutância ao estudo da HU pode provavelmente ser atribuída a sua insolubilidade (Rice, 2001). Uma definição é que a HU é o resíduo do carbono orgânico que permanece na amostra depois da extração de AH e AF (Kononova, 1966; Schnitzer and Khan, 1982; Stevenson, 1982; Aiken e colaboradores, 1985). Este resíduo contém HU dispersa em grande teor de matéria inorgânica (MI), que compreende a matriz de

solos e sedimentos. Assim, têm-se dificuldades no estudo das HU, por exemplo, por espectroscopia de ^{13}C -NMR no estado sólido, devido ao alto nível de impurezas e aos componentes inorgânicos paramagnéticos. Estas dificuldades transformam-se em obstáculos intransponíveis para amostras de solos tropicais e, ou, subtropicais, como é o caso da maior parte dos solos brasileiros, devido à presença de espécies paramagnéticas como os íons Fe^{3+} em altos teores (Rice, 2001).

Para isolar o carbono orgânico da HU do resíduo inorgânico, são utilizadas solução de HF/HCl com a finalidade de dissolver óxidos metálicos e silicatos. Algumas possibilidades de reações são:



Este procedimento é quimicamente agressivo, resultando em possíveis modificações da MO, com a hidrólise ácida identificada como a mais pronunciada alteração. O pesquisador deverá optar por amostra com maior teor de cinzas, ou com a MO mais preservada de modificações.

1.6 Métodos Espectroscópicos

1.6.1 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)

O princípio da RPE ou EPR (Electron Paramagnetic Resonance) é o da absorção de radiação, na frequência de microondas, por moléculas, íons ou átomos possuindo elétrons com spins desemparelhados e outros centros paramagnéticos submetidos a campos magnéticos (Novotny, 1997; Drago, 1992). A técnica de EPR baseia-se na existência de um momento magnético líquido de spin associado ao elétron (Parish, 1990). Substâncias diamagnéticas, ou seja, aquelas que não possuem elétrons desemparelhados, não podem ser detectadas por EPR, e, portanto não interferem nos experimentos envolvendo substâncias paramagnéticas. (Mangrich, 1998).

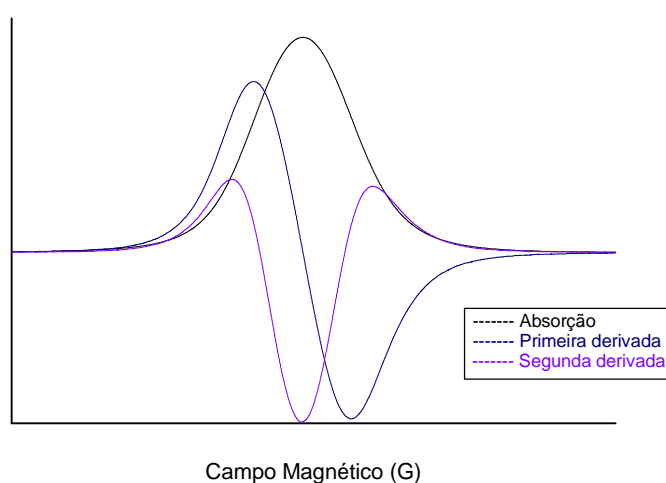
Pela espectroscopia de EPR pode-se analisar, não destrutivamente, amostras sólidas, líquidas, gasosas e em solução. Em geral pequenas quantidades de amostras, na faixa de 5 a 100 mg, são suficientes.

É uma técnica extremamente sensível, que sob condições favoráveis, leva o limite de detecção para centros paramagnéticos ao intervalo de 10^{11} a 10^{12} spins.g⁻¹, o que equivale à parte por bilhão. A resolução, porém é perdida quando os centros paramagnéticos estão próximos o suficiente para que ocorra significativa interação dipolar magnética entre eles. Logo esta técnica aplica-se, primariamente, à caracterização de espécies magneticamente diluídas (Goodman, 1994).

As espécies paramagnéticas mais comumente observadas incluem radicais livres orgânicos, complexos metálicos paramagnéticos, e estados tripleto excitados de moléculas diamagnéticas (Bunce, 1987).

Geralmente os espectros de EPR são adquiridos na forma da primeira derivada do espectro de absorção. A resolução pode ser melhorada pela aquisição do espectro em segunda derivada, entretanto a relação sinal-ruído em espectroscopia diminui geometricamente com sucessivas derivações. A Figura 1.6 a seguir apresenta os espectros de absorção, primeira derivada e segunda derivada, para uma espécie paramagnética com spin eletrônico $S = \frac{1}{2}$.

FIGURA 1. 6 – COMPARAÇÃO* ENTRE A CURVA DE ABSORÇÃO, PRIMEIRA DERIVADA E SEGUNDA DERIVADA DE UM EXPERIMENTO DE EPR PARA UMA AMOSTRA CUJO SPIN ELETRÔNICO $S = \frac{1}{2}$.

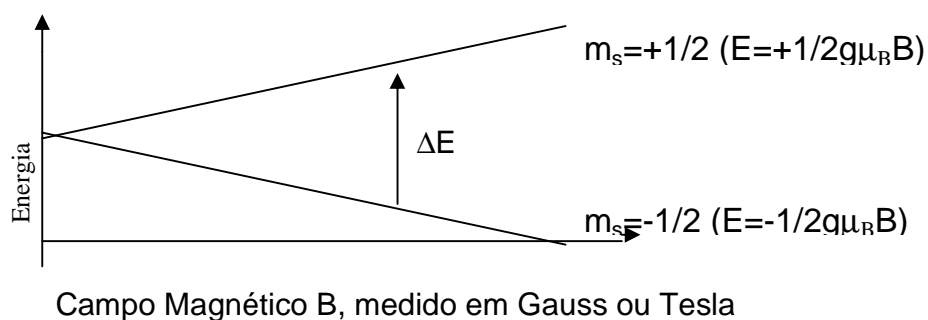


O fenômeno físico básico implícito à espectroscopia de EPR é o efeito Zeeman, que envolve a interação entre o spin de um elétron desemparelhado e um campo magnético externo (Goodman, 1994). Elétrons não submetidos a campos cristalinos ou magnéticos externos estão alinhados aleatoriamente e os dois estados de spin ($m_s = \pm 1/2$) são equivalentes em energia, ou seja, estão degenerados. Porém na presença de um campo magnético externo eles assumem $2S + 1$ (multiplicidade) diferentes orientações, distinguidas pelo número quântico m_s , onde S é o spin total resultante. No caso aqui discutido tem-se que a multiplicidade é igual a 2, dados por $m_s = +1/2$ e $m_s = -1/2$. A energia relativa destes dois níveis é proporcional ao campo magnético aplicado e é dada por:

$$E_{m_s} = g \mu_B B m_s \quad (3)$$

onde μ_B é o magneton de Bohr ($9.2731 \times 10^{-24} \text{ J T}^{-1}$), às vezes representado também por β_e , e B o campo magnético, que pode ser representado também pela letra H . A separação de energia entre os estados de spins (Figura 1.7) é chamada de separação Zeeman e a constante de proporcionalidade, g , é conhecida como fator- g ou valor- g . Ele tem um valor de 2,0023 para um elétron livre e é representado por g_e , porém, em sistemas químicos o elétron desemparelhado ocupa um orbital que pode ser mais ou menos localizado em um átomo simples ou pode ser grandemente deslocalizado na molécula ou radical. O fator $-g$ reflete a natureza deste orbital. Ele pode variar de acordo com a orientação do orbital contendo o elétron desemparelhado em relação ao campo magnético externo aplicado (anisotropia). Portanto, três valores característicos, g_x , g_y e g_z , podem ser obtidos, e estes valores fornecem informações a respeito dos eixos principais de simetria do orbital contendo o elétron desemparelhado. No caso de simetria axial, $g_x = g_y$ e ambos são designados por g_{\perp} (g perpendicular), e g_z é designado g_{\parallel} (g paralelo) (Goodman, 1994).

FIGURA 1. 7 – PERDA DA DEGENERESCÊNCIA DOS ESTADOS DE SPIN PARA UM SISTEMA DE $S = \frac{1}{2}$, PELA APLICAÇÃO DE UM CAMPO MAGNÉTICO (EFEITO ZEEMAN).



Em solução as moléculas possuem movimento de rotação, e quando a agitação térmica atinge taxas consideravelmente maiores do que a frequência de operação do espectrômetro, qualquer anisotropia é promediada a zero durante o tempo requerido para excitar-se o sistema e em qualquer instante o conjunto de moléculas terá todas as possíveis orientações em relação ao campo magnético externo. Nestas condições o espectro resultante será “aparentemente” isotrópico e terá apenas um fator-g.

Quando a solução é congelada, ou se a amostra é um pó, todas as possíveis orientações ocorrerão aleatoriamente, contudo as posições moleculares são mantidas. Cada molécula, com uma orientação particular terá seu próprio fator-g. O espectro resultante da amostra é a soma dos espectros individuais de cada molécula. No caso de simetria axial, em base puramente estatística, haverá poucas moléculas com o eixo principal de simetria paralelo ao campo magnético externo, e muitas perpendiculares. Assim, a intensidade da linha do espectro, em primeira derivada, correspondente ao g_{\parallel} será menor, enquanto a linha do g_{\perp} passará por zero e será de maior intensidade (Parish, 1990).

1.6.1.2 EPR de Ácidos Húmicos

Uma das principais informações a respeito das SH é o grau de humificação. O grau de humificação está associado à estabilidade e complexidade das moléculas de SH, o que significa cadeias maiores com maior quantidade de grupos aromáticos. A técnica de espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR), permite a

caracterização de sistemas com um ou mais elétrons desemparelhados. A técnica de EPR é usada com as SH para identificar e quantificar radicais livres semiquinonas e metais de transição (Martin Neto e colaboradores, 1991; Martin Neto e colaboradores, 1998). As semiquinonas podem ser produzidas pela redução de *orto*- e/ou *para*-quinonas ou pela oxidação de *orto*- e/ou *para*-difenois como mostra a Figura 1.8.

Espectros de EPR de AH possuem características comuns; apresentando sinal de radical livre orgânico (RLO) em $g \cong 2,00$, linhas largas $g = 9,0$ e $4,3$, atribuídas ao íon Fe^{3+} em sítio tetraédrico ou octaédrico em spin alto e campo cristalino de simetria rômbrica, sugerindo que os íons $Fe(III)$ estejam fortemente ligados e protegidos dentro das estruturas das SH. Um outro conjunto comum nos espectros de MOS é o do sexteto de linhas devido aos íons $^{55}Mn(II)$. Cada linha é separada da próxima por cerca de 100 G ($A = 100$ G) e o fator $g = 2$ como mostra a Figura 1.9 a seguir.

FIGURA 1.8 - SEMIQUINONAS PRODUZIDAS PELA REDUÇÃO DE QUINONAS OU PELA OXIDAÇÃO DE ORTO- E PARA-DIFENÓIS.

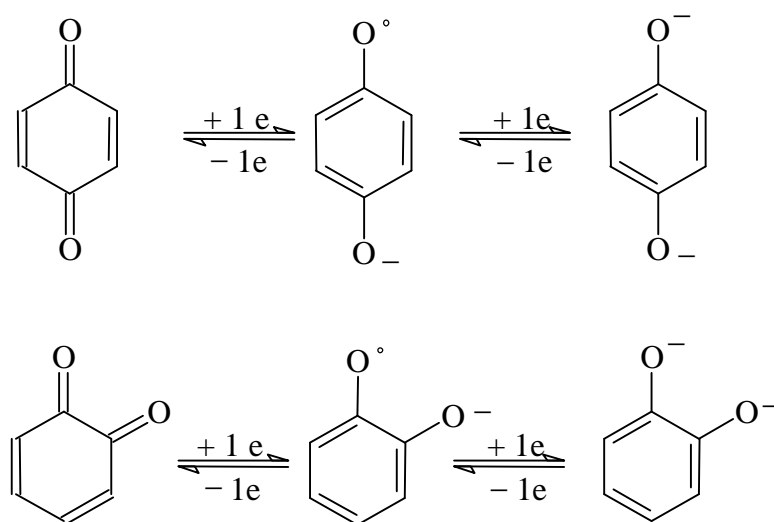
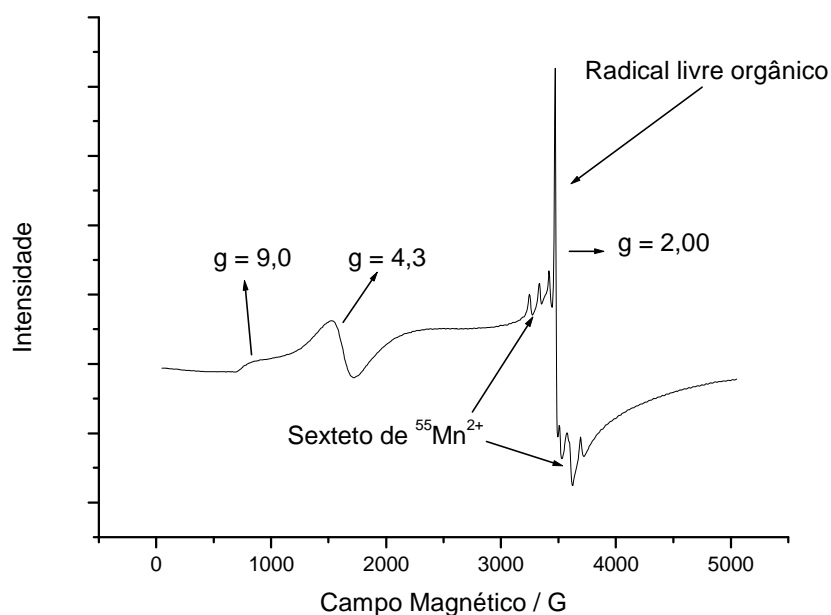


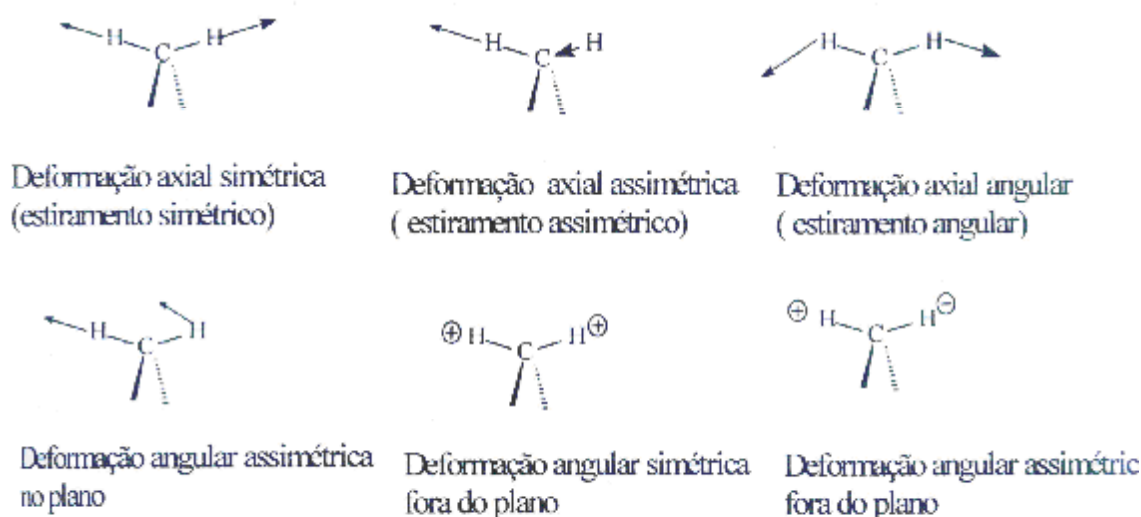
FIGURA 1.9 - ESPECTRO TÍPICO DE EPR DE AH.



1.6.2 Espectroscopia no Infravermelho por Reflectância Difusa (DRIFTS)

A interação da radiação infravermelha com uma molécula envolve a interação de um componente oscilante do campo elétrico da radiação com o momento de dipolo elétrico oscilante da molécula. Assim, para moléculas absorverem radiação infravermelha como energia de excitação vibracional é necessário haver mudança em seu momento de dipolo elétrico (Drago, 1992). Quando há esta modificação, os compostos absorvem radiação em certas regiões do espectro. Conseqüentemente, moléculas diatômica homonucleares não darão espectro no infravermelho pois estas não possuem momento dipolo. A Figura 1.10 mostra alguns tipos de vibrações que ocorrem em moléculas simples.

FIGURA 1.10: ALGUMAS VIBRAÇÕES DE UM GRUPO METILENO (Harris, 1978).



As bandas na região de 4000 cm^{-1} a 600 cm^{-1} envolvem principalmente vibrações de estiramento e deformação angular, e é onde ocorre a identificação de estruturas aromáticas, alifáticas, de hidroxilas, fenólicas, de carboxilas, de carboxilatos, de polissacarídeos, de aminas, de amidas, etc., bem como suas interações com metais (Drago, 1992).

