

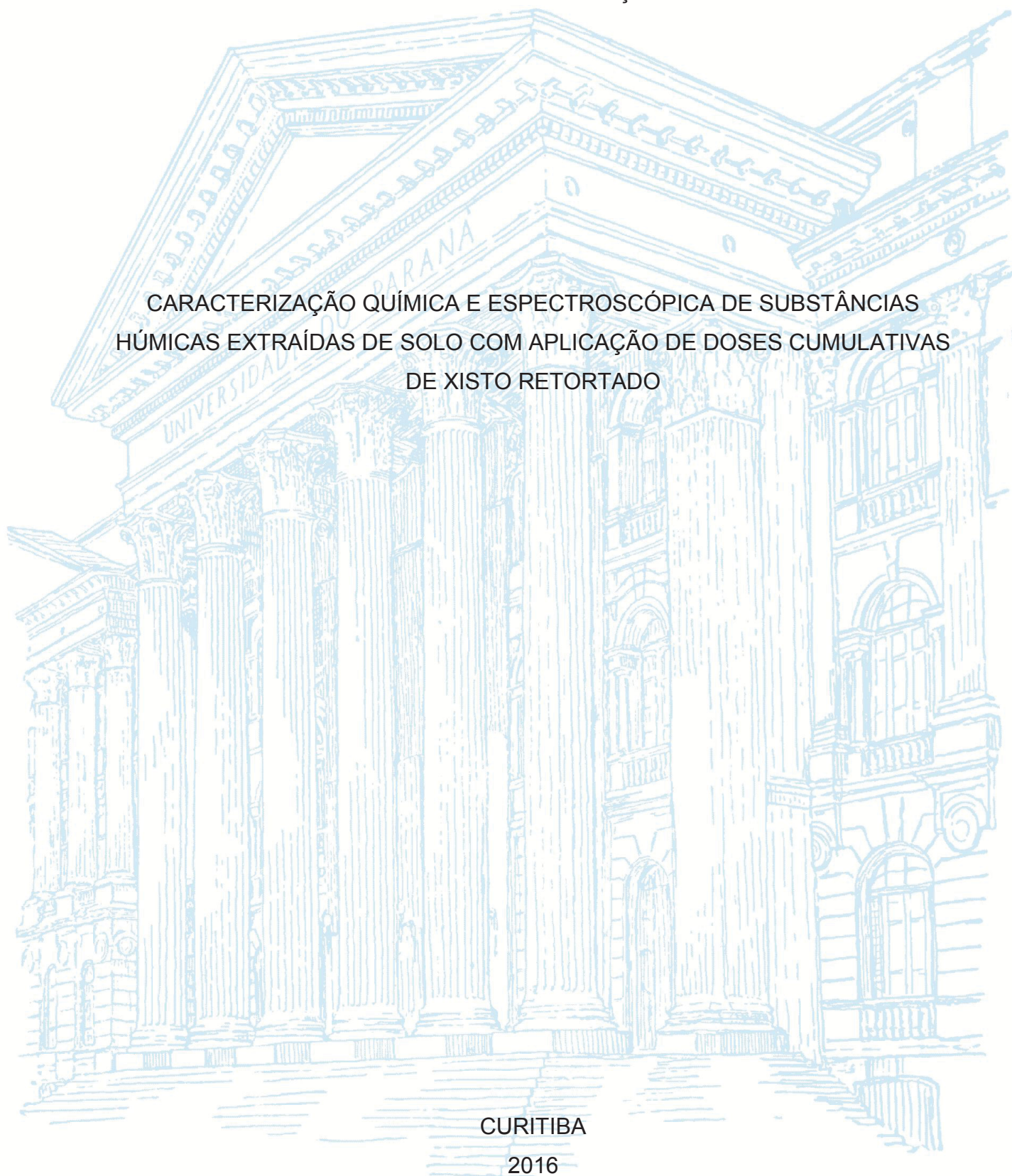
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MAYARA GABRIELA GONÇALVES

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESPECTROSCÓPICA DE SUBSTÂNCIAS  
HÚMICAS EXTRAÍDAS DE SOLO COM APLICAÇÃO DE DOSES CUMULATIVAS  
DE XISTO RETORTADO

CURITIBA

2016



MAYARA GABRIELA GONÇALVES

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESPECTROSCÓPICA DE SUBSTÂNCIAS  
HÚMICAS EXTRAÍDAS DE SOLO COM APLICAÇÃO DE DOSES CUMULATIVAS  
DE XISTO RETORTADO

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Iara Messerschmidt

Coorientador: Prof. Dr. Lauro Camargo Dias Jr.

CURITIBA

2016

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR  
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

G635c

Gonçalves, Mayara Gabriela

Caracterização química e espectroscópica de substâncias húmicas extraídas de solo com aplicação de doses cumulativas de xisto retortado [recurso eletrônico] / Mayara Gabriela Gonçalves. – Curitiba, 2016.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2016.

Orientador: Iara Messerschmidt – Coorientador: Lauro Camargo Dias Junior.

1. Humus. 2. Matéria orgânica do solo. 3. Substâncias húmicas. 4. Xisto. I. Universidade Federal do Paraná. II. Messerschmidt, Iara. III. Dias Junior, Lauro Camargo. IV. Título.

CDD: 631.417

Bibliotecário: Elias Barbosa da Silva CRB-9/1894



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA -  
40001016026P2

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **MAYARA GABRIELA GONÇALVES** intitulada: **Caracterização química e espectroscópica de substâncias húmicas extraídas de solo com aplicação de doses cumulativas de xisto retornado**, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 31 de Março de 2016.

IARA MESSERSCHMIDT

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

JÚLIO CÉSAR RODRIGUES DE AZEVEDO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ)

NOEMI NAGATA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

À minha família, dedico.

## AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho não seria possível sem a participação de várias pessoas e instituições as quais gostaria de agradecer:

À professora Iara Messerschmidt pela orientação, ensinamentos, apoio e compreensão em momentos difíceis. Ao professor Lauro pela co-orientação e dedicação durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Dr. Betania Fraga Pereira pelas valiosas contribuições nas discussões e pela disposição em ajudar sempre que possível. À Estela Mari da Cunha Cardoso que, além de colega de laboratório, participou ativamente deste trabalho.

Aos professores da banca de defesa Noemi Nagata e Julio Cesar Rodrigues Azevedo, e ao professor Gilberto Abate, que esteve na banca de qualificação, por todas as correções e sugestões que enriqueceram este trabalho.

Aos doutores. Rosane Martinazzo e Carlos Augusto Posser da Embrapa Clima Temperado pela disposição em ajudar em várias discussões. À Embrapa Clima Temperado e à FAPEG, Fundação de Apoio à Pesquisa Edmundo Gastal, pelo apoio financeiro desde o ingresso no Projeto Xisto Agrícola.

Ao CNPq pela bolsa de mestrado.

Aos colegas do Projeto Xisto Agrícola: Aline Garus, Rafael Dolatto, Rafael Presbiteris e Jeniffer Vanelle dos Santos pela cooperação e momentos de descontração.

Ao professor Mangrich e todos os colegas de Labppam: Aline, Juliana, Estela, Priscila, Younas, Rafael e Nayana, pelo bom relacionamento e companheirismo.

Aos professores do Departamento de Química – UFPR, que muito contribuíram para minha formação.

Aos técnicos e funcionários do Departamento de Química – UFPR, por todas as vezes que me auxiliaram.

Aos meus irmãos (Paulo, Marina, Melyssa, Gabryel e Vítor), eternos companheiros de jornada, pelo incentivo em cada etapa da minha vida. A minha cunhada Bia, pela amizade e torcida. Ao Leonardo por trazer leveza às minhas manhãs.

Aos meus pais por todo esforço, apoio e amor para que eu realize meus sonhos.

## RESUMO

O aproveitamento de subprodutos do processo de industrialização do xisto na agricultura tem sido considerado uma estratégia para aumentar a oferta de produtos com eficiência agronômica e baixo custo ao agricultor. Neste sentido, o entendimento sobre as possíveis alterações na matéria orgânica do solo (MOS), mais especificamente nas substâncias húmicas (SH), em decorrência da adição do Xisto retornado (XR) (principal subproduto sólido da industrialização de xisto) ao solo é de grande relevância para ampliar o conhecimento a respeito do uso deste material, do ponto de vista da eficiência agronômica e da segurança ambiental. Desta maneira, foram realizadas extrações sequenciais das frações ácido húmico (AH), ácido fúlvico (AF) e humina de solos que receberam adições crescentes de XR (seis tratamentos - T1 a T6). As amostras de solo foram coletadas em experimento de longa duração (DS/UFMS/Santa Maria/RS) em: 11/2011 (1ª coleta), DA (dose acumulada de XR) = 9000 kg ha<sup>-1</sup>; 06/2012 (2ª coleta), DA de XR = 12000 kg ha<sup>-1</sup>) e 01/2013 (3ª coleta), DA = 15000 kg ha<sup>-1</sup> de XR, sendo esta a maior dose acumulada. Assim, foram efetuados estudos dos solos e suas SH comparando ou combinando várias técnicas, incluindo análise químicas dos solos, análise elementar CHN, Análise Termogravimétrica e métodos espectroscópicos, tais como, espectroscopia no ultravioleta-visível, infravermelho, EPR e fluorescência molecular. A concentração de radicais livres orgânicos obtidos por EPR, o índice termogravimétrico, o índice de aromaticidade e Análise de Componentes Principais (PCA) dos espectros de infravermelho não diferenciaram os tratamentos realizados nos solos, mas permitiram a diferenciação das amostras de solos e SH das 1ª e 4ª coletas, mais humificadas, das amostras das 2ª e 3ª coletas, menos humificadas. Adicionalmente, foram realizados modelos de predição de carbono nos solos e AH a partir dos espectros de infravermelho, utilizando como métodos de referência a análise elementar e o método Walkley & Black. Os modelos desenvolvidos com as amostras de solos apresentaram menores coeficientes de determinação que o modelo realizado nas amostras de AH, uma vez que estas últimas possuem maior concentração de carbono e menores interferências dos minerais do solo. Foi constatada, ainda, a influência da concentração da solução de hidróxido de sódio (NaOH) utilizada no processo de extração das SH, sendo possível concluir que a menor concentração de NaOH propiciou a formação de SH mais condensadas e com maior razão C/N. Por fim, a caracterização química e espectroscópica dos solos e das SH permitiu inferir que a aplicação de XR de forma isolada no solo acarretou o aumento da acidez e da razão H/C, podendo ser considerado nocivo à qualidade dos solos. No entanto, o efeito sinérgico do XR com adubação convencional (NPK) promoveu aumento nas concentrações de cátions trocáveis do solo, na aromaticidade e na razão C/N das SH, melhorando, portanto, alguns atributos do solo.