A idéia de assinalar bandas de grupos funcionais em uma molécula complexa é chamada de “grupo vibracional”. Esta aproximação surge da observação experimental que muitos grupos funcionais absorvem em uma estreita região do espectro na molécula que possui este grupo. Por exemplo, na molécula de acetona um dos modos de vibração é devido ao estiramento C-O, do grupo carbonila. Em varias moléculas são encontradas as absorções do grupo carbonila devido as vibrações de estiramento na região espectral de 1700 cm^{-1} , podendo assim atribuir a presença de carbonila nestas moléculas. A posição da banda pode variar ligeiramente ($\pm 150\text{ cm}^{-1}$) por causa da massa, efeitos indutivos e de conjugação de outros grupos ligados (Drago, 1992).

As análises por espectroscopia no infravermelho têm sido usadas nos estudos de macromoléculas orgânicas complexas como as SH (Schnitzer, 1971; Stevenson, 1982; Inbar e colaboradores, 1989) e para identificar grupos funcionais em SH, como ácidos carboxílicos, aminas, amidas, grupos alifáticos e grupos hidroxilas (Pain, 1990). Desta forma, permite-se obter valiosas informações sobre a natureza e posição dos grupos funcionais nos AH das mais diversas origens. Tem sido usada também para avaliações dos efeitos dos extratores químicos utilizados e o grau de pureza alcançado através dos processos de purificação. Outras aplicações da técnica espectroscópica estão relacionadas com a investigação de possíveis trocas nas estruturas químicas das SH e na indicação de interações com pesticidas, metais e argilas nos ambientes aquáticos, terrestres e na investigação de solos *in situ* (Chen e colaboradores, 1977; Senesi e colaboradores, 1989; Martin-Neto e colaboradores, 1994; Arocena e colaboradores 1995; Kononova, 1966; Schnitzer, 1978; Bravard e colaboradores, 1991; Martin-Neto e colaboradores, 1991; Pérez e colaboradores, 2004; Lombardi e colaboradores, 2006).

Espectroscopia de infravermelho por reflectância difusa com transformada de Fourier (DRIFTS) tem diversas vantagens sobre a técnica tradicional de pastilha de KBr (Fuller e Griffiths, 1978; Baes e Bloom, 1989). É mais rápida pois os espectros de uma amostra em pó podem ser obtidos em menos de um minuto e necessita pouca preparação da amostra (moer é suficiente) sendo superior por mostrar mais fielmente a presença de componentes inorgânicos nos solos (Nguyen e colaboradores, 1991; Rumpel 2001).

A interpretação dos espectros é difícil, devido à influência crescente de componentes inorgânicos do solo com o aumento da profundidade e a sobreposição entre as bandas de absorção individual. Alguns destes problemas podem ser superados usando a subtração espectral de espectros de infravermelho digitais (Painter e colaboradores, 1983), mas infelizmente os picos no infravermelho de solos e MO são freqüentemente demasiado complexos para fornecer dados quantitativos visuais simples (Rumpel, 2001).

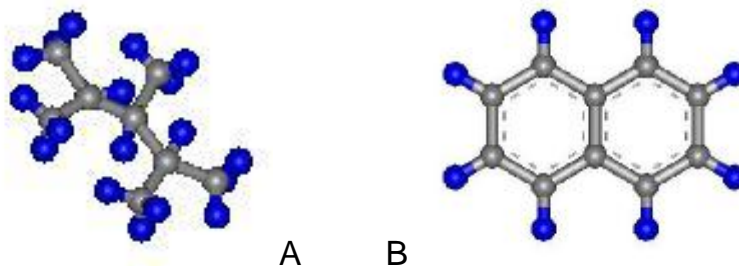
1.6.3 Espectrofotometria no Ultravioleta Visível por Refletância Difusa (DRUV-VIS)

A espectrofotometria de UV-Vis constitui-se em uma técnica útil para a caracterização das mais variadas substâncias e moléculas em misturas complexas como as das SH (Silverstein e colaboradores, 1971). O espectro de UV-Vis permite a identificação de transições de elétrons entre orbitais (transições eletrônicas). Por esta razão, a espectrofotometria de UV-Vis é também chamada de espectrofotometria eletrônica. Como as suas transições eletrônicas ocorrem, muitas vezes, na faixa do visível, os físicos costumam chamá-la também de espectroscopia óptica. Os elétrons de ligações químicas normalmente absorvem energia na faixa do ultravioleta – visível (190 – 800 nm), e os grupos que os contêm são chamados cromóforos, que são grupos insaturados covalentes, responsáveis pela absorção eletrônica, como por exemplo, C=C, C=O ou NO₂. Ligados aos cromóforos estão os auxócromos, grupos saturados, ou átomos, que alteram tanto o comprimento de onda como a intensidade da absorção como, por exemplo, OH, NH₂ e Cl (Silverstein e colaboradores, 1971).

1.6.3.1 Absorção de Luz por Substâncias Húmicas

A absorção de luz pelas SH é o fenômeno responsável pela cor escura que elas apresentam. É importante porque mantém organismos do solo e raízes livres da incidência direta da luz solar, além de controlar a temperatura do solo dentro de certo equilíbrio (Mangrich, 2000). Existem SH menos escuras (tonalidade marrom) e SH totalmente pretas. Estas características são conseqüências da estrutura orgânica das SH. As estruturas orgânicas serão mais aromáticas (maiores teores de anéis benzênicos) ou mais alifáticas (Figura 1.11).

FIGURA 1. 11 - ESTRUTURA ORGÂNICA: (A – ALIFÁTICA; B – AROMÁTICA).



Estruturas aromáticas são representadas pelo benzeno, por seus derivados com substituintes, ou por cadeias condensadas de dois ou mais anéis aromáticos fundidos. Estruturas orgânicas alifáticas são constituídas por cadeias hidrocarbônicas abertas, ramificadas, cíclicas não aromáticas, saturadas ou insaturadas.

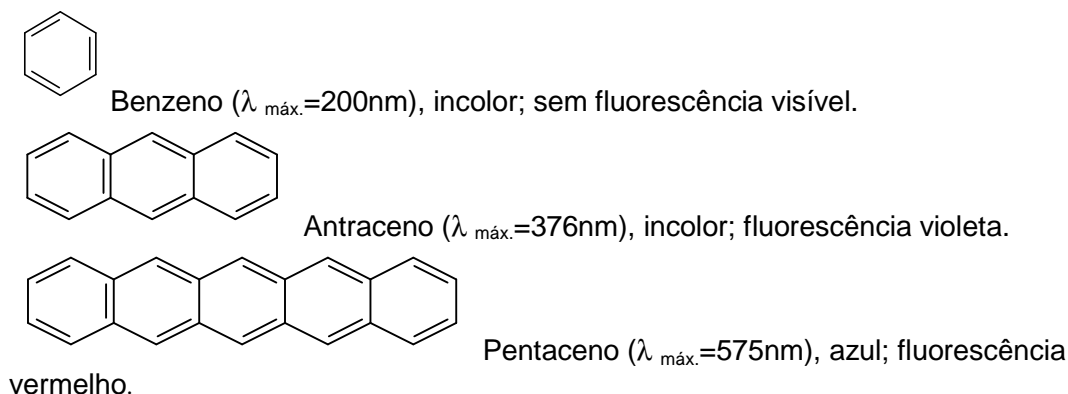
O tipo de luz absorvida pela molécula depende da sua estrutura eletrônica. Os elétrons ocupam orbitais (níveis de energia eletrônicos) das moléculas. Os orbitais mais comuns envolvidos nas transições eletrônicas responsáveis pela absorção de luz são os seguintes, na ordem crescente de níveis de energia: orbital sigma ligante (σ) < orbital pi ligante (π) < orbital não ligante (n) < orbital pi antiligante (π^*) < orbital sigma antiligante (σ^*). Sempre que houver uma única ligação química numa estrutura orgânica, esses dois elétrons da ligação química estarão ocupando um orbital σ . Em ligações químicas insaturadas, além do orbital σ existe também orbital π . As duplas ligações nos compostos aromáticos são formadas por um orbital σ e um orbital π . Os elétrons que não estão formando ligações químicas numa molécula ocupam orbitais n . Os elétrons recebem fótons de luz e são transferidos dos orbitais ligantes, ou não ligantes, para orbitais antiligantes. Assim, uma transição $n \rightarrow \pi^*$ requer luz de menor energia (comprimento de onda maior) que uma transição $\pi \rightarrow \pi^*$, e esta requer luz de menor energia que para a transição $\sigma \rightarrow \sigma^*$, que só ocorre na região do ultravioleta de maior energia. A energia E de um orbital numa molécula é dada pela expressão:

$$E = \frac{n^2 h^2}{8ml^2}, \quad (\text{Eq. 8})$$

onde E é a energia do nível considerado, n é o nível de energia que pode ter valores, 1,2,3,... n , h é a constante de Planck, igual a $6,62607 \times 10^{-34}$ J.s, $m = 9,109389 \times 10^{-31}$ kg, é a massa do elétron, e l , é o comprimento da molécula com ligações conjugadas, simples e duplas, sobre as quais o elétron pode se deslocar.

Assim, tendo-se o comprimento de onda de absorção e sabendo-se os níveis dentro dos quais houve a transição, pode-se calcular o tamanho da molécula que apresenta conjugações de ligações químicas, simples e duplas (Mangrich, 2000). Por outro lado, pode-se concluir que estruturas orgânicas, com ligações conjugadas, duplas e simples, absorverão tanto mais luz visível – parecerão mais escuras – quanto maior for o tamanho da cadeia conjugada (Figura 1.12).

FIGURA 1.12 – COMPARAÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA DE ABSORBÂNCIA MÁXIMA $\lambda_{\text{máx}}$, A COR, E A EMISSÃO DE TRES MOLÉCULAS COM 1, 3, E 5 ANÉIS AROMÁTICOS RESPECTIVAMENTE. A EMISSÃO E MUDANÇA DE ABSORÇÃO PARA COMPRIMENTO DE ONDA MAIORES COM O AUMENTO DA CADEIA CONJUGADA (ref.).



1.6.4 Difração de Raios-X (XRD)

Os raios-X, radiação eletromagnética com comprimento de onda da ordem de 10^{10} m, são gerados pelo bombardeio de um metal por elétrons de alta energia. Os elétrons são desacelerados ao penetrar no metal e geram radiação num intervalo contínuo de comprimento de onda, a radiação de frenamento.

Os máximos de difração de raios-X (devido à interferência construtiva em uma família de planos de uma rede cristalina) ocorrem quando a direção de uma onda incidente, medida em relação à superfície de um plano de átomos, e o comprimento de onda da radiação obedecem a lei de Bragg (Atkins, 1999):

$$n\lambda = 2d \sin\theta$$

onde d é a distância entre os planos, θ é o ângulo de incidência, n as ordens das reflexões e λ é o comprimento de onda do raio X. A lei de Bragg é usada primordialmente na determinação do espaçamento entre os planos da rede do cristal, pois a distância pode ser calculada quando θ for determinado experimentalmente.

A técnica de difração do pó é usada para identificar amostras de substâncias sólidas, comparando-se as posições e intensidades das linhas de difração com as de um grande número de dados devidamente registrados, assim a técnica é útil na identificação de minerais ou macromoléculas orgânicas e elucidação de suas estruturas (Atkins, 1999 em Paixão, 2003).

1.6.5 Análise Elementar (C, H, N)

As características físicas e químicas de SH dependem de muitos fatores, dentre os quais pode-se citar a procedência do material original, condições climáticas (zona tropical, subtropical, moderada ou fria), acidez e o grau de umidade do solo, podendo variar em relação à composição elementar (Kononova, 1966).

Portanto, as análises de C, H, N são importantes para se inferir a respeito do tipo de estrutura e funções orgânicas das moléculas que compõem as SH de diferentes ambientes. Por exemplo, valores altos de razão atômica H/C sugerem estruturas mais alifáticas, enquanto que valores baixos indicam maior aromaticidade (Budziak, 2002).

1.6.6 Análises Quimiométricas

A caracterização das amostras por análises químicas e espectroscópicas fornece um grande número de variáveis. Somente pela técnica de infravermelho, cada amostra analisada na faixa média do espectro (4000 a 400 cm^{-1}), em resolução de 2 cm^{-1} , por exemplo, produz 1800 variáveis.

São assim, 1800 comprimentos de ondas diferentes com as 1800 intensidades de absorção ou transmissão, respectivamente.

Além do volume de trabalho, na análise individual de cada variável (univariada) se perde as informações da variância total dos dados e de como essas variáveis se intercorrelacionam. O modelo estatístico de métodos multivariados considera a correlação entre essas variáveis permitindo a extração de uma quantidade maior de informações (Adams, 1995; Pereira, 2004).

A análise de componentes principais (PCA, do inglês “principal component analysis”) é um método exploratório que tem como objetivo separar as informações importantes das redundantes pela redução dos dados a partir da combinação linear das variáveis originais gerando um novo conjunto de variáveis pela decomposição dos dados da matriz X (onde as linhas são as amostras e as colunas são as variáveis) em uma soma de matrizes (novas variáveis chamadas de Componentes Principais). Essas novas matrizes, as PC, são produtos de vetores chamados de “scores” e “loading”. A primeira componente (PC1) é definida na direção de máxima variância do conjunto de dados. A PC2 é definida na direção que descreve a máxima variância no espaço da PC1, de forma que cada componente principal (PC1, PC2 PC3, etc.) é responsável pela fração sucessiva de variância dos dados consistindo num sistema de coordenadas ortogonais entre si e, portanto, não correlacionadas. As primeiras PC explicam a maior parte da variância dos dados e podem ser usadas para representá-los (Wold e colaboradores, 1987 e Geladi e colaboradores, 1989).

Muitos trabalhos procuram aplicar esse tipo de estratégia para avaliar características intrínsecas à fertilidade do solo e comparar as condições de manejo. Estes trabalhos permitem, por exemplo, classificar solos de acordo com sua fertilidade (Nolin e colaboradores, 1989, Euterhues e colaboradores, 2003 e Rumpel, 2001), com o tipo de manejo (Novotny 1997, 1999), comparar nutrientes de plantas e solos (Németh e colaboradores, 1993), determinar os fatores que controlam a mineralização de nitrogênio em solos úmidos (González-Prieto e colaboradores, 1992), a desnitrificação em solos cultivados e não cultivados (Horwath e colaboradores, 1998) e a deterioração de solos semi-áridos pelo uso (Quiroga e colaboradores, 1998). E mais, relacionar

propriedades físicas com a formação de turfa, visando melhorar a qualidade do solo (McCoy, 1998); e constatar que a solução do solo é a principal responsável pela acidificação de solos na região meio-oeste da Suécia (Lundstrom e colaboradores, 1998). Outra aplicação interessante foi o estudo dos parâmetros que controlam a atividade de microorganismos benéficos, visando estabelecer um controle biológico (Duffy e colaboradores, 1997). Métodos quimiométricos foram usados também para verificar diferenças nos parâmetros microbiológicos e químicos em experimentos de longa duração usando lodo biológico como corretivo da fertilidade do solo (Johansson e colaboradores, 1999).

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi o de estabelecer nova metodologia de fracionamento e caracterização da fração humina extraída de solo sob diferentes manejos: floresta nativa predominantemente de Araucárias e plantio direto.

A partir das características químicas e espectroscópicas obtidas desta nova metodologia de fracionamento das huminas procurou-se identificar diferenças entre os dois tipos de manejo.

2.1 Objetivos Específicos

Fracionar a humina utilizando diferentes extratores:

- NaOH/uréia (para separar compostos ácidos das huminas fortemente ligados a matriz inorgânica por ligações de hidrogênio);
- DMSO/HCl (para extrair compostos básicos pouco polares);
- HF/HCl (para eliminar a estrutura sólida da matriz inorgânica e liberar a MO nela intercalada);

Caracterizar as amostras utilizando as técnicas analíticas:

- Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR);
- Espectroscopia no infravermelho por refletância difusa (DRIFTS);
- Espectroscopia no ultravioleta visível por refletância difusa (DRUV-VIS);
- Difração de raios-X (XRD);
- Análise elementar (C, H, N);
- Análise gravimétrica.

Aplicar a análise de componentes principais (PCA) para auxiliar a interpretação dos dados.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Coleta dos Solos

As amostras do solo estudado (latossolo vermelho brúncio) foram coletadas no Município de Castro, PR (Fundação ABC), na latitude de 24°51'24", longitude de 49°55'50" e altitude de 1.028 m como mostra a Figura 3.1 a seguir.

FIGURA 3.1 - FOTO E ESQUEMA DAS ÁREAS DE COLETA DAS AMOSTRAS.



As amostras estudadas foram: 1) solo sob mata nativa (cobertura de vegetação natural típica com presença de Araucária) e, 2) solo sob o manejo de plantio direto, com cobertura de milho, ou trigo, intercalada por soja ou aveia preta, há mais de 12 anos (Figura 3.1).