Palavras-chave: Matéria orgânica do solo. Subprodutos da industrialização de xisto. Análises Quimiométricas.

## ABSTRACT

The use of oil shale industrialization process by-products in agriculture has been considered a strategy to increase the products supply with agronomic efficiency and lower cost to the farmer. In this context, the understanding of the possible changes in soil organic matter (SOM), more specifically in the humic substances (HS), due to the addition of retorted oil shale (ROS) (main solid by-product of the oil shale industrialization) to the ground is of great relevance to knowledge expansion concerning the use of this material, from the point of view of the agronomic efficiency and environmental safety. Therefore, sequential extraction of humic acid fractions (HA), fulvic acid (FA) and humin soil that received increasing additions of ROS (six treatments - T1 to T6) were conducted. Soil samples were collected in long-term experiment (DS / UFSM / Santa Maria / RS) on: 11/2011 (1st collection), AD (accumulated dose of ROS) = 9000 kg ha<sup>-1</sup>; 06/2012 (2nd collection), AD ROS = 12000 kg ha<sup>-1</sup>) and 01/2013 (3rd collection), AD = 15000 kg ha<sup>-1</sup> ROS, which is the highest cumulative dose. Thus, soil studies and their HS were carried out comparing or combining various techniques, including soil chemical analysis, CHN elemental analysis, thermogravimetric analysis and spectroscopic methods such as ultraviolet-visible spectroscopy, infrared, EPR and molecular fluorescence. The concentration of organic free radicals obtained by EPR, the thermogravimetric index, the aromaticity index and Principal Component Analysis (PCA) of the infrared spectra did not differentiate the soil treatments carried out, although they allowed differentiation of soil samples and HS of 1st and 4th collections, more humidified, and samples of 2nd and 3rd collections, less humidified. Furthermore, soil carbon prediction models were made and HA from infrared spectra using as reference elemental analysis and Walkley & Black's method. The models developed with soil samples presented smaller determination coefficients than the model performed on the HA samples, since the latter have a higher carbon concentration and lower soil minerals interference. It has been found, further, the influence of sodium hydroxide (NaOH) concentration used in the HS extraction process, being possible to conclude that the lowest NaOH concentration has provided the more condensed HS formation with higher C/N ratio. Finally, the chemical and spectroscopic soil and HS characterization allowed to infer that the application of isolated ROS on the ground led to acidity and H/C ratio growth, which may be considered harmful to the soil quality. However, the synergistic ROS effect with conventional fertilizing (NPK) increased exchangeable soil cations concentration, aromaticity and C/N ratio of SH, improving, therefore, some soil attributes.

Keywords: Soil organic matter. By-products of the oil shale industrialization. Chemometric analyzes.



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: OCORRÊNCIA DE ÓLEO E GÁS DE XISTO NO BRASIL – (A) MAPA DAS BACIAS SEDIMENTARES COM POTENCIAL DE EXPLORAÇÃO (EIA/ARI, 2015); (B) AFLORAMENTO DA FORMAÇÃO IRATI NO SUL DO BRASIL .....	20
FIGURA 2: FLUXOGRAMA GERAL DO PROCESSO PETROSIX .....	21
FIGURA 3 - POSSÍVEIS MECANISMOS DE FORMAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DO SOLO .....	30
FIGURA 4 - MODELO MACROMOLECULAR: estrutura hipotética proposta para os ácidos húmicos por Schulten e Schnitzer .....	32
FIGURA 5 - MODELO MACROMOLECULAR: estrutura hipotética proposta para os ácidos fúlvicos por Schnitzer .....	32
FIGURA 6 – MODELO MACROMOLECULAR: ESTRUTURA TRIDIMENCIONAL DOS AH PROPOSTO POR SCHULTEN E SCHNITZER .....	33
FIGURA 7 - MODELO SUPRAMOLECULAR DAS SH PROPOSTO POR SIMPSON .....	34
FIGURA 8 - PRINCIPAIS CROMÓFOROS DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS QUE ABSORVEM NA REGIÃO DO VISÍVEL .....	40
FIGURA 9 - ESQUEMA MOSTRANDO: A) EFEITO ZEEMAN: DESDOBRAMENTO DOS NÍVEIS DE ENERGIA DO SPIN ELETRÔNICO NA PRESENÇA DE UM CAMPO MAGNÉTICO; B) FORMA DA LINHA DE ABSORÇÃO DE ENERGIA DO CAMPO DE MICROONDAS; C) PRIMEIRA DERIVADA DA LINHA DE ABSORÇÃO .....	46
FIGURA 10 - ESQUEMA DA ESTABILIZAÇÃO DO RADICAL LIVRE DO TIPO SEMIQUINONA.....	47
FIGURA 11 - PONTO FINAL DA REAÇÃO WALKLEY & BLACK.....	55
FIGURA 12 - FLUXOGRAMA DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO, FRACIONAMENTO E PURIFICAÇÃO DAS SH .....	57
FIGURA 13 - GRÁFICOS BIPLOTS DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DAS ANÁLISES QUÍMICAS DOS SOLOS DA 1ª COLETA: (A) PC2 VS. PC1; (B) PC3 VS. PC1 .....	67
FIGURA 14 -A PORCENTAGEM DE VARIÂNCIA CAPTURADA ACUMULADA EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS	

	DE SOLO (23 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR; 14 B – RMSEC E RMSECV EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE SOLO (23 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR .....	70
FIGURA 15	A - MODELO 1: MODELO DE CALIBRAÇÃO COM 5 VL PARA DETERMINAÇÃO DE CARBONO TOTAL NAS AMOSTRAS DE SOLO (23 AMOSTRAS) POR INFRAVERMELHO UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR. 15 B – GRÁFICO DE LEVERAGE X RESÍDUOS STUDENTIZADOS DO MODELO.....	72
FIGURA 16	A - MODELO 2: MODELO DE CALIBRAÇÃO COM 9 VL PARA DETERMINAÇÃO DE CARBONO TOTAL NAS AMOSTRAS DE SOLO (23 AMOSTRAS) POR INFRAVERMELHO UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR. 16 B - GRÁFICO DE LEVERAGE X RESÍDUOS STUDENTIZADOS DO MODELO 2.....	74
FIGURA 17	A - PORCENTAGEM DE VARIÂNCIA CAPTURADA ACUMULADA EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE SOLO (22 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR. 17 B - RMSEC E RMSECV EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE SOLO (22 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR .....	75
FIGURA 18	A - MODELO 3: MODELO DE CALIBRAÇÃO COM 4 VL PARA DETERMINAÇÃO DE CARBONO TOTAL NAS AMOSTRAS DE SOLO (22 AMOSTRAS) POR INFRAVERMELHO UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR. 18 B - GRÁFICO DE LEVERAGE X RESÍDUOS STUDENTIZADOS DO MODELO 3.....	76
FIGURA 19	A – PORCENTAGEM DE VARIÂNCIA CAPTURADA ACUMULADA EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE SOLO (23 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE WALKLEY & BLACK. 19 B - RMSEC E RMSECV EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE SOLO (23 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE WALKLEY & BLACK .....	78