3.2 Extração das Substâncias Húmicas do solo

As extrações das frações de huminas já foram realizadas por Pereira, 2004, utilizando-se o seguinte procedimento:

Ao solo seco (aproximadamente 1 kg de solo) foi adicionado $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 - 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e ajustado a pH 7,6 utilizando-se $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O solvente extrator foi adicionado ao solo a uma razão de $\sim 2 \text{ L}$ de solução extratora para 1 kg de solo. Após, a amostra foi rolada por aproximadamente 4 horas para maior contato do solvente extrator com o solo. Após, esta mistura é deixada em descanso por ~ 15 horas, para separação bruta do sobrenadante do material sólido. O sobrenadante foi decantado e então centrifugado duas vezes, sendo a primeira a 8000 rpm, por 20 min a 40°C e a segunda a 12000 rpm, por 20 min a 40°C . Após, esta solução que foi centrifugada, foi filtrada (membrana de 0,2 mm) usando aparato de filtros "millipore" (filtro de acetato de celulose) sob pressão de 10 psi de ar. Este processo de filtragem sob pressão foi realizado duas vezes em cada amostra. Os filtros foram limpos várias vezes ao dia, conforme a necessidade. O precipitado proveniente da centrifuga, foi readicionado a amostra inicial (solo + solução extratora) para a próxima extração (2ª extração a mesmo pH). O solo foi novamente extraído, apenas ajustando-se o pH do mesmo a 7,6 com NaOH , sem a adição de pirofosfato de sódio, sendo este processo repetido mais uma vez a pH 7,6 (3ª extração a mesmo pH); isto é, foram realizadas três extrações a pH 7,6 sendo que somente na primeira adicionou-se $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 - 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, na segunda e terceira, o pH apenas foi ajustado a 7,6.

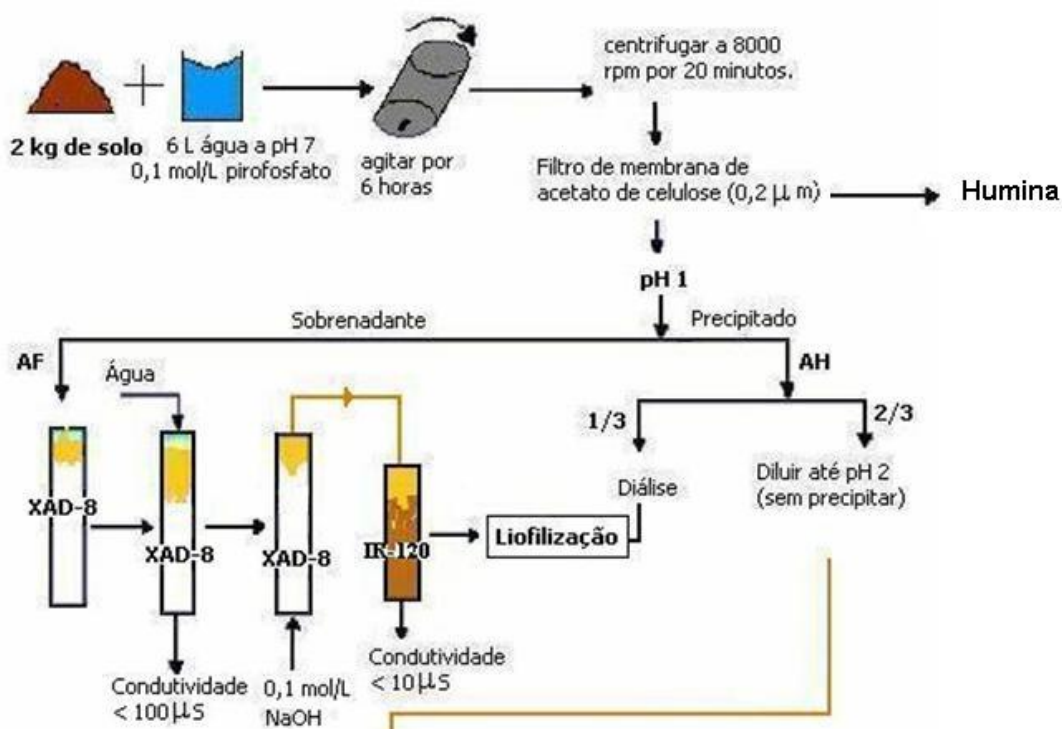
Ao mesmo solo foi então adicionado $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 - 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e ajustado a pH 10,6 com NaOH . Os processos de extração foram repetidos como descritos acima. Anteriormente ao passo filtro de acetato de celulose, o pH da solução foi ajustado a pH 7, usando-se $\text{HCl } 6 \text{ mol L}^{-1}$, prevenindo-se assim a oxidação do material. Este processo foi repetido três vezes, como já citado: na primeira extração a pH 10,6, adicionou-se $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 - 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, na segunda e terceira, o pH da solução apenas foi ajustado a 10,6 utilizando-se $\text{NaOH } 1 \text{ mol L}^{-1}$.

O solo foi então extraído utilizando $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 - 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e ajustando-se o pH a 12,6 com NaOH. Os processos seguintes devem ser rápidos o suficiente para que não ocorra a oxidação da amostra ou então serem realizados sob atmosfera de N_2 . Após a centrifugação, o pH do sobrenadante centrifugado foi novamente neutralizado a pH 7,0 usando $\text{HCl } 6 \text{ mol L}^{-1}$ e filtrado. Esta extração também foi repetida três vezes, como já citado anteriormente.

Os extratos foram subsequentemente centrifugados e passados por filtros de pressão (filtros de $0,2 \mu\text{m}$) e o pH dos extratos foi reduzido a < 2 utilizando-se $\text{HCl } 6 \text{ mol L}^{-1}$ causando assim a precipitação dos AH; estes são separados do sobrenadante (AF) por cuidadosa sifonação como será visto posteriormente.

Uma etapa de purificação foi realizada após a extração utilizando as resinas XAD e IR-120, como mostra a Figura 3.2.

FIGURA 3.2 - PROCEDIMENTO SEQUENCIAL DE EXTRAÇÃO FEITAS NO LABORATÓRIO DE SOLOS DA UNIVERSIDADE DE LIMERICK, IRLANDA (PEREIRA, 2004).



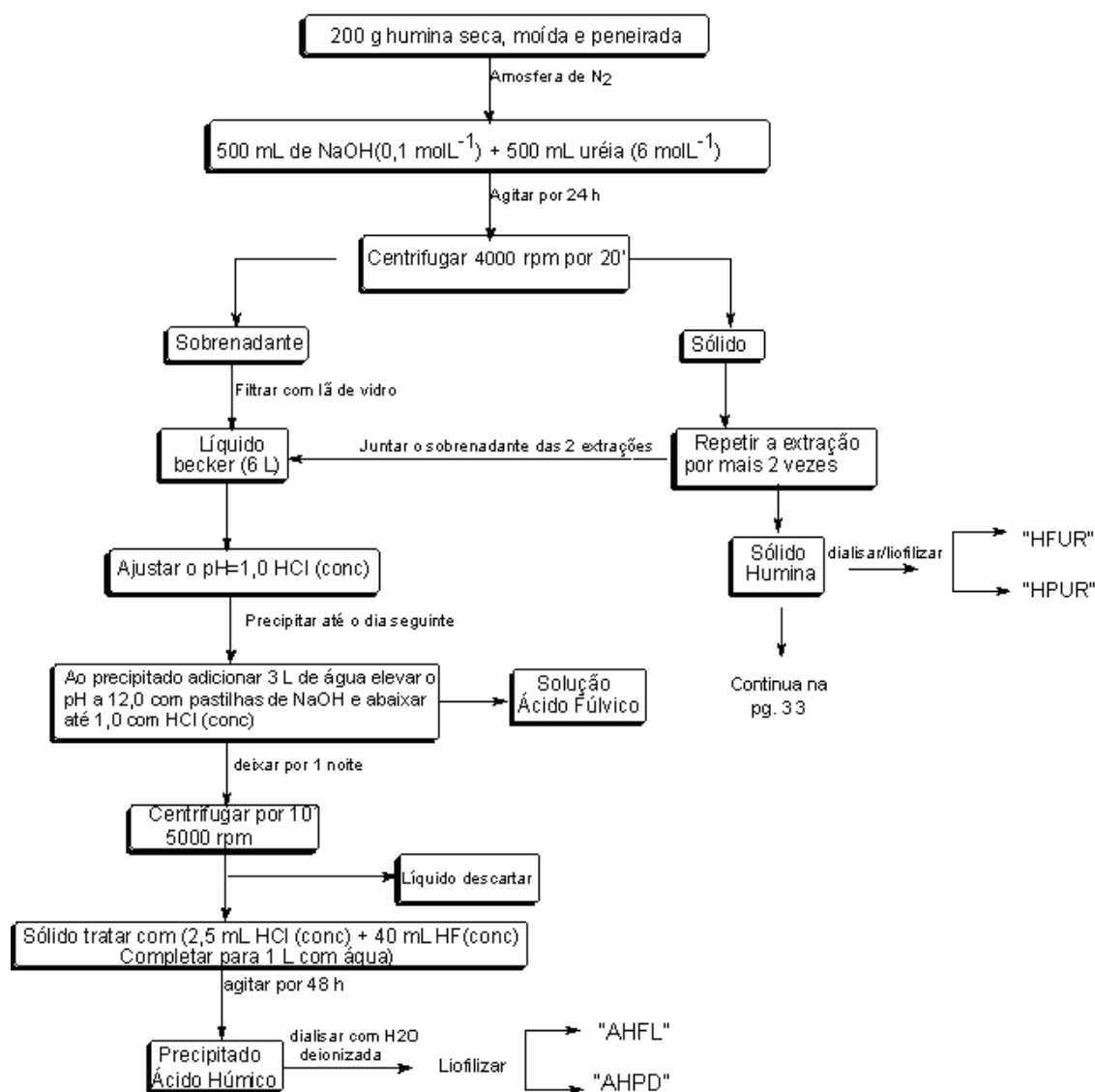
3.3 Metodologia de Fracionamento Utilizada para as Huminas

As huminas analisadas neste estudo foram obtidas anteriormente, por Pereira, 2004 (visto acima). As huminas foram armazenadas a seco e antes do seu armazenamento foram lavadas com água deionizada até pH = 7,0.

3.3.1 Extração da Fração do tipo “AH” extraído das Huminas

À cada uma das huminas secas (aproximadamente 200 g) foram adicionados (em atmosfera de N₂) 500 mL de NaOH (0,1 mol L⁻¹) + 500 mL de uréia (6 mol L⁻¹) com a finalidade de se quebrar as ligações de hidrogênio entre os extratos orgânicos e inorgânicos. Após, a amostra foi agitada por 24 horas para maior contato do solvente extrator com a Humina. A mistura foi centrifugada a 4000 rpm por 30 min. Ao precipitado, proveniente da centrifugação, foi readicionado a solução extratora (NaOH + uréia) para a próxima extração. Após centrifugação, novamente foi adicionado ao precipitado a solução extratora (NaOH + uréia) e o sólido foi guardado para as extrações posteriores. Foram realizadas três extrações com mesma solução extratora. O sobrenadante foi sempre adicionado ao mesmo recipiente. A solução centrifugada foi ajustada a pH = 1,0 com HCl concentrado onde formou-se um precipitado. A mistura foi deixada em descanso por ~ 15 horas, para melhor separação do sobrenadante do material sólido. O sobrenadante adquirido é uma fração do tipo AF. Ao precipitado foi adicionado 3 L de água bidestilada, elevou-se o pH a 12,0 com pastilhas de NaOH e novamente foi acidificado com HCl (concentrado) até pH = 1,0. A mistura foi deixada em descanso por ~ 15 horas. Ao precipitado foram adicionados 2,5 mL HCl (concentrado) + 40 mL HF (concentrado). Após, a mistura foi agitada por 48 horas e centrifugada a 4000 rpm por 30 min. O precipitado foi então dialisado, utilizando-se membranas permeáveis com corte de 14.000 Da. O processo de diálise foi repetido até que o resultado fosse negativo quanto à presença de cloreto na água de diálise (teste com AgNO₃). O sólido foi liofilizado e armazenado em dessecador. Esta é uma fração do “tipo ácido húmico” chamada de “AHFL” (para o solo sob floresta) e “AHPD” (para o solo sob manejo de PD). O fluxograma deste procedimento é mostrado a seguir (Figura 3.3).

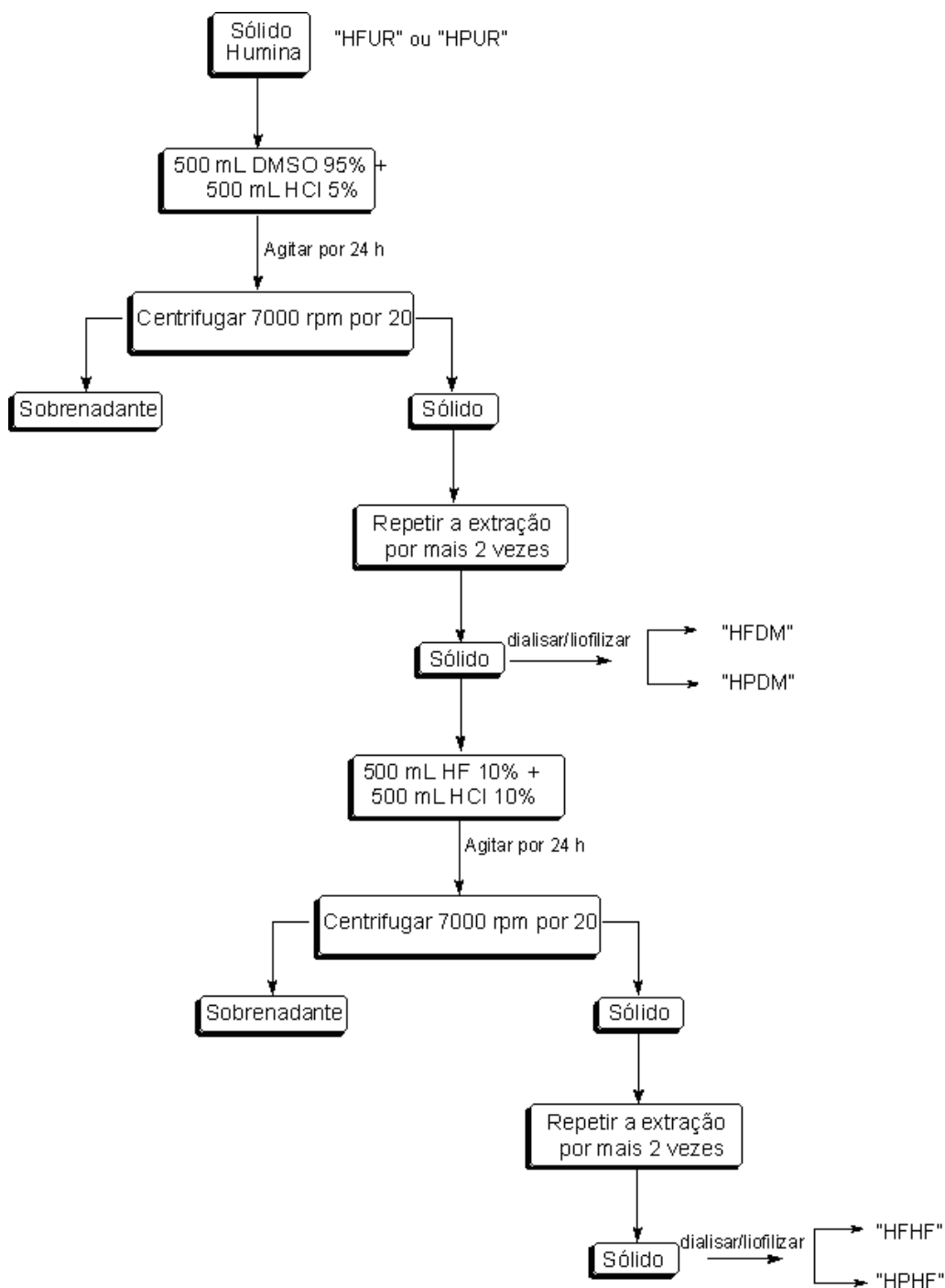
FIGURA 3.3: FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO DA FRAÇÃO DO TIPO "AH" (SOLO SOB PD E SOB FLORESTA)



3.3.2 Extração seqüencial realizada nas Huminas

O resíduo sólido que sobrou da extração com soluções de NaOH/uréia no item 3.3.1 foi dialisado e liofilizado para posterior análises. Esta fração foi chamada de “HFUR” (para o solo sob floresta) e “HPUR” (para o solo sob manejo de PD). Ao sólido “HFUR” ou “HPUR”, foi então adicionado 500 mL DMSO (95%) + 500 mL HCl (5%). A mistura foi agitada por 24 horas e centrifugada a 4000 rpm por 30 min. Ao precipitado foi novamente adicionado a solução extratora por mais duas vezes. Uma porção do material sólido restante foi dialisada e liofilizada para posterior análises, e esta fração foi chamada de “HFDM” (para o solo sob floresta) e “HPDM” (para o solo sob manejo de PD). À outra porção do “HFDM” ou “HPDM” foi adicionado 500 mL HF (10%) + 500 mL HCl (10%). A mistura foi agitada por 24 horas e centrifugada a 4000 rpm por 30 min. Ao precipitado foi novamente adicionado a solução extratora por mais duas vezes. O precipitado foi dialisado e liofilizado, e esta fração foi chamada de “HFHF” (para o solo sob floresta) e “HPHF” (para o solo sob manejo de PD). O procedimento pode ser observado no fluxograma a seguir (Figura 3.4).

FIGURA 3.4: FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO DAS FRAÇÕES "HUMINAS" (SOLO SOB PD E SOB FLORESTA)



3.4 Métodos Utilizados para a Caracterização das Amostras

3.4.1 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)

As análises de espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica foram realizadas no LABEPR do Departamento de Química/UFPR. Os espectros foram registrados em equipamento espectrômetro BRUKER – modelo ESP 300E, com as amostras em tubos de quartzo de 3 mm de diâmetro, em temperatura ambiente (300K) e a 77 K.

3.4.2 Espectroscopia no Infravermelho por Refletância Difusa (DRIFTS)

Os espectros foram registrados em espectrofotômetro Bomem FTIR, série MB₁₀₀. Para as medidas de DRIFTS foi utilizado o acessório Gemini Difuse Reflectance Sampling Head e as amostras foram acondicionadas em celas adequadas. Para cada espectro foram somadas 256 varreduras com resolução de 2 cm⁻¹, na região de 7000 a 400 cm⁻¹. Estas análises foram realizadas no Depto. de Química, UFPR.

3.4.3 Espectroscopia no Ultravioleta visível por Refletância Difusa (DRUV-VIS)

As análises das amostras sólidas foram feitas utilizando-se espectrofotômetro Shimadzu UV-2401PC, equipado com esfera de integração 240-52454-01. Estas análises foram realizadas no LABPAM, Depto. de Química, UFPR.

3.4.4 Difração de raios-X (XRD)

A difração de raios-X foi realizada no Laboratório de DRX do Departamento de Química/UFPR. O equipamento utilizado foi o difratômetro Shimadzu XRD-6000 com radiação Cu-K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), com tensão e corrente de fonte de 40 kv e 40 mA, respectivamente, varrendo 2θ de 10° a 80° e para algumas amostras de 0° a 80°.

3.4.5 Análise de C, H, N

As análises de C, H, N foram realizadas no Laboratório de Microanálise do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos. O equipamento utilizado foi o Fisons mod. EA 1108 CHNS.

3.4.6 Análise Gravimétrica (Perda ao Rubro)

Para determinar a umidade, 1g de amostra foi pesada e colocada em cadinho previamente calcinado e tarado. Os cadinhos com as amostras foram deixados em estufa por uma noite a temperatura de 110 °C. Os cadinhos foram esfriados em dessecador. Pela diferença de massa, determinou-se então a % de umidade.

Aproveitando o cadinho e o material contido na determinação anterior, efetuou-se a análise da matéria orgânica total pelo método da perda ao rubro ou perda combustão.

Os cadinhos foram colocados em forno-mufla a 700 °C, mantidos por quatro horas. Antes de completo resfriamento do forno, retiraram-se os cadinhos para resfriá-los em dessecador e após pesá-los. O teor de cinzas foi determinado considerando o peso do resíduo mineral que restou no cadinho após combustão. O teor de MO foi determinado de acordo com a equação:

$$\%MO = 100 - (\%umidade + \%cinzas)$$

As análises foram realizadas em triplicata, cuja média e desvio padrão (s) seguem a equação:

$$s = \sqrt{\frac{(\sum(x_i - \bar{x}))^2}{n-1}}$$

3.4.7 Análises Quimiométricas

A análises de componentes principais (PCA – “principal component analysis”) foi aplicada aos dados originais utilizando-se o software Matlab 5.0 de propriedade do IQ/UFPR.

3.5 Identificação das amostras

TABELA 01: DESIGNAÇÃO DAS AMOSTRAS ESTUDADAS

Sigla	Amostras
HUFL	Resíduo sólido (humina) da extração do solo sob floresta com NaOH/Na ₄ P ₂ O ₇ *
“AHFL”	Resíduo sólido após tratamento com HCl, do extrato alcalino de HUFL com NaOH/uréia
“HFUR”	Resíduo sólido (“humina”) da extração HUFL com NaOH/uréia.
“HFDM”	Resíduo sólido (“humina”) da extração de “HFUR” com DMSO/HCl.
“HFHF”	Resíduo sólido (“humina”) da extração de “HFDM” com solução de HF/HCl.
HUPD	Resíduo sólido (humina) da extração do solo sob PD com NaOH/Na ₄ P ₂ O ₇ *
“AHPD”	Resíduo sólido após tratamento com HCl, do extrato alcalino de HUPD com NaOH/uréia
“HPUR”	Resíduo sólido (“humina”) da extração HUPD com NaOH/uréia.
“HPDM”	Resíduo sólido (“humina”) da extração de “HPUR” com DMSO/HCl.
“HPHF”	Resíduo sólido (“humina”) da extração de “HPDM” com solução de HF/HCl.

* amostras extraídas por Pereira, 2004.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Análise Gravimétrica

Os resultados de análise gravimétrica mostram diferenças importantes dos dois tipos de manejo de solo no que diz respeito às interações MI-MO (Tabela 02). As “huminas” apresentaram, como esperado, altos teores de cinzas (HUFL, cinzas = 90,3 %; HUPD, cinzas = 85,1 %). No entanto a MO foi hidrolisada pela solução extratora NaOH/uréia, muito mais eficientemente no caso da HUFL (“AHFL”, MO = 99,99 %) que no caso do solo do manejo de plantio direto (“AHPD”, MO = 57,27 %). Essa menor interação da MI-MO na HUFL também se manifesta no tratamento com solução de HF/HCl do resíduo da extração com DMSO/HCl (“HFHF”, MO = 57,26 %; “HPHF”, MO = 50,65 %). Os resultados de análise gravimétrica apontam diferenças entre os dois tipos de manejo, sugerindo maior interação MI-MO nas “huminas” no caso do PD.

TABELA 02: VALORES DE MATÉRIA ORGÂNICA E CINZAS DAS FRAÇÕES ESTUDADAS.

AMOSTRA	%MO	%CINZAS	%H ₂ O	s (desvio)
HUFL	9,0	90,3	0,7	0,011
“HFUR”	15,21	84,78	0,01	0,518
“HFDM”	17,32	82,67	0,01	0,406
“HFHF”	57,26	42,71	0,03	0,241
“AHFL”	99,99	----	0,009	0,047
HUPD	12,6	85,1	2,3	0,005
“HPUR”	21,21	78,78	0,01	0,239
“HPDM”	17,34	82,65	0,01	0,249
“HPHF”	50,65	49,15	0,02	0,499
“AHPD”	57,27	42,67	0,06	0,573

4.2 Análise Elementar

Segundo Rashid e colaboradores, (1985) dependendo da fonte da MO, o grau de humificação, a massa molar e as condições ambientais, a composição elementar das substâncias húmicas pode variar consideravelmente.

Ao contrário do que ocorre em síntese, ou análises químicas comuns, onde a análise elementar é utilizada para se estabelecer composição molecular, em química de SH a análise elementar é importante para se ter idéia do tipo de estrutura e funções orgânicas das moléculas que compõem as SH de diferentes ambientes, ou diferentes graus de maturação (Budziak, 2002).

Pelos dados analíticos obtidos (Tabela 03) observa-se que as percentagens de C são maiores para as “huminas” extraídas com HF/HCl e para as frações do tipo “AH” tanto para PD quanto para floresta. Isso se correlaciona com os dados de altos teores de MO destas amostras (Tabela 02). Já as porcentagens de H são sempre menores para essas frações. As porcentagens relativas de N oscilam em média 4%, e são sempre maiores para as frações acima citadas. Para os valores de O observa-se um aumento para as frações do tipo “AH” (maior para “AHFL” que para “AHPD”), o mesmo ocorrendo para as amostras “HFHF” e “HPHF”.

Os valores das razões atômicas N/C, outro dado típico de química de SH, apresentam tendências de maiores valores para as amostras de floresta. Razões N/C mais elevadas indicam estruturas orgânicas mais porfirino/proteináceas, correlacionado com os dados de EPR (Deiana e colaboradores, 1990).

As razões H/C são, normalmente, mais altas para as amostras de PD, que indicam estruturas mais alifáticas nestas amostras.

TABELA 03: COMPOSIÇÃO ELEMENTAR E RAZÃO ATÔMICA DAS AMOSTRAS ESTUDADAS.

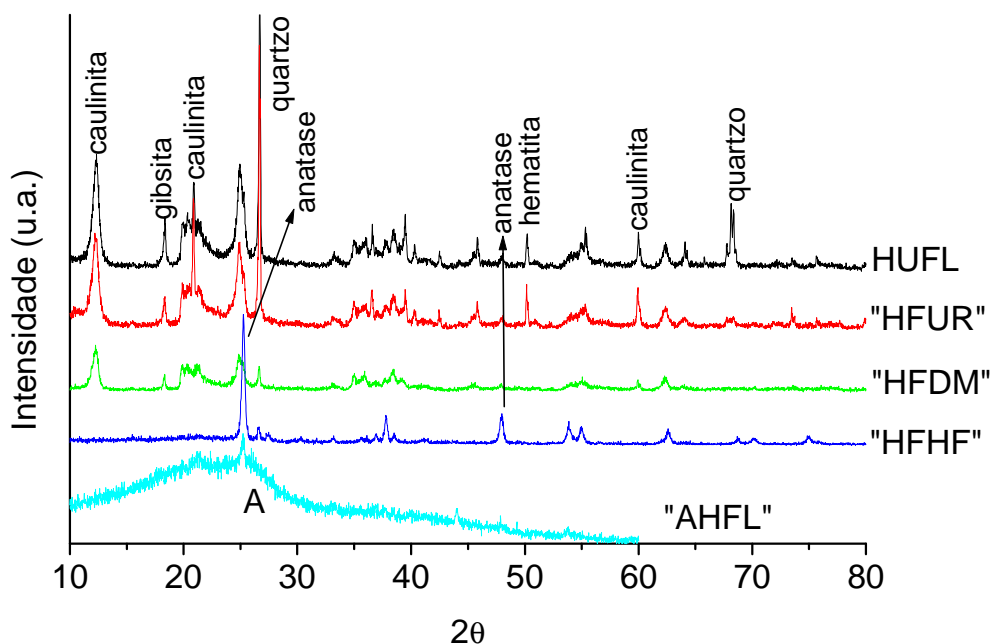
AMOSTRA	%C	%H	%N	%O	H/C	O/C	N/C
HUFL	29,33	11,00	2,67	5,13	4,46	0,13	0,08
"HFUR"	22,16	10,12	2,17	9,97	5,43	0,34	0,08
"HFDM"	17,03	9,82	1,27	12,45	6,86	0,55	0,06
"HFHF"	53,82	6,99	3,63	20,36	1,55	0,28	0,06
"AHFL"	45,88	4,78	4,19	45,15	1,24	0,74	0,08
HUPD	23,10	10,48	0,87	8,26	5,41	0,27	0,03
"HPUR"	15,32	9,76	1,08	15,66	7,60	0,77	0,06
"HPDM"	13,09	9,17	1,09	13,29	8,35	0,76	0,07
"HPHF"	55,38	6,34	3,73	17,50	1,36	0,24	0,06
"AHPD"	50,88	6,20	4,21	35,10	1,45	0,52	0,08

Teores de C,H e N foram recalculados com base em %MO (Tabela 02)

4.3 Difração de Raios-X (XRD)

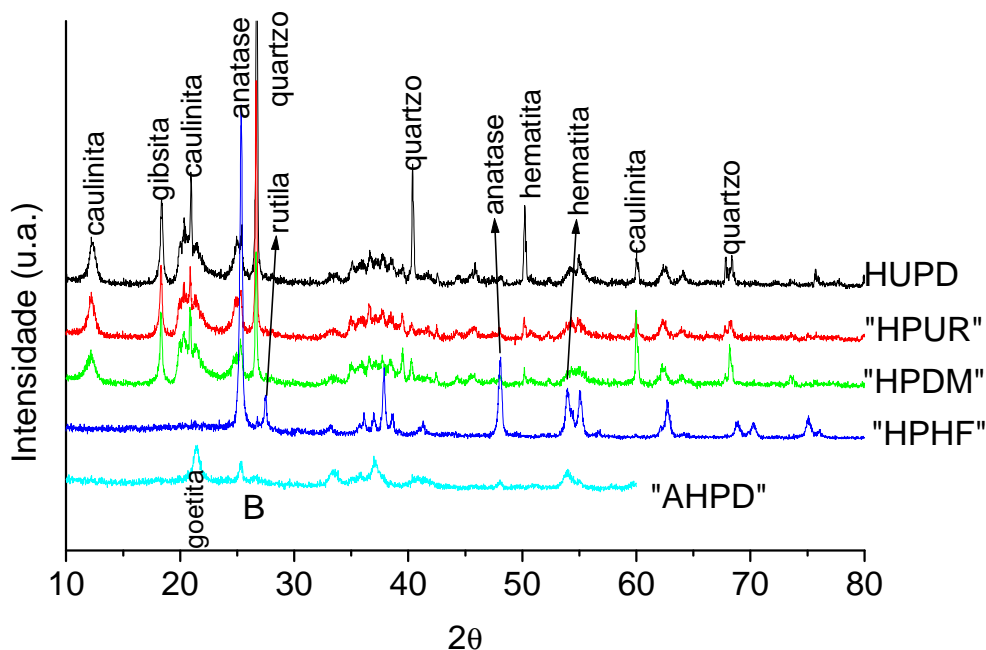
As Figuras 4.1 e 4.2 a seguir mostram os difratogramas para as amostras de “huminas” e frações do tipo “AH” estudados.

FIGURA 4.1: DIFRATOGRAMAS DAS AMOSTRAS DE “HUMINAS” ESTUDADAS: **HUFL** - HUMINA DO SOLO SOB FLORESTA; **“HFUR”** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE (HUFL) COM NaOH/URÉIA; **“HFDM”** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE (“HFUR”) COM DMSO/HCL; **“HFHF”** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE (“HFDM”) COM HF/HCL; **“AHFL”** - PRECIPITADO, EM MEIO ÁCIDO, DO EXTRATO (HUFL) COM NaOH/URÉIA.



A amostra “AHFL” apresenta bandas largas e sobrepostas em $20,5^\circ$ e $25,5^\circ$ que são atribuídas, respectivamente, a ocorrência de C alifático de cadeias laterais que estão empacotados de forma menos condensada e a carbonos empacotados de forma condensada em núcleos de AH, principalmente de estruturas aromáticas (Schnitzer, e colaboradores, 1991).

FIGURA 4.2: DIFRATOGRAMAS DAS AMOSTRAS DAS "HUMINAS" ESTUDADAS: **HUPD** - HUMINA DO SOLO DE PLANTIO DIRETO; "**HPUR**" - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE (HUPD) COM NaOH/URÉIA; "**HPDM**" - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE ("HPUR") COM DMSO/HCl; "**HPHF**" - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE ("HPDM") COM HF/HCl; "**AHPD**" - PRECIPITADO, EM MEIO ÁCIDO, DO EXTRATO (HUPD) COM NaOH/URÉIA.



Pode-se observar também que, ao contrário do que ocorre com "AHFL", a amostra "AHPD" apresentou estruturas cristalinas mais definidas correspondentes a altos teores de anatase (TiO_2) e goetita (FeOOH), conforme os teores de cinzas destas duas amostras (Tabela 02). Na amostra "HFUR", foram identificados picos de difração referente aos minerais hematita (Fe_2O_3), gibbsita [$\text{Al}(\text{OH})_3$], quartzo (SiO_2), caulinita ($\text{Al}_4\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$), montmorilonita ($\text{Al}_2\text{H}_{14}\text{Na}_{0,3}\text{O}_{16}\text{Si}_4$) e halita (NaCl). Já a amostra "HPUR" apresentou picos referentes a quartzo, caulinita, anatase, gibbsita e cristobalita (SiO_2). Após o tratamento DMSO/HCl, observou-se o pico da caulinita mais intenso na "HFDM". Na "HPDM" foi identificada a presença de goetita e anatase, que não foram observados na "HFDM". Para as amostras tratadas com HF/HCl verifica-se na "HPHF" a presença de anatase, rutila (TiO_2) e hematita, já a amostra "HFHF" apresentou picos referentes a anatase e estruturas alifáticas e aromáticas de C. Isto se correlaciona com

o maior teor de cinzas da “HPHF”, comparada com a “HFHF”, determinadas por perda ao fogo (cinzas) e mostra maior interação MI-MO no manejo PD.

4.4 Ultravioleta Visível por Refletância Difusa (DRUV-VIS)

A espectroscopia eletrônica de amostras sólidas é mais apropriada para o estudo de SH, principalmente HU, pela insolubilidade que apresentam. Os espectros de UV-VIS por refletância difusa mostram as “absorbâncias” ($\log 1/R$) em função das transições eletrônicas entre os diversos níveis das estruturas químicas presentes, mais os efeitos de empilhamento do material no estado sólido. Todos os espectros apresentam banda de absorção em 225 nm (Figuras 4.3 e 4.4) referentes a estruturas alifáticas e aromáticas não condensadas, e 275 nm, atribuídas a estruturas aromáticas substituídas, de baixas massas moleculares (Maia, 2001 e 2002). Estas absorções são atribuídas também a bandas de transferências de carga, do ligante para o íon metálico, em óxidos e óxidos/hidróxidos de ferro trivalente: $O^{-2} \rightarrow Fe^{3+}$. As HU HUFL, “HFUR”, “HFDM”, HUPD, “HPUR” e “HPDM” apresentam banda em torno de 450 nm, associada a absorções de transições $d \rightarrow d$ em íons Fe^{3+} de estrutura de hematita (Sherman e Waite, 1985).