FIGURA 20 A – MODELO 4: MODELO DE CALIBRAÇÃO COM 8 VL PARA DETERMINAÇÃO DE CARBONO ORGÂNICO NAS AMOSTRAS DE SOLO (23 AMOSTRAS) POR INFRAVERMELHO UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE WALKLEY & BLACK. 20 B - GRÁFICO DE LEVERAGE X RESÍDUOS STUDENTIZADOS DO MODELO 4.....	79
FIGURA 21 - ESPECTROS MÉDIOS DE DRIFT DOS SOLOS PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS (1ª COLETA) .....	82
FIGURA 22 – GRÁFICO DE SCORES DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PC1 VS. PC2) OBTIDOS A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DOS SOLOS .....	84
FIGURA 23 - GRÁFICOS DE LOADINGS DAS COMPONENTES PRINCIPAIS PC1 E PC2 OBTIDOS A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DOS SOLOS E ESPECTROS REPRESENTATIVOS DAS VARIAÇÕES (SC2T4 E SC4T4).....	84
FIGURA 24 A – PORCENTAGEM DE VARIÂNCIA CAPTURADA ACUMULADA EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE AH (16 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR. 24 B – RMSEC E RMSECV EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE AH (16 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR.....	89
FIGURA 25 A - MODELO 5: MODELO DE CALIBRAÇÃO COM 3 VL PARA DETERMINAÇÃO DE CARBONO TOTAL NAS AMOSTRAS DE AH (16 AMOSTRAS) POR INFRAVERMELHO UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR. 25 B - GRÁFICO DE LEVERAGE X RESÍDUOS STUDENTIZADOS DO MODELO 5.....	91
FIGURA 26 A - MODELO 6: MODELO DE CALIBRAÇÃO COM 7 VL PARA DETERMINAÇÃO DE CARBONO TOTAL NAS AMOSTRAS DE AH (16 AMOSTRAS) POR INFRAVERMELHO UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR. 26 B – GRÁFICO DE LEVERAGE X RESÍDUOS STUDENTIZADOS DO MODELO 6.....	92
FIGURA 27 - ESPECTROS MÉDIOS DE DRIFT DOS AH PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS (1ª COLETA) .....	95

FIGURA 28 – ESPECTROS MÉDIOS DE DRIFT DAS HU PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS (1ª COLETA).....	96
FIGURA 29 - GRÁFICO DE SCORES DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PC1 VS. PC2) OBTIDOS A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DOS ÁCIDOS HÚMICOS. ....	98
FIGURA 30 - GRÁFICOS DE <i>LOADINGS</i> DAS COMPONENTES PRINCIPAIS PC1 E PC2 OBTIDOS A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DOS AH E ESPECTROS REPRESENTATIVOS DAS VARIAÇÕES (AHC2T4 E AHC4T4).....	99
FIGURA 31 - GRÁFICO DE SCORES DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PC1 VS. PC2) OBTIDOS A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DAS HUMINAS.....	100
FIGURA 32 - GRÁFICOS DE <i>LOADINGS</i> DAS COMPONENTES PRINCIPAIS PC1 E PC2 OBTIDOS A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DAS HU E ESPECTROS REPRESENTATIVOS DAS VARIAÇÕES (HUC2T4 E HUC4T4).....	100
FIGURA 33 – PERFIL DOS ESPECTROS DE EPR PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS DAS AMOSTRAS DE (A) ÁCIDOS HÚMICOS E (B) HUMINAS.....	101
FIGURA 34 - GRÁFICO <i>BILOT</i> DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PC1 VS. PC2) OBTIDOS A PARTIR DOS PARÂMETROS DE AROMATICIDADE DOS AH.....	109
FIGURA 35 - GRÁFICO DE SCORES DA PRIMEIRA COMPONENTE PRINCIPAL (PC1) OBTIDO A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DOS AH EXTRAÍDOS PELOS MÉTODOS A E B .....	110
FIGURA 36 - GRÁFICO DE <i>LOADINGS</i> DA PRIMEIRA COMPONENTE PRINCIPAL, PC1, OBTIDO A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT AH EXTRAÍDOS PELOS MÉTODOS A E B E ESPECTROS REPRESENTATIVOS DAS VARIAÇÕES (AHC4T4A E AHC4T4B).....	111
FIGURA 37 - GRÁFICO DE SCORES DA PRIMEIRA COMPONENTE PRINCIPAL (PC1) OBTIDO A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DAS HU EXTRAÍDAS PELOS MÉTODOS A E B.....	111
FIGURA 38 - GRÁFICO DE <i>LOADINGS</i> DA PRIMEIRA COMPONENTE PRINCIPAL, PC1, OBTIDO A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DAS HU	

EXTRAÍDAS PELOS MÉTODOS A E B E ESPECTROS REPRESENTATIVOS DAS VARIAÇÕES (HUC4T4A E HUC4T4B)	112
FIGURA 39 - ESPECTROS DE EMISSÃO DOS AF COM EXCITAÇÃO DE 240 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B	113
FIGURA 40 - ESPECTROS DE EMISSÃO DOS AF COM EXCITAÇÃO DE 295 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B	113
FIGURA 41 - ESPECTROS DE EMISSÃO DOS AH COM EXCITAÇÃO DE 240 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B	115
FIGURA 42 - ESPECTROS DE EMISSÃO DOS AH COM EXCITAÇÃO DE 295 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B	115
FIGURA 43 - ESPECTROS DE VARREDURA SINCRONIZADA DOS AF COM $\Delta\lambda$ 18 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B	116
FIGURA 44 - ESPECTROS DE VARREDURA SINCRONIZADA DOS AF COM $\Delta\lambda$ 65 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B	117
FIGURA 45 - ESPECTROS DE VARREDURA SINCRONIZADA DOS AH COM $\Delta\lambda$ 18 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B	118
FIGURA 46 - ESPECTROS DE VARREDURA SINCRONIZADA DOS AF COM $\Delta\lambda$ 45 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B	118