Estas transições são responsáveis pela intensa coloração vermelha das amostras dos Latossolos estudados. Ambas as frações do tipo “AH”, “AHFL” e “AHPD”, que apresentam cor escura, e as “huminas” “HFHF” e “HPHF”, que apresentam cor tendendo para o escuro, não mostraram as bandas em 450 nm.

FIGURA 4.3: ESPECTROS NO ULTRAVIOLETA VISÍVEL POR REFLETÂNCIA DIFUSA (LOG 1/R) DAS FRAÇÕES DAS "HUMINAS" ESTUDADAS: **HUFL** - HUMINA DO SOLO SOB FLORESTA; "**HFUR**" - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE (HUFL) COM NAOH/URÉIA; "**HFDM**" - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE ("HFUR") COM DMSO/HCL; "**HFHF**" - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE ("HFDM") COM HF/HCL; "**AHFL**" - PRECIPITADO, EM MEIO ÁCIDO, DO EXTRATO (HUFL) COM NAOH/URÉIA.

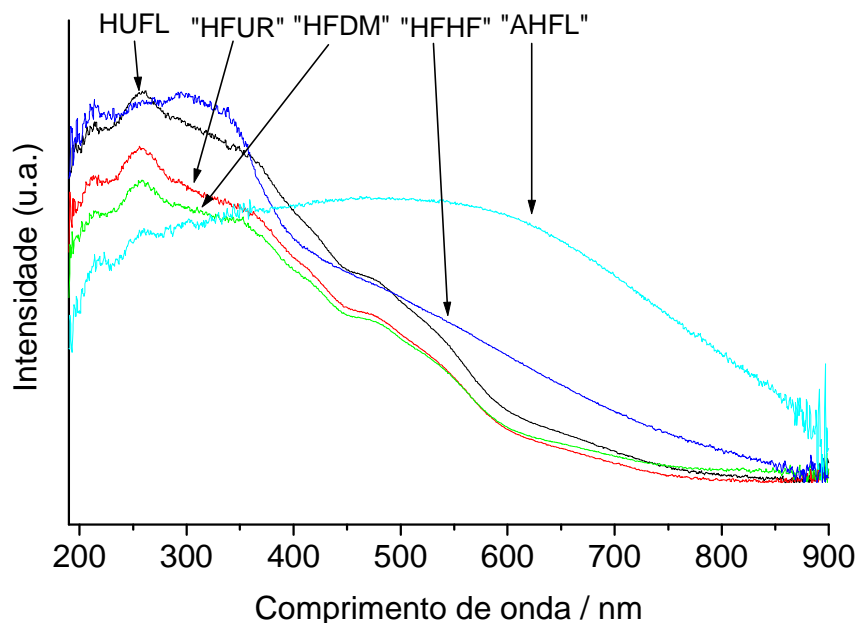
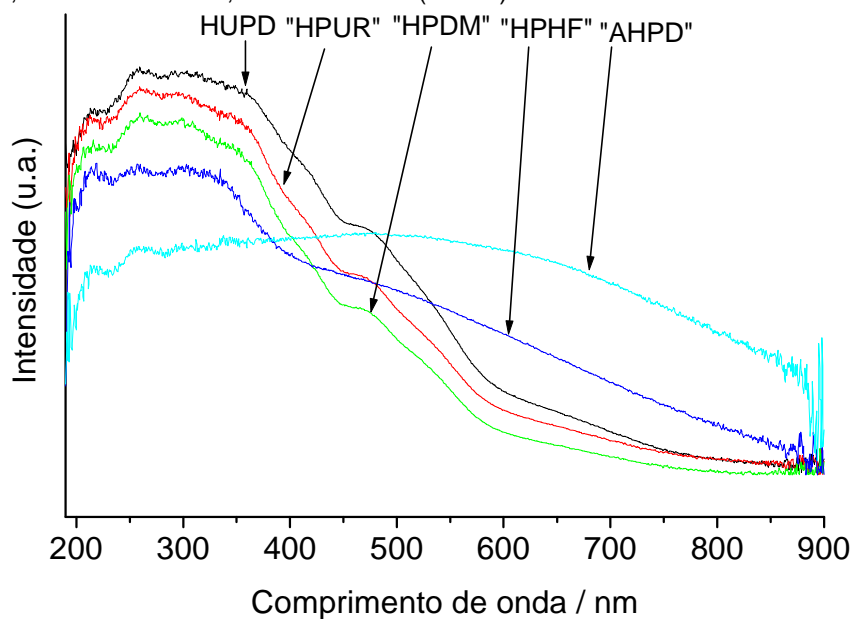


FIGURA 4.4: ESPECTROS NO ULTRAVIOLETA VISÍVEL POR REFLETÂNCIA DIFUSA (LOG 1/R) DAS FRAÇÕES DAS "HUMINAS" ESTUDADAS: **HUPD** - HUMINA DO SOLO DE PLANTIO DIRETO; "**HPUR**" - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE (HUPD) COM NAOH/URÉIA; "**HPDM**" - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE ("HPUR") COM DMSO/HCL; "**HPHF**" - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE ("HPDM") COM HF/HCL; "**AHPD**" - PRECIPITADO, EM MEIO ÁCIDO, DO EXTRATO (HUPD) COM NAOH/URÉIA.



Outro dado utilizado no estudo de SH é a razão E_4/E_6 que é determinada pela razão da absorção no visível nos comprimentos de onda 465 e 665 nm, região onde absorvem compostos policíclicos aromáticos, e tem sido usada como método para avaliar o grau de humificação da MO do ambiente. A baixa razão E_4/E_6 está diretamente relacionada com o aumento da massa molecular e condensação de grupos aromáticos (Da Silva, 2002).

Pelos dados apresentados abaixo (Tabela 04), podemos observar os altos valores da razão E_4/E_6 para todas as “huminas” estudadas, com exceção das amostras “HFHF”, “HPHF”, “AHFL” e “AHPD”, que apresentaram valores baixos dessa razão. Isto demonstrou, claramente, a influência das transições $d \rightarrow d$ em íons Fe^{3+} de estrutura de hematita, em 450 nm, nas amostras HUFL, “HFUR”, “HFDM”, HUPD, “HPUR” e “HPDM”.

Os valores da razão E_4/E_6 encontrados para as frações do tipo “AH” (“AHFL” e “AHPD”) são relativamente baixos (1,22 e 1,17) e sugerem constituição aromática mais condensada e em conseqüência, mais resistente à degradação.

TABELA 04 - VALORES DA RAZÃO ENTRE AS ABSORBÂNCIAS EM 465 E 665 NM (E_4/E_6)

Amostras	Razão A_{465}/A_{665} (E_4/E_6)
HUFL	4,61
“HFUR”	5,67
“HFDM”	4,60
“HFHF”	2,28
“AHFL”	1,22
HUPD	4,33
“HPUR”	4,45
“HPDM”	6,33
“HPHF”	1,78
“AHPD”	1,17

4.5 Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR)

Observa-se a presença de RLO típico de semi-quinona, possivelmente conjugado com vários anéis aromáticos na matéria orgânica em todas as amostras. Nos espectros a seguir (Figuras 4.5 e 4.6) observa-se que, para as frações “AHFL” e “AHPD”, o sinal foi mais intenso na amostra “AHFL”, correlacionando com o maior teor de MO nesta amostra. Na “AHPD” o sinal foi possivelmente encoberto pelo elevado teor de ferro. Bayer e colaboradores, 2003, verificaram que a concentração de RLO nos “AH” de PD diminui com o aumento da quantidade de resíduos vegetais adicionados pelas culturas em plantio direto. O alto teor de carbono e, portanto a alta concentração de radicais livres é característica de solos não degradados. A diminuição do teor de carbono e a concentração de radical semiquinona, manifestam a degradação do solo (Jerzierski , 2002).

FIGURA 4.5: ESPECTROS DE EPR (77K) DAS FRAÇÕES DAS “HUMINAS” ESTUDADAS: **HUFL** - HUMINA DO SOLO SOB FLORESTA; **“HFUR”** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE (HUFL) COM NAOH/URÉIA; **“HFDM”** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE (“HFUR”) COM DMSO/HCL; **“HFHF”** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE (“HFDM”) COM HF/HCL; **“AHFL”** - PRECIPITADO, EM MEIO ÁCIDO, DO EXTRATO (HUFL)COM NAOH/URÉIA.

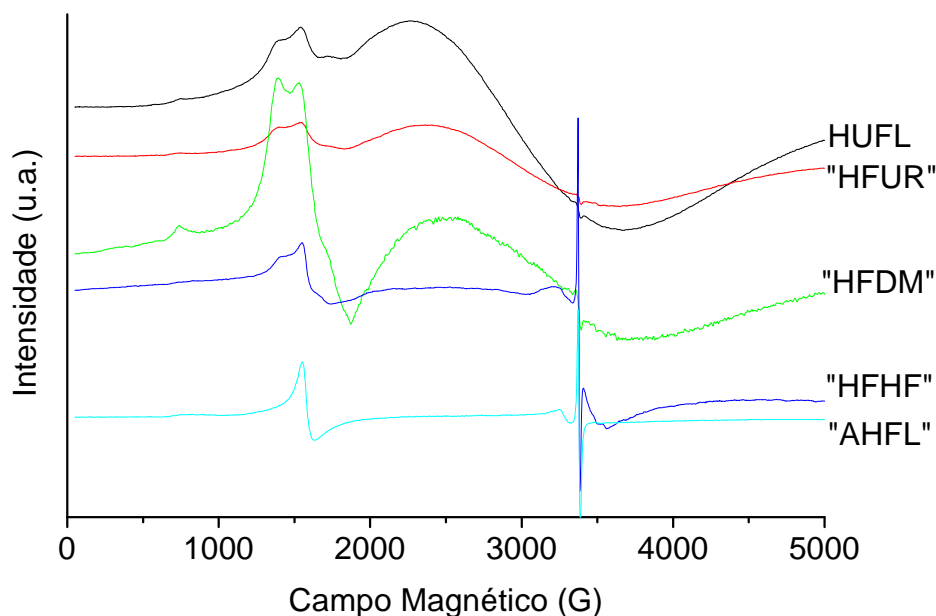
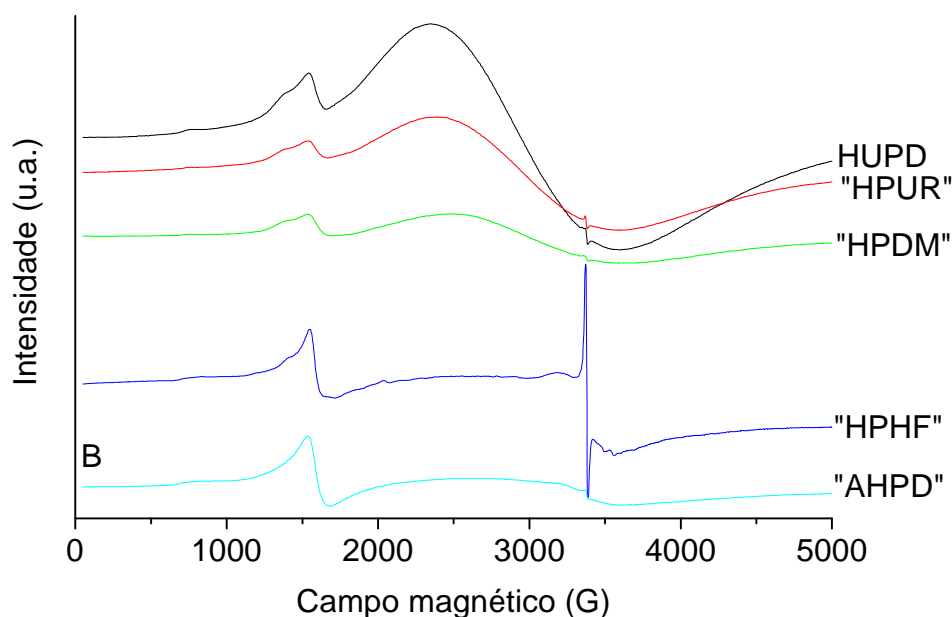


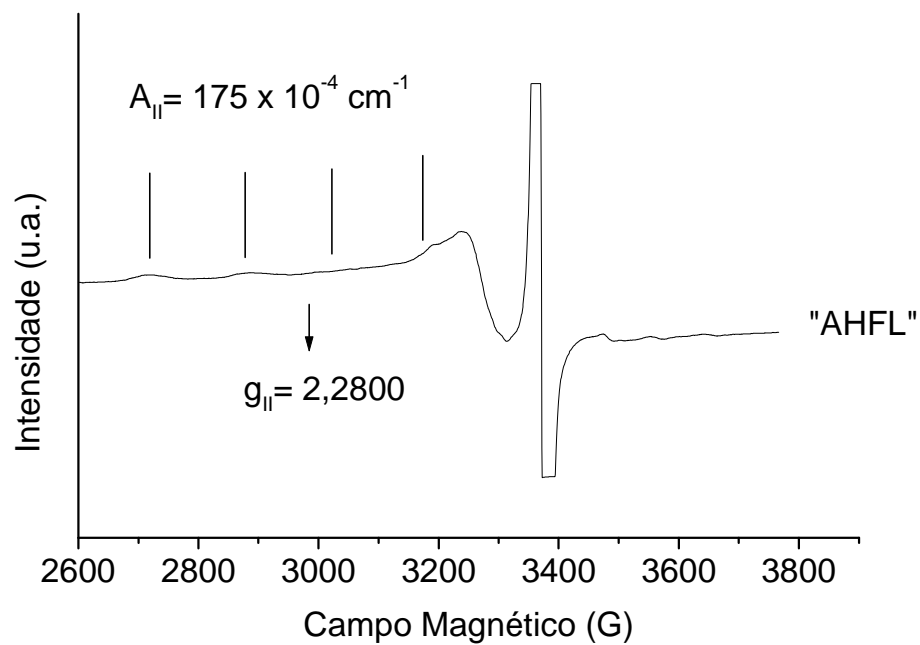
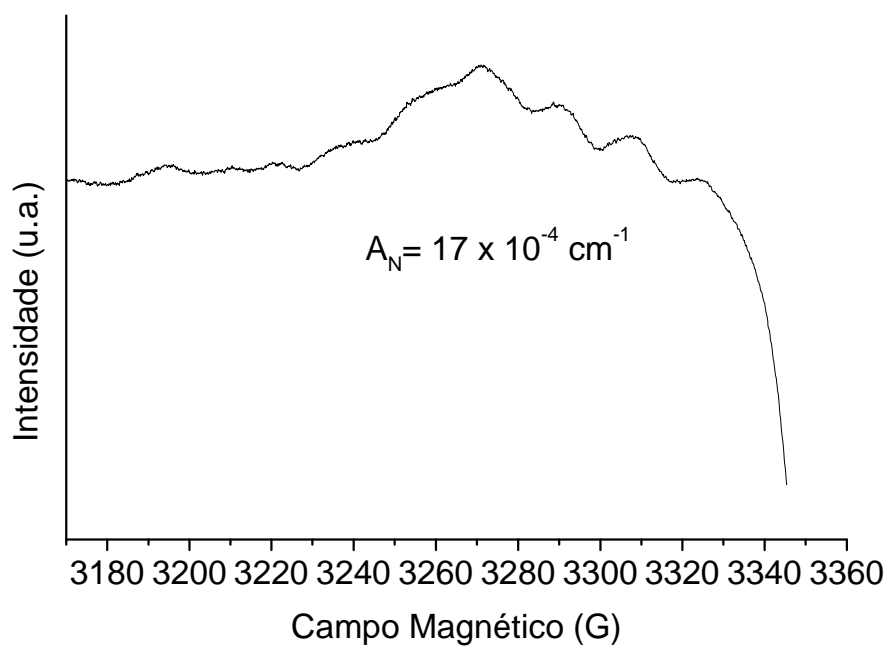
FIGURA 4.6: ESPECTROS DE EPR (77K) DAS FRAÇÕES DAS "HUMINAS" ESTUDADAS: **HUPD** - HUMINA DO SOLO DE PLANTIO DIRETO; **"HPUR"** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE (HUPD) COM NAOH/URÉIA; **"HPDM"** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE ("HPUR") COM DMSO/HCL; **"HPHF"** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE ("HPDM") COM HF/HCL; **"AHPD"** - PRECIPITADO, EM MEIO ÁCIDO, DO EXTRATO (HUPD) COM NAOH/URÉIA.



As frações do tipo "AH" ("AHFL" e "AHPD") também mostraram sinais de Fe^{3+} ($g \sim 4,3$), na chamada região de domínios diluídos. O AH do solo sob floresta ("AHFL") apresentou linhas de Cu^{2+} e interações superhiperfinas com núcleos de ^{14}N , sugerindo a existência de complexos de Cu-porfirinas (Figuras 4.7 e 4.8).

As húmicas originais HUFL e HUPD apresentaram linha larga devida ao excessivo teor de íons Fe^{3+} presentes, próprias das amostras de solos tropicais submetidos a altos graus de intemperismo.