## **LISTA DE QUADROS**

QUADRO 1 - ATRIBUIÇÃO DE BANDAS CARACTERÍSTICAS DE DEFORMAÇÕES E ESTIRAMENTOS VIBRACIONAIS DOS AH .....	43
--	----

## LISTA DE TABELAS

TABELA1 - COMPOSIÇÃO MINERAL DO XISTO RETORTADO DETERMINADA POR DIFERENTES AUTORES .....	23
TABELA 2 - COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DO XISTO RETORTADO DA INDÚSTRIA DE SÃO MATEUS DO SUL .....	23
TABELA 3 - ALGUMAS PROPRIEDADES DAS FRAÇÕES DAS SH.....	29
TABELA 4 - COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DAS FRAÇÕES DE SH .....	39
TABELA 5 - DOSES DE XISTO RETORTADO E DE ADUBAÇÃO DE BASE E ÉPOCA DE COLETA DAS AMOSTRAS DE SOLO EM EXPERIMENTO EM CONDIÇÕES DE CAMPO REALIZADO NO DEPARTAMENTO DE SOLOS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA, EM SANTA MARIA (RS) .....	52
TABELA 6 - PARÂMETROS PARA AQUISIÇÃO DOS ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR .....	61
TABELA 7 - RESULTADOS DAS DETERMINAÇÕES (N = 3) DE PARÂMETROS AGRONÔMICOS PARA OS SOLOS DE SANTA MARIA (1ª COLETA – C1, PROFUNDIDADE DE 0-5 CM PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS (T1-T6).....	64
TABELA 8 - RESULTADOS DAS DETERMINAÇÕES (N = 3) DE PARÂMETROS AGRONÔMICOS PARA OS SOLOS DE SANTA MARIA (1ª COLETA – C1, PROFUNDIDADE DE 0-5 CM PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS (T1-T6).....	64
TABELA 9 - TEORES DE C TOTAL POR ANÁLISE ELEMENTAR (C <sub>CNH</sub> ) E CARBONO ORGÂNICO PELO MÉTODO WALKLEY & BLACK (C <sub>WB</sub> ) DOS SOLOS .....	68
TABELA10 - ÍNDICE TERMOGRAVIMÉTRICO DOS ÁCIDOS HÚMICOS .....	86
TABELA11 - PERCENTUAL DE C, H E N NOS ÁCIDOS HÚMICOS E RAZOES ATÔMICAS H/C E C/N.....	87
TABELA12 - RAZÕES E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub> PARA AS AMOSTRAS DE AH E HU DAS 1ª, 2ª, 3ª E 4ª COLETAS E DOS TRATAMENTOS T1, T2, T3, T4, T5 E T6 .....	93
TABELA13 - ÍNDICE DE AROMATICIDADE PARA AS AMOSTRAS DE AH DAS 1ª, 2ª, 3ª E 4ª COLETAS E DOS TRATAMENTOS T1 A T6 .....	97
TABELA 14 - DENSIDADE DE SPIN E FATOR g DAS AMOSTRAS DE AH E HU	103

TABELA15 - RAZÃO $E_4/E_6$ E SPIN $g^{-1}$ DOS AH E HU EXTRAÍDOS PELOS MÉTODOS A E B.....	106
TABELA16 - ÍNDICE DE AROMATICIDADE NO IV (IA) E RAZÕES ATÔMICAS H/C E C/N DOS AH EXTRAÍDOS PELOS MÉTODOS A E B.....	107



## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

- AF - Ácido Fúlvico
- AH - Ácido Húmico
- HCA - Análise de agrupamento hierárquico
- ANOVA - Análise de variância
- COT - Carbono orgânico total
- CTC - Capacidade de troca de cátions
- DRIFT - Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa
- DRUV-VIS - Espectroscopia no Ultravioleta e Visível por Reflectância Difusa
- DSEA-UFPR - Departamento de solos e engenharia agrícola da Universidade Federal do Paraná
- EFM - Espectroscopia de Fluorescência Molecular
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- EPR - Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica
- HU - Humina
- IA - Índice de Aromaticidade
- IHSS - Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas
- ITG - Índice Termogravimétrico
- LABEPR - Laboratório Regional Sul de EPR
- LABPPAM - Laboratório de Projetos e Processos Ambientais
- MID - Espectrofotometria no infravermelho médio
- MOS - Matéria orgânica do solo
- MQ - Média quadrática
- NIR - Espectrofotometria no infravermelho próximo
- PCA - Análise de Componentes Principais
- PLS - Regressão por Mínimos Quadrados Parciais
- RLO - Radical livre orgânico
- RMSEC - Raíz do erro médio de calibração
- RMSECV - Raíz do erro médio de validação cruzada
- SH - Substâncias Húmicas
- SMP - Solução tampão (Shoemaker, McClean e Pratt).
- SQ - Soma quadrática