As "húmicas" tratadas com DMSO/HCl ("HFDM" e "HPDM") apresentaram sinais de ferro em domínios diluídos ($g = 4,3$), sendo que na amostra "HFDM" o sinal é típico de caulinita com razoável grau de cristalinidade, correlacionando bem com os resultados de XRD. Porém nas "húmicas" tratadas com HF/HCl ("HFHF" e HFPD) observa-se sinal intenso de RLO, provavelmente porque o extrator é eficiente na redução dos teores de íons Fe^{3+} que acoplavam e extinguíam esses RLO.

FIGURA 4.7: ESPECTRO DE EPR (77K) DO AHFL NA REGIÃO DO Cu^{2+} FIGURA 4.8: DETALHE NA REGIÃO DO Cu^{2+} 

4.6 Espectroscopia no Infravermelho por Reflectância Difusa (DRIFTS)

A Tabela 05 a seguir mostra as principais bandas dos espectros de DRIFTS e suas respectivas atribuições.

TABELA 05: ATRIBUIÇÕES DE BANDAS NO INFRAVERMELHO (DRIFTS) PARA AS FRAÇÕES “HUMINAS”.

Banda (cm ⁻¹)	Atribuições dos grupos
5180	Banda de combinação v de O-H e/ou 3v de C=O de ácidos carboxílicos, cetonas, amidas primárias.
4.520	3v de C=C
3700	v de O-H interno de argilas (caulinita).
3700-3500	v Al-O-H, v Fe-O-H e v Si-O-H (argilas).
3100-3000	v CH- de aromáticos
2940-2850	v de C-H (CH ₃ e CH ₂ de estruturas alifáticas).
2500	2 v de C-O de ácidos carboxílicos.
2000	2 v de C-O de polissacarídeos.
1720-1700	v C=O (ésteres, cetonas, COOH).
1660-1620	v C=O de COO ⁻ , amida (amida I), δ OH (H ₂ O), v C=C (anel aromático, v C=N
1040-1020	v de Si-O e de Al-O de argilas
937	v Al-OH (caulinita)
820	v Si-O de aluminossilicatos
640	Si-O-Al

As Figuras 4.9 e 4.10 a seguir mostram os espectros de DRIFTS para as frações “huminas” estudadas.

FIGURA 4.9 - ESPECTROS DE DRIFTS DAS FRAÇÕES DAS "HUMINAS" ESTUDADAS: **HUFL** - HUMINA DO SOLO SOB FLORESTA; **"HFUR"** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE (HUFL) COM NAOH/URÉIA; **"HFDM"** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE ("HFUR") COM DMSO/HCL; **HUPD** - HUMINA DO SOLO DE PLANTIO DIRETO; **"HPUR"** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE (HUPD) COM NAOH/URÉIA; **"HPDM"** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE ("HPUR") COM DMSO/HCL.

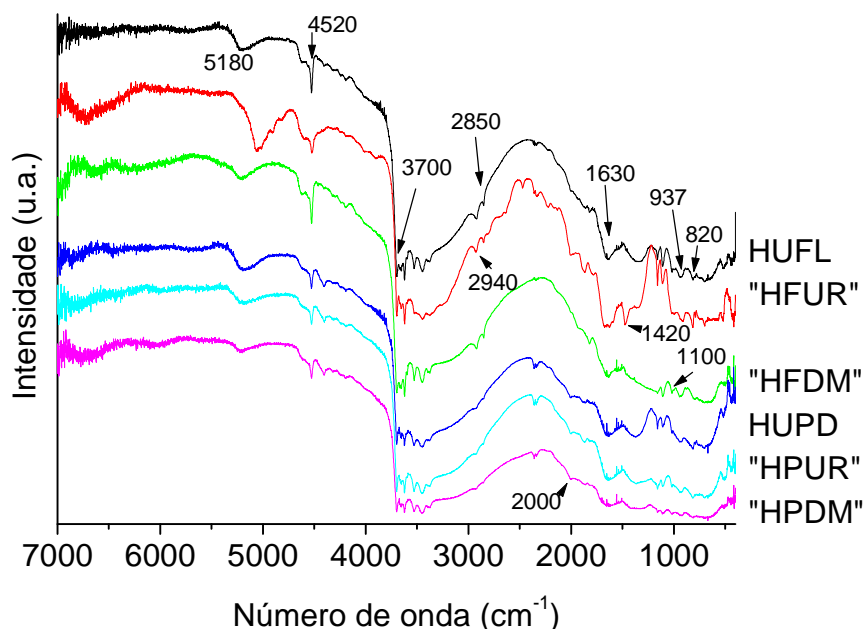
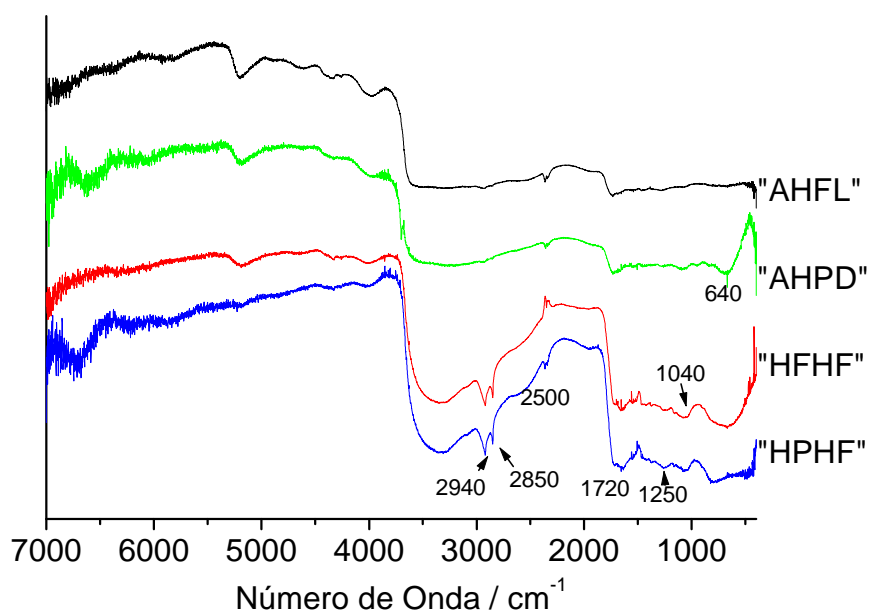


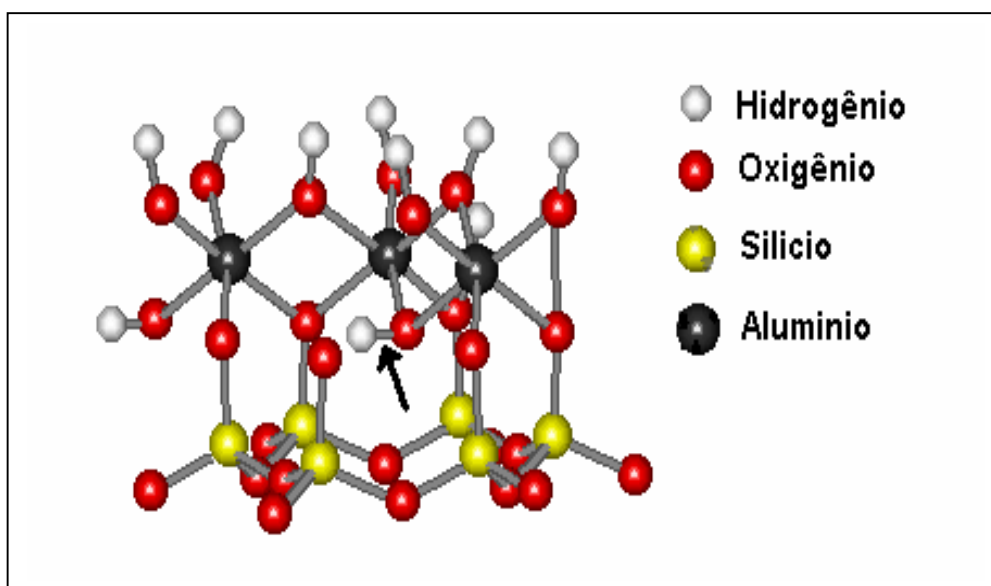
FIGURA 4.10 – ESPECTROS DE DRIFTS DAS FRAÇÕES DAS "HUMINAS" ESTUDADAS: **"AHFL"** - PRECIPITADO, EM MEIO ÁCIDO, DO EXTRATO (HUFL) COM NAOH/URÉIA; **"AHPD"** - PRECIPITADO, EM MEIO ÁCIDO, DO EXTRATO (HUPD) COM NAOH/URÉIA; **"HFHF"** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE ("HFDM") COM HF/HCL; **"HPHF"** - RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE ("HPDM") COM HF/HCL.



Nas Figuras 4.9 e 4.10 observam-se absorções em 5180 cm^{-1} referentes à banda de combinação O-H (estiramento mais deformação) e, ou, 3ν de C=O atribuídos a ácidos carboxílicos, cetonas e, ou, amidas primárias ($\sim 3 \times 1725\text{ cm}^{-1}$). A banda em 4520 cm^{-1} , que pode ser atribuída a sobretons (3ν) de grupos C=C, é observada em todos os espectros.

A presença de banda na região de 3700 cm^{-1} referente a vibrações O-H aparece nos espectros de HUFL, "HFUR", "HFDM", HUPD, "HPUR" e "HPDM". Esta banda também pode ser atribuída a estiramentos de grupos OH internos em argilas, em especial AlO-H, neste caso, sem possibilidades de formar ligações de hidrogênio, daí a alta energia de vibração do grupo e o formato estreito da banda (Wilson, 1994) como pode ser observado na Figura 4.11 a seguir.

FIGURA 4.11 - ESTRUTURA DE CAULINITA MOSTRANDO O GRUPO OH INTERNO.



As outras bandas na região de 3700 a 3500 cm^{-1} são referentes a outros estiramentos de grupos O-H inorgânicos, como AlO-H e FeO-H. Estas vibrações também são verificadas na região do espectro de vibração angular 937 cm^{-1} (O-H de superfície interna da caulinita) (Pereira, 2004). Estas bandas estão em concordância com os altos teores de cinzas dessas amostras (Tabela 02).

Com exceção das amostras “AHFL” e “AHPD” as demais apresentaram duas bandas características de estiramentos de C-H alifáticos ($2940-2850\text{ cm}^{-1}$), indicando maiores teores de componentes alifáticos nas amostras.

As vibrações na região de 1100 e 1040 cm^{-1} são atribuídas a estiramento C-O de carboidratos e Si-O de silicatos (1040 cm^{-1}). A banda em 1100 cm^{-1} aparece em todas as amostras com exceção das “HFHF”, “HPHF”, “AHFL” e “AHPD”. A banda em 1040 cm^{-1} aparece nas amostras “AHFL” e “AHPD”.

As bandas na região de $3100-3000\text{ cm}^{-1}$ atribuídas à CH de aromáticos são observadas nas amostras “HFUR”, “HFDM”, “HPUR” e “HPDM” extraídas com NaOH/uréia e com DMSO/HCl (Figura 4.9).

As “huminas” extraídas com HF/HCl (“HFHF” e “HPHF”) apresentaram bandas em 2500 cm^{-1} (primeiro sobretom de 1250 cm^{-1}) e em 1720 cm^{-1} , indicando a presença de ácidos carboxílicos alifáticos nessas estruturas orgânicas intercaladas na MI (Tabela 05 e Figura 4.10) (Lombardi, 2006).

As frações do tipo “AH” (“AHFL” e “AHPD”) apresentaram banda em 640 cm^{-1} , típicas de vibrações Si-O-Al (Pereira, 2004).

4.7 Análises Quimiométricas

4.7.1 PCA das Análises de DRIFTS

As Figuras 4.12, 4.13 e 4.14 a seguir mostram os “scores” e “loadings” para os dados de DRIFTS.

FIGURA 4.12: “SCORES” PARA PC1 VERSUS PC2 PARA OS DADOS DE DRIFTS.

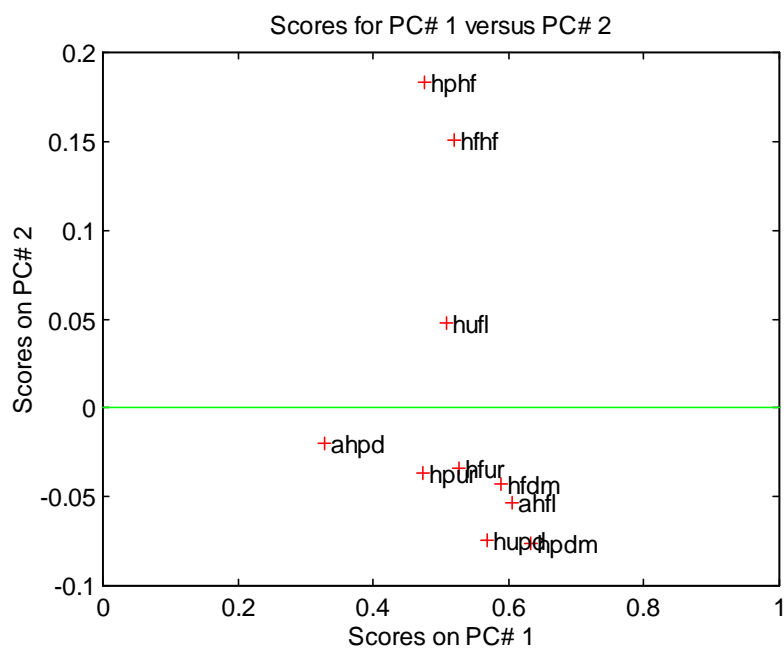


FIGURA 4.13: "SCORES" PARA PC2 VERSUS PC3 PARA OS DADOS DE DRIFTS.

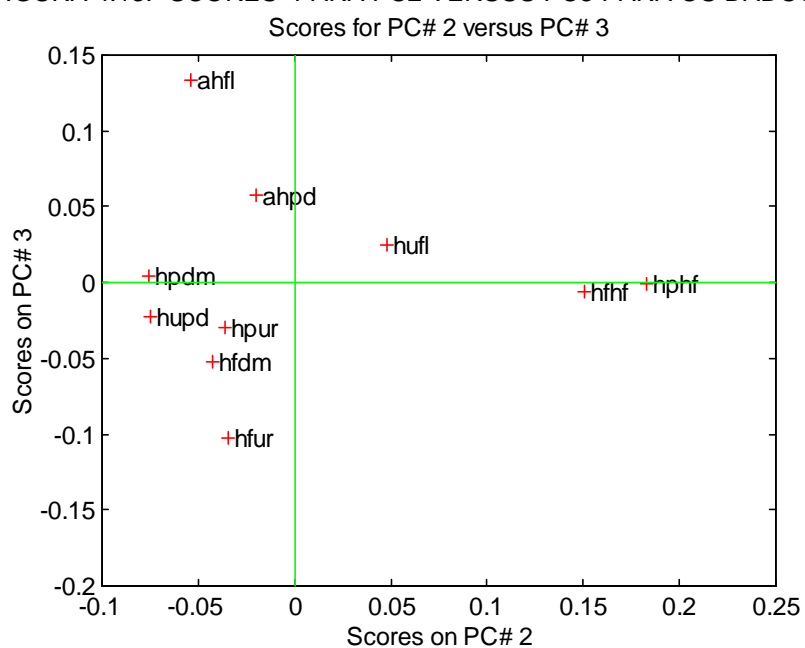
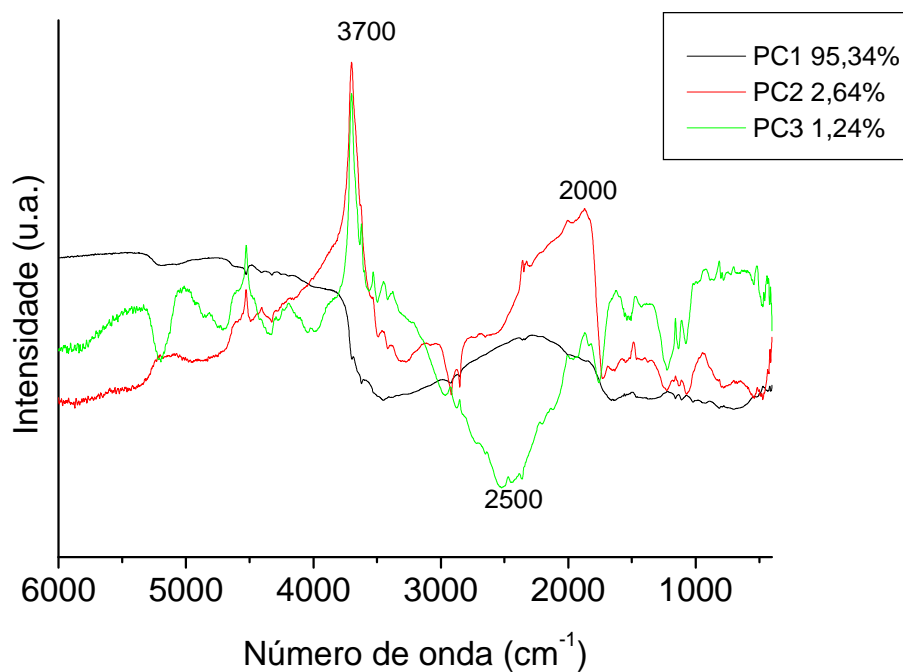


FIGURA 4.14: "LOADINGS" PARA PC1, PC2 e PC3 PARA OS DADOS DE DRIFTS.