Tg - Análise Termogravimétrica  
VL - Número de variáveis latentes  
WB - Método de Walkley & Black  
XR - Xisto retornado  
DQ/UFPR - Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná  
DS/UFSM - Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria  
DMS - Diferença Mínima Significativa  
GL - Graus de liberdade

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\lambda_{em}$  - Comprimento de onda de Emissão

$\lambda_{exc}$  - Comprimento de onda de Excitação

$\lambda$  : Comprimento de onda

$\nu$  - Estiramento

$\delta$  : Deformação

G : Gauss

$g$  – Fator  $g$

Da – Unidade de massa atômica Dalton

$\Delta\lambda$  – Deslocamento de Stoke

$h_{lim}$  - *Leverage* limite

$E_4/E_6$  - Razão entre as absorbâncias em 465 nm e 665 nm

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
1.1.	OBJETIVOS .....	18
1.1.1.	Objetivo geral .....	18
1.1.1	Objetivos específicos.....	18
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>19</b>
2.1	A INDUSTRIALIZAÇÃO DO XISTO E SUA IMPORTÂNCIA REGIONAL.....	19
2.1.1	Projeto Xisto Agrícola .....	22
2.2	SOLOS .....	25
2.3	MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO .....	26
2.3.1	Substâncias Húmicas .....	27
2.3.1.1	Fracionamento químico das SH.....	34
2.4	CARACTERIZAÇÃO DAS SH .....	36
2.4.1	Análise Termogravimétrica (TG).....	36
2.4.2	Métodos de determinação de carbono .....	37
2.4.2.1	Método de Walkley & Black .....	38
2.4.2.2	Análise elementar CHN .....	38
2.4.3	Métodos Espectroscópicos .....	39
2.4.3.1	Espectroscopia UV-Vis .....	40
2.4.3.2	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa (DRIFT).....	41
2.4.3.3	Espectroscopia de Fluorescência Molecular .....	44
2.4.3.4	Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica.....	46
2.5	ANÁLISES QUIMIOMÉTRICAS.....	48
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>52</b>
3.1	EXPERIMENTO DE CAMPO E AMOSTRAGEM .....	52
3.2	DESCRIÇÃO DAS AMOSTRAS .....	53
3.3	ANÁLISES QUÍMICAS DOS SOLOS .....	53
3.4	DETERMINAÇÃO DE CARBONO.....	54
3.4.1	Determinação de carbono orgânico dos solos.....	54
3.4.2	Análise Elementar CHN dos solos e AH.....	56
3.5	EXTRAÇÃO, FRACIONAMENTO E PURIFICAÇÃO DAS SH .....	56
3.6	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG).....	58

3.7	MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS.....	59
3.7.1	Espectroscopia Ultravioleta-Visível por Reflectância Difusa (DRUV-VIS) ....	59
3.7.2	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa (DRIFT).....	59
3.7.3	Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Nuclear (EPR) .....	59
3.7.4	Espectroscopia de Fluorescência Molecular .....	60
3.8	ANÁLISES QUIMIOMÉTRICAS.....	61
3.8.1	Análises de Agrupamento Hierárquico e de Componentes Principais.....	61
3.8.2	Regressão por Mínimos Quadrados Parciais .....	62
3.9	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	63
<b>4</b>	<b>APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS .....</b>	<b>64</b>
4.1	ESTUDOS DOS SOLOS .....	64
4.1.1	Análises químicas dos solos: Parâmetros Agronômicos .....	64
4.1.2	Determinação de carbono nos solos .....	67
4.1.2.1	Determinação de C dos solos via Análise Elementar e Walkley & Black.....	67
4.1.2.2	Predição do teor de C nos solos por Espectroscopia de Infravermelho .....	69
4.1.3	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa (DRIFT).....	81
4.1.3.1	Análise de Componentes Principais dos espectros de Infravermelho .....	83
4.1.4	Conclusões parciais para os solos estudados.....	85
4.2	ESTUDOS DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS .....	86
4.2.1	Análise Termogravimétrica .....	86
4.2.2	Determinação de carbono nos AH.....	87
4.2.2.1	Predição do teor de C nos AH por Espectroscopia de Infravermelho.....	89
4.2.3	Métodos Espectroscópicos.....	93
4.2.3.1	Espectroscopia no UV-Vis por Reflectância Difusa - DRUV-VIS.....	93
4.2.3.2	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa (DRIFT).....	95
4.2.3.2.1	Análise de Componentes Principais dos Espectros de Infravermelho...98	
4.2.3.3	Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica.....	101
4.2.4	Conclusões parciais para os AH extraídos de solos condicionados com XR	
	105	
4.3	INFLUÊNCIA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DE SOLOS COM APLICAÇÃO DE XR.....	106

4.3.1	Influência da extração na aromaticidade de AH e HU .....	106
4.3.2	Estudos por Espectroscopia de Fluorescência Molecular .....	112
4.3.2.1	Modalidade Emissão .....	112
4.3.2.2	Modalidade Sincronizada .....	116
4.3.3	Conclusões parciais para a influência do método extração .....	119
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>120</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>122</b>
	<b>APÊNDICE 1 – VALORES DE REFERÊNCIA PARA INTERPRETAÇÃO DE</b>	
	<b>ANÁLISES QUÍMICAS DO SOLO.....</b>	<b>139</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial nos últimos anos tem acarretado uma demanda cada vez maior por alimentos, requerendo o aumento da produção por área cultivada (JABER e PROBERT, 1999; PATERNIANI, 2001). No Brasil, a grande dependência por insumos agrícolas importados aliada à crescente busca pelo desenvolvimento sustentável tem ocasionado o crescimento do interesse no uso de fontes alternativas de fertilizantes. Dentre os recursos disponíveis, o uso de determinados subprodutos de processos industriais ou da própria agricultura é uma das opções mais interessantes do ponto de vista econômico, ambiental e social (ANDA, 2004; LOPES, 2005).

A possibilidade de reaproveitamento de rejeitos industriais na agricultura poderá acarretar na diminuição de importação de fertilizantes convencionais e reduzir o volume de resíduos a ser descartado, o que gera benefícios ao meio ambiente e aos processos industriais. Neste contexto, os subprodutos da industrialização do xisto (folhelho orgânico) são exemplos de materiais cujo emprego na agricultura tem sido considerado uma estratégia para aumentar a oferta de produtos com eficiência agrônômica e baixo custo ao agricultor.

Dentre estes subprodutos, o xisto retornado (XR), destaca-se por ser gerado em maior quantidade, cerca de 80 a 90% da matéria-prima que entra no processo, na Unidade de Industrialização do Xisto em São Mateus do Sul, PR. Além disso, apresenta teor de matéria orgânica significativo, elevada capacidade de troca catiônica (CTC), elementos benéficos às plantas (PEREIRA e VITTI, 2004) e estudos indicam que sua aplicação no solo gera o aumento dos teores de silício e soma de bases trocáveis (PEREIRA et al., 2003; PEREIRA; VITTI, 2004; CHAVES; VASCONCELOS, 2006).

Diante de tais particularidades, o Projeto Xisto Agrícola surgiu com o objetivo de desenvolver novos insumos para a agricultura a partir de subprodutos do xisto, incluindo o XR. No entanto, faz-se necessário estudos para avaliar a eficiência agrônômica, a segurança ambiental e segurança dos alimentos cultivados nestes solos.

Nesse sentido, a avaliação dos possíveis efeitos provocados pela aplicação de subprodutos do xisto nas características químicas (alterações de pH, concentrações de nutrientes, CTC, etc.), físicas (retenção de água, formação de

agregados, porosidade) e biológicas (alteração biológica, degradação) do solo, vêm sendo amplamente relatada em estudos recentes (CHAVES e VASCONCELOS, 2006; SANTOS, 2009; DOUMER et al., 2011; CARDOSO, 2013; COLIMO, 2013; LEÃO et al., 2014, SANTOS, 2015).

No que concerne à segurança ambiental, é relevante a avaliação da matéria orgânica do solo (MOS), uma vez que esta é um componente essencial e indicador de qualidade de solos. A maior porção da MOS, cerca de 85 a 90%, é representada pelas substâncias húmicas (SH) as quais são amplamente estudadas devido às importantes funções que desempenham no solo, como o controle do pH, a mobilidade e biodisponibilidade de contaminantes, a formação de agregados do solo e a lixiviação de metais tóxicos (BAALOUSHA et al., 2006; HALLIN et al., 2013). O fracionamento das SH é uma ferramenta para análise qualitativa que propicia maior sensibilidade às análises (CANELLAS & SANTOS, 2005; PESSOA et al., 2013), sendo que o fracionamento químico em função de sua solubilidade a diferentes valores de pH é o mais amplamente utilizado e separa as SH em ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) e humina (HU).

Estudos da matéria orgânica do solo têm sido efetuados por meio de comparação e combinação de várias técnicas, incluindo-se Análise Elementar CHN, Análise Termogravimétrica e métodos espectroscópicos, tais como: Espectroscopia no Ultravioleta-visível por Reflectância Difusa (DRUV-VIS), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa (DRIFT), Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) e Espectroscopia de Fluorescência Molecular. Ademais, os métodos quimiométricos podem contribuir para esta investigação, permitindo a extração de mais informações a partir dos dados