Os resultados de DRIFTS a partir da análise de componentes principais (PCA) mostram que a PC1 não separou nenhuma amostra, em função de que esta apresenta-se semelhante aos espectros originais.

A PC2 destaca as “huminas” do tratamento por HF/HCl (“HFHF” e “HPHF”) como diferentes das demais amostras, mas semelhantes entre elas.

Os “loadings” para a PC2 (Figura 4.14) mostram que as amostras extraídas com HF/HCl (“HFHF” e “HPHF”) se destacaram das demais principalmente pelas bandas na região de 3700 e 2000 cm^{-1} (OH interno de argilas e banda de combinação de carboidratos, respectivamente); estas bandas apresentaram uma correlação positiva entre elas e negativa com relação as amostras, sugerindo desta forma que estas “huminas” (“HFHF” e “HPHF”) apresentam menores teores de inorgânicos e de carboidratos, os quais foram retirados nesta extração.

A PC3 separou os “AHFL” e “AHPD” das demais amostras (Figura 4.13) e este agrupamento ocorreu em função da banda na região de 3700 cm^{-1} (OH interno de argilas) e pela banda na região de 2500 cm^{-1} (banda de combinação de ácidos carboxílicos) como pode ser observado na Figura 4.14. Estas bandas apresentaram correlação negativa entre elas. Observa-se também que há correlação positiva entre a banda em 2500 cm^{-1} com as amostras “AHFL” e “AHPD”, sugerindo que, esta extração mostrou-se eficiente em concentrar mais material orgânico do tipo ácidos carboxílicos e eficiente em extrair material inorgânico. Isto é confirmado pela análise gravimétrica (Tabela 02).

Neste caso a espectroscopia DRIFTS não seria uma técnica adequada para a verificação da diferença dos tipos de manejo do solo (Figura 4.12) e sim as diferentes extrações.

4.7.2 PCA das Análises de DRUV-VIS

As Figuras 4.15, 4.16 e 4.17 a seguir mostram os resultados da análise de componentes principais (PCA) aplicados aos dados de DRUV-VIS.

FIGURA 4.15: "SCORES" PARA PC1 VERSUS PC2 PARA OS DADOS DE DRUV-VIS.

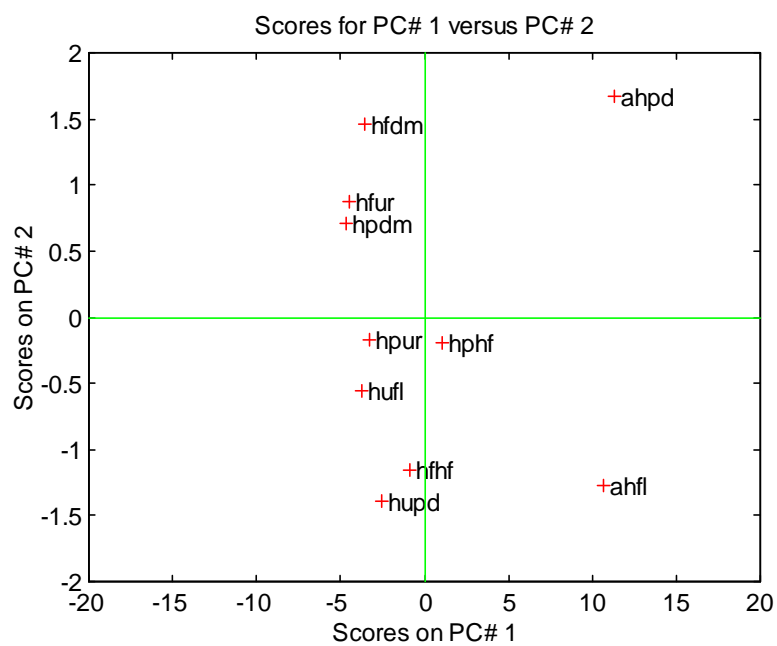


FIGURA 4.16: "SCORES" PARA PC2 VERSUS PC3 PARA OS DADOS DE DRUV-VIS.

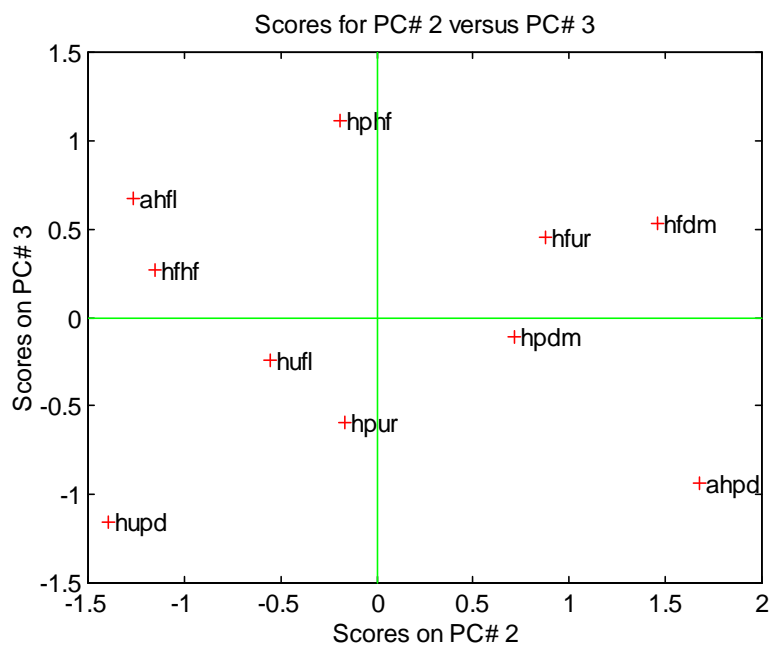
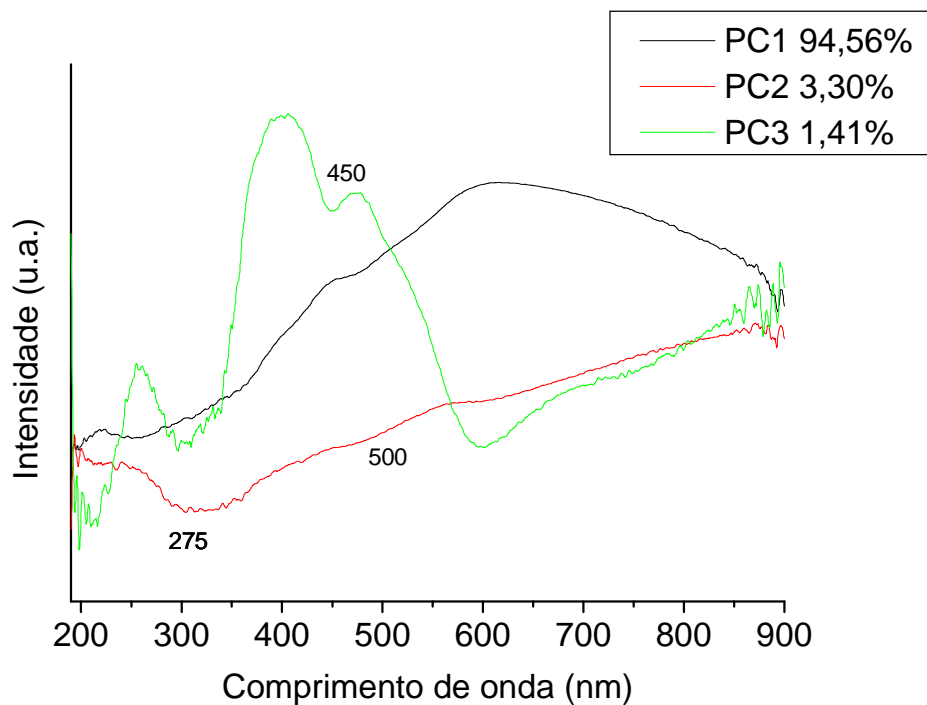


FIGURA 4.17: "LOADINGS" PARA PC1, PC2 e PC3 PARA OS DADOS DE DRUV-VIS.



A PC1 separa os ácidos húmicos obtidos por tratamento ácido da solução extraída com NaOH/uréia (“AHFL” e “AHPD”) das demais amostras mas os diferencia entre si (diferença de manejo) como mostra a PC2 (Figura 4.15).

A PC1 não separa as demais “huminas” em função de que os espectros originais destas mostraram-se semelhantes entre si (Figura 4.15).

A PC3 separou principalmente as amostras de PD das amostras de floresta, devido a presença das absorções em 275 nm (estruturas aromáticas substituídas, de baixas massas moleculares) e 450 nm (transições $d \rightarrow d$ em íons Fe^{3+} da estrutura da hematita).

Os “loadings” para a PC2 mostram que as frações do tipo “AH” foram diferenciadas (PD de floresta) entre si principalmente pelas absorções em 275 nm (referentes a estruturas aromáticas substituídas, de baixas massas moleculares) e 450 nm (associada a transições $d \rightarrow d$ em íons Fe^{3+} da estrutura da hematita) (Figura 4.17).

4.7.3 PCA das Análises de EPR

As Figuras 4.18, 4.19 e 4.20 a seguir mostram os resultados da análise de componentes principais (PCA) aplicados aos dados de EPR.

A PC1 separa principalmente a humina HUPD das demais em função da linha larga referente à presença de Fe^{3+} observada em todo o espectro. A PC2 separa principalmente “HPHF”, “HFHF” das demais amostras (Figura 4.18).

Já a PC3 diferenciou apenas a fração “HFDM” das demais (Figura 4.19).

FIGURA 4.18: "SCORES" PARA PC1 VERSUS PC2 PARA OS DADOS DE EPR.

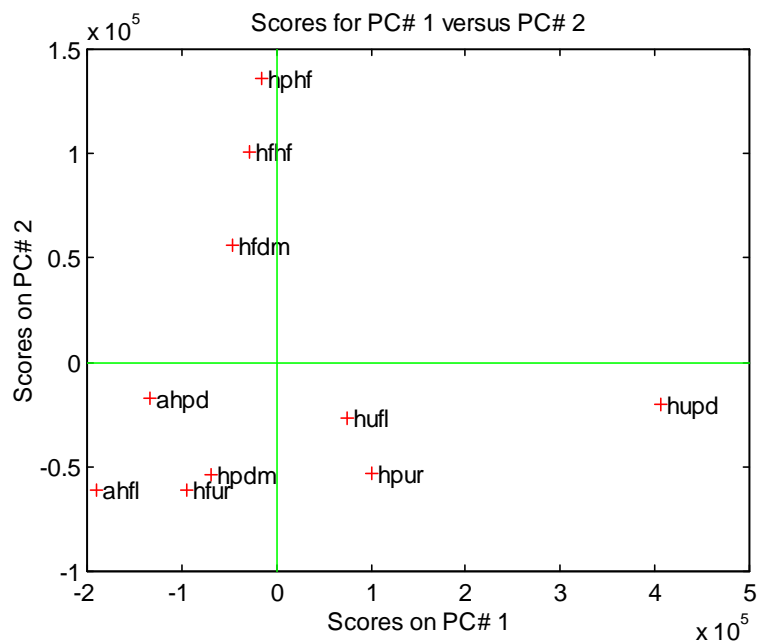


FIGURA 4.19: "SCORES" PARA PC2 VERSUS PC3 PARA OS DADOS DE EPR.

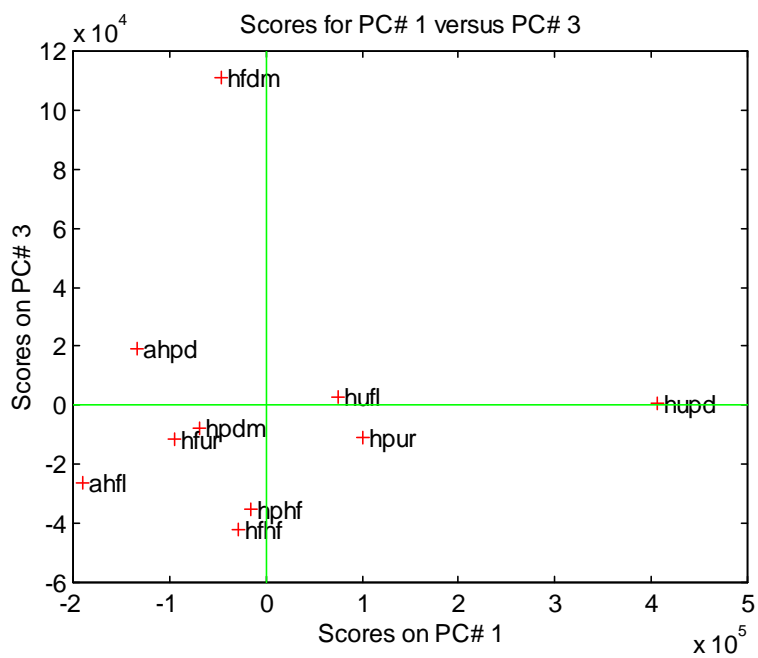
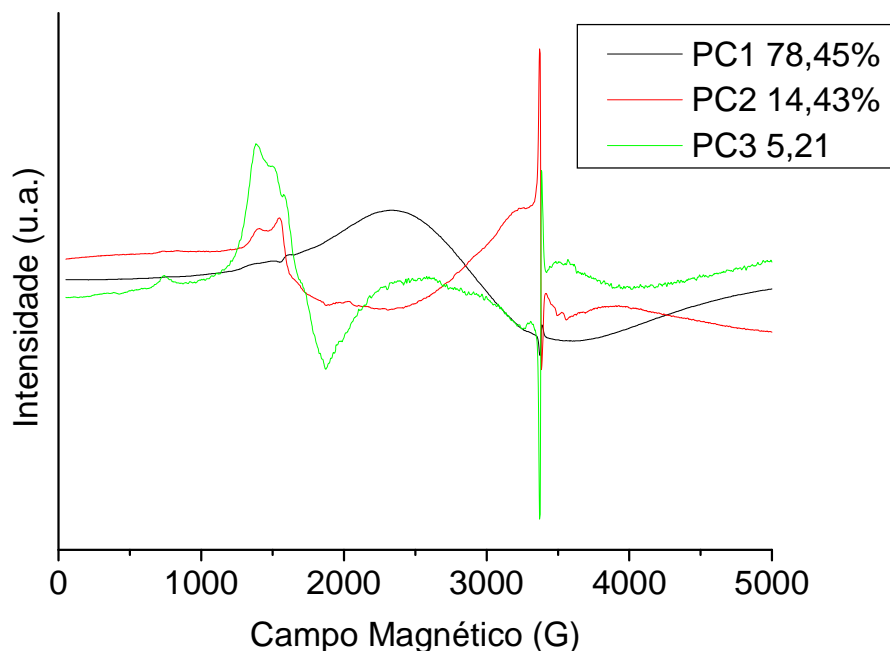


FIGURA 4.20: "LOADINGS" PARA PC1, PC2 e PC3 PARA OS DADOS DE EPR.



Os gráficos dos "loadings" mostram que a PC1 diferenciou principalmente a fração HUPD (humina original de PD) devido ao excessivo teor de Fe^{3+} presente nesta fração. Enquanto que a PC2 separou as "huminas" extraídas com HF/HCl (tanto floresta quanto PD) das demais pelo intenso sinal de RLO presente nestas amostras. A terceira PC diferenciou apenas a fração "HFDM" das outras em função do intenso sinal típico de caulinita com alto grau de cristalinidade (Figura 4.20) (Lombardi, 2006).

Tanto por EPR como por DRIFTS observaram-se poucas diferenças com relação aos tipos de manejos, mas foi possível caracterizar estruturas químicas presentes nas amostras obtidas utilizando-se diferentes extratores.

5. CONCLUSÕES

Os resultados de análise gravimétrica mostram diferenças entre os dois tipos de manejo de solo no que diz respeito às interações MI-MO. As “huminas” apresentaram, como esperado, altos teores de cinzas; no entanto, a MO presente nestas, foi hidrolisada pela solução extratora NaOH/uréia, muito mais eficientemente no caso da HUFL do que na HUPD.

Os resultados de XRD mostraram diferenças entre os “AH” obtidos pela extração com NaOH/uréia. O “AHFL” apresentou principalmente estruturas aromáticas, enquanto que o “AHPD” apresentou principalmente estruturas alifáticas de cadeias laterais, empacotados de forma menos condensada (Schnitzer, e colaboradores., 1991).

Por espectroscopia de EPR verificou-se sinal mais intenso de radical livre orgânico (RLO) de estruturas de semiquinonas nas “huminas” extraídas com HF/HCl (FL e PD) e na amostra “AHFL”. Estas amostras se correlacionam com o baixo teor de cinzas quando comparadas às demais “huminas”. Estes dados concordam com os de XRD onde a amostra “AHFL” apresentou estruturas aromáticas. Também por EPR observou-se que a amostra “AHFL” apresenta estruturas de CuO_4 e CuN_4 (Cu^{2+} -porfirinas), que não são observadas na amostra “AHPD”.

Os resultados de DRIFTS indicam a presença de ácidos carboxílicos alifáticos nas estruturas orgânicas intercaladas na MI (“HFHF” e “HPHF”), discordando da idéia geral, de que as “huminas” seriam formadas, principalmente, por estruturas aromáticas altamente condensadas.

A análise de componentes principais aplicada aos dados de DRIFTS e EPR separa, principalmente, as “huminas” extraídas com HF/HCl (“HFHF” e “HPHF”) das demais, diferenciando assim as extrações.

A análise de componentes principais aplicada aos dados de DRUV-VIS, separa principalmente, os ácidos húmicos das demais amostras, diferenciando os tipos de manejo de solo.

Tanto por EPR como por DRIFTS observaram-se poucas diferenças com relação aos tipos de manejos, mas foi possível caracterizar estruturas químicas presentes nas amostras obtidas utilizando-se diferentes extratores.

A nova metodologia de fracionamento e caracterização de húminas desenvolvida nesta dissertação surge como importante modo de distinguir as estruturas químicas presentes no solo. Sugere-se, com as técnicas aqui utilizadas, que o manejo de plantio direto produz interações entre os componentes MI-MO do solo mais fortemente que o de floresta.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams, M.J. **Chemometrics in Analytical Spectroscopy**, The Royal Society of Chemistry, 1995.

Aiken, C.R., Isolation and Concentration Techniques for Aquatic Humic Substances. In: Ailcen, O.K.; Mcknight D.M., Wershaw R.L.; Maccarthy P. **Humic Substances in Soil, Sediment and Water, Geochemistry, Isolation and Characterisation**. Wiley, New York, 363-385, 1985.

Arocena, J.M.; Pawluk, S.; Dudas, M.J.; Gajdostik, A. In situ Investigation of Soil Organic Matter Aggregates Using Infrared Microscopy. **Can. J. Soil Sci.** Ottawa, 75, n.3, 327-332, 1995.

Atkins, P.W., **Físico-Química**. 6ª ED. v 2. LTC. RJ, 1999.

Baes, A.U.; Bloom, P.R.; Diffuse Reflectance and Transmission Fourier Transform Infrared (DRIFT) Spectroscopy of Humic and Fulvic Acids. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, 53, 695-700, 1989.

Bayer, C., Martin-Neto, L., Saab, S. C. Diminuição da Humificação da Matéria Orgânica de um Cambissolo Húmico em Plantio Direto. **R. Bras.Ci. Solo**, 27, 537-544, 2003.

Bndes. O Efeito Estufa e a Convenção sobre mudança do Clima. Disponível em: <http://www.mct.gov.br/clima/quioto/bndes.htm>.

Budziak, C.R. **Grupos Ácidos e Capacidade de Oxidação de Ácidos Húmicos como Método de Avaliação de Processos de Compostagem**. Curitiba, 2002. Dissertação de Mestrado. Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná.

Budziak, C.R, Maia, C.M.B.F, Mangrich, A.S. Transformações Químicas da Matéria Orgânica Durante a Compostagem de Resíduos da Indústria Madeireira, **Química Nova**, 27, n.3, 399-403, 2004.

Bravard, S & Righi, D. Characterization of Fulvic and Humic Acids from Oxisol-Spodosol Toposequence of Amazonia, Brazil. **Geoderma**, 48, 151-162, 1991.

Caetano, I.K. **Caracterização de Ácidos Húmicos em solos sob Diferentes Manejos tendo em vista o Seqüestro de Carbono**. Curitiba, 2002. Tese de Doutorado. Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná.

Chen, Y.; Senesi, N.; Schnitzer, M. Information Provided on Humic Substances by E4/E6 ratios. **Soil Sci. Soc. Am. J. Madison**, 41, n.2, 352-358, 1977.

Clapp, C.E.; Hayes, M.H.B.; Swift, R.S.; Isolation, Fractionatio, Functionaljities, and Concepts of structures os Soil Organic Macromolecules. In: Beck, A.J.; Jones, K.C.; Hayes, M.H.B.; Mingeigrin, U. **Organic Substances in Soil and Water: Natural Constituents and their Influences on Contaminant Behaviour**. Royal Society of Chemistry, 1993, 3, 1-69.

Colinvaux, P. **Ecology**. J Wiley & Sons, New York, 1986.

Cotton, F.A.; Wilkinson, G. **Química Inorgânica**. Rio de Janeiro, 1978.

Da Silva, L. A., Andrade, J. B., Toma, H. E.: Electronic Spectra of Chevreul's Salts. **J. Braz. Chem. Soc.**, 13(5), 624-628, 2002.

Deiana, S.; Gessa, C.; Manunza, B. Analytical and Spectroscopic Characterization of Humic Acids Extracted from Sewage Sludge, Mnure, and Wormcompost. **Soil Science**, 150, 419-424, 1990.

Drago, R.S. **Physical Methods for Chemistry**. 2 ed. Orlando: Saunders, 1992.

Duffy, B.K.; Ownley, B.H.; Weller, D.M. Soil Chemical and Physical Properties Associated with Suppression of Take-all of Wheat by *Trichoderma Koningii*. **Phytopathology**, 87, 1118-1124, 1997.

Euterhues, K.; Rumpel, C.; Kleber, M.; Knabner, I.K. Stabilisation of Soil Organic Matter by Interactions with Minerals as Revealed by Mineral Dissolution and Oxidative Degradation. **Organic Geochemistry**, 34, 1591-1600, 2003.

Fuller, M. P.; GRIFFITS, P. R.; Diffuse Reflectance Measurements by Infrared Fourier-Transform Spectrometry. **Anal. Ch.**, 50, 1906-1910, 1978.

Garcia, D.; Cegarra, I.; Abad, M.; Fomes, F.; Effects of the Extractants on the Characteristics of a Humic Fertiliser Obtained from Lignite. **Biores. Technol.** 43, 221-225, 1993.

Geladi, P.; Isaksson, H.; Lindqvist, L.; Wold, S.; Esbensen, K. Principal Component Analysis of Multivariate Images. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, 5, n.3, 209-220, 1989.

González-Prieto, S.J.; Villar, M.C.; Carballas, M.; Carballas, T. **Plant Soil**, 31, 144, 1992.

Goodman, B.A.; Hall, P.L. Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy. In: Wilson, M.J. **Clay Mineralogy: Spectroscopic and Determinative Methods**. London: Chapman & Hall, 1994.

Graziano, C. Jornal "**O Globo**", 2005.

Gron, C.; Raben-Lange, B. Isolation and Characterisation of a Haloorganic Soil Humic Acid. **Sci. Tot Environ.** 113, 281-286, 1992.

Harris, D.C.; Bertolucci, M.D. **Symmetry and Spectroscopy; an Introduction to Vibrational and Electronic Spectroscopy.** Oxford University Press, 1978.

Hayes, M.H.B.; Swift, R.S. The Chemistry of Soil Organic Colloids, 179-320. In: Greenland, D.J.; Hayes, M.H.B. The Chemistry of Soil Constituents. **John Wiley and Sons**, Inc. Chichester, 1978.

Hayes, M.H.B. Humic Substances in Soil, Sediment, and Water. Geochemistry, Isolation, and Characterisation. **Wiley**, New York, 147-180, 1985.

Hayes, M.H.B.; Swift, R.S. Genesis, Isolation, Composition and Structures of soil Humic Substances. In: Deboodt, M.F. et al. **Soil Colloids and Their Associations in Aggregates.** Plenum, New York and London, 245-305, 1991.

Hayes, M.H.B.; Malcom, L.R.; Considerations of Compositions and Aspects of the Structures of Humic Substances. In: Humic Substances and Chemical Contaminants. Madison: Soil Sci. Soc. Am., Copyright, 3-39, 2001.

Hayes, M.H.B. Considerations of compositions and Structures of Humic Substances. P-10 a P-17, **VIEBSH**, Rio de Janeiro, 2005.

Horwath, W.R.; Elliot, L.F.; Steiner, J.J.; Davis, J.H.; Griffith, S.M. Denitrification in Cultivated and Noncultivated Riparian Areas of Grass Cropping Systems. **J. Environ. Qual.**, 27, 225-231, 1998.

Inbar, Y.; Chen, Y.; Hadar, Y. Solid-state carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance and Infrared Spectroscopy of Composted Organic Matter. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, 53, 1695-1701, 1989.

Jeziernski, A., Czechowski, F., Jerzykiewicz, M., Golonka, I., Drozd, J., Bylinska, E., Chen, Y., Seaward, M.R.D., Quantitative EPR Study on Free Radicals in the Natural Polyphenols Interacting with Metal Ions and other Environmental Pollutants, **Spectrochimica Acta**, 58, 1293-1300, 2002.

Johansson, M.; Stenberg, B.; Torstensson, L. Microbiological and Chemical Changes in two Arable Soils after long-term sludge Amendments. **Biology and Fertility of Soils**, 30, n.1-2, 160-167, 1999.

Kononova, M. M. Soil Organic Matter: its nature, its role in soil formation and in soil fertility. 2 ed. New York, **Pergamon**, 1966.

Lepsch, I.F. **Formação e Conservação dos Solos**. São Paulo. Oficina de Textos, 2002.

Lombardi, K.C., Mangrich, A.S., Wypych, F., Rodrigues-Filho, U.P., Guimarães, J.L., Schreiner, W.H. Sequestered carbon on clay mineral probed by electron paramagnetic resonance and X-ray photoelectron spectroscopy. **J. Col. Interf. Sci.**, 295, 135-140, 2006.

Lundstrom, U.S.; Nyberg, L.; Daielsson, R.; Van Hees, P.A.W.; Anderson, M. Forest Soil Acidification: Monitoring on the Regional Scale. **Ambio**, 27, n.7, 551-556, 1998.

Maia, C. M. B. F; Mangrich, A S; Simonelli, F., Spectroscopic Characterization of Organic and Organic-Inorganic Interactions in Paper Mill Sludge, **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica**, v.28, n.7, 372-377, 2001.

Maia, C.M.B.F., Mangrich, A.S., Budziak, C.R., Dos Santos, J.C.P., Spectroscopic and chemical characterization of Humic Structures through composting advance of sawdust/paper mill sludge, 11th, **IHSS Conference**, Boston, USA, 359-361, 2002.

Malcolm, R.L. Method and Importance of Obtaining Humic and Fulvic Acids of High Purity. **J. Res. U. S. Geot. Sun.**, 4, 37-40, 1976.

Mangrich, A.S.; Lemen, A.W.; Santos, E.J.; Gomes, R.C.; Coelho, R.R.R.; Linhares, L.F.; Senesi, N. Electron Paramagnetic resonance and Ultraviolet-Visible Spectroscopic Evidence For Copper Porphyrin Presence In Actinomycete Melanins from Soils. **Biology and Fertility of Soils**, Reino Unido, 26, 341-345, 1998.

Mangrich, A.S. Cadernos de EPR, LabEPR, Departamento de Química, UFPR, 1998.

Mangrich, A.S. "Química do Solo" DQ/UFPR, Curitiba-Pr, 2000.

Masson, S.F. **Chemical Evolution**, Oxford, Clarendon Press, 1995.

Martin Neto, L.; Nascimento, O.R.; Talamoni, J.; Poppi, N.R. EPR of Micronutrients-humic Substances Complexes Extracted from a Brazilian Soil. **Soil Science**, 151, n.5, 377, 1991.

Martin neto, L.; Andriculo, A.E.; Traghetta, D.G. Effects of Cultivation on ESR Spectra of Organic Matter from Soil Size Fractions of a Mollisol. *Soil Sci.*, New York, 157, 365-372, 1994.

Martin Neto, L.; Rossel, R.; Sposito, G. Correlation of spectroscopic indicators of Humification with Mean Annual Rainfall Along a Temperate Grassland Climosequence. **Geoderma**, 81, 305-311, 1998.

McCoy, E.L. Sand and Organic Amendment Influences on Soil Physical Properties Related to Turf Establishment. *Agron. J.*, 90, n.3, 411-419, 1998.

Németh, T.; Borszéki, J.; Gegus, E. Correlation Study of Soil and Plant Nutritive Elements by Principal Component Analysis. **Can. J. Appl. Spectrosc.**, 38, n.5, 121-124, 1993.

Nguyen, T. T.; Janik, L. J.; Maxwell, R. Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform (DRIFT) Spectroscopy in Soil Studies. **Australian Journal of Soil Research**, v.29, 49-67, 1991.

Nolin, M.C.; Wang, C.; Caillier, M.J. Fertility Grouping of Montreal Lowlands Soil Mapping Units based on Selected Soil Characteristics of the Plow Layer. **Can. J. Soil Sci.**, 69, 525-541, 1989.

Novotny, E.H. **Extração, Fracionamento e Caracterização Espectroscópica da Matéria Orgânica do Solo**. Curitiba, 1997. Dissertação de Mestrado. Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Novotny, E.H., Blum, W.E.H., Gerzabek, M.H., Mangrich, A.S., Soil Management System Effects on Size Fractionated Humic Substances. **Geoderma**, 92, 87-109, 1999.

Painter, T. J. Algal Polysaccharides. In Aspinall, G.O. (ed.). **The polysaccharides**. Academic Press, Orlando, 2, 195-285, 1983.

Parish, R.V. **NMR, NQR, EPR and Mossbauer spectroscopy in Inorganic Chemistry**. London: Elis Horwood, 1990.

Paixão, R.E. **Avaliação Química e Espectroscópica do grau de Maturidade do Composto de Resíduos de Podas e Lodo de Esgoto Industrial em Escala de**

Laboratório. Curitiba, 2003. Dissertação de Mestrado, Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná.

Pereira, B. F. **Novas Abordagens no Preparo e na Caracterização de Substâncias Húmicas.** Curitiba, 2004. Tese de doutorado. Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná.

Pérez, M.G.; Martin-Neto, L.; Saab, S.C.; Novotny, E.H.; Milori, D.M.B.P.; Bagnato, V.S.; Colnago, L.A.; Melo, W.J.; Knifer, H. Characterization of Humic Acids from a Brazilian Oxisol Under Different Tillage System by EPR, ¹³C NMR, FTIR and Fluorescence Spectroscopy. **Geoderma**, 118, n.3-4, 181-190, 2004.

Piccolo, A. Humus and Soil Conservation. In: Humic Substances in Terrestrial Ecosystems. Piccolo, A. (Ed) **Elsevier Science**, 5, 1996.

Quiroga, A.R.; Buschiazzo, D.E.; Peinemann, N. Management Discriminant Properties in Semiarid Soils. **Soil Sci.**, 163, n.7, 591-597, 1998.

Rashid, M.A. **Geochemistry of Marine Humic Compounds.** Springer Verlag, New York, 1985.

Rice, J. A., Humin. **Soil Sci**, 166, n.11, 2001.

Rice, J. A., and P. MacCarthy. Isolation of Humin by Liquid-liquid Partitioning. **Sci. Total Environ**, 81/82, 61-3-69, 1989.

Rice, J. A., And P. Maccarthy. A Model of Humin. **Environ. Sci. Technol**, 24, 1875-1877, 1990.

Rocha, J.C.; Rosa, A.H.; Cardoso, A.A. **Introdução à Química Ambiental**. Porto Alegre. Bookman, 2004.

Rumpel, C.; Janick, L. J.; Skjemstad, J. O.; E Kogel-knabner, I. A Quantificação do Carbono Derivou-se do Lignite nos Solos Usando o Espectroscopia Mid-Infravermelho e Parcial Menos Quadrados. **Geochemistry Organic**, 32, n.6, 831-839, 2001.

Schnitzer, M., Characterization of Humic Constituents by Spectroscopy. In: McLaren, D.; Skujins, J. (Eds.) **Soil Biochemistry**, New York, 2, 60-95, 1971.

Schnitzer, M., Khan, S.U. **Soil Organic Matter**. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 1978.

Schnitzer, M., Khan, S.U. **Humic Substances in the Environment**. Marcel Dekker, New York, 1982.

Schnitzer, M., Kodama, H., & Ripmesester, J. A., Determination of the Aromaticity of Humic Substances by X-Ray Diffraction Analysis. **Soil. Sci. Soc. Am. J.**, 55, 745-750, 1991.

Senesi, N. Application of Electron Spin Resonance (ESR) Spectroscopy in Soil Chemistry. **Advances in Soil Science**, New York: Springer, 14, 1989.

Sherman, D.M.; Waite, T.D. Electronic Spectra of Fe³⁺ Oxides and Oxide Hydroxides in the Near IR to near UV. **American Mineralogist**, 70, 1262-1269, 1985.

Silverstein, R.M.; Bassier, G.C.; Morrill, T.C. **Identificação Espectroscópica de Compostos Orgânicos**. Ed. Guanabara Koogan S.A., 1971.

Stevenson, F. J. **Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions**. John Wiley, 1982.

Stevenson, F. J. **Húmus Chemistry: Genesis, Composition and Reactions**. 2.ed. New York, John Wiley, p.443, 1994.

Wilson, M.J. **Clay Mineralogy: Spectroscopic and Chemical Determinative Methods**. Chapman & Hall, London, 1994.

Wold, S.; Esbensen, K.; Geladi, P. Principal Component Analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, 2, v.1-3, 37-52, 1987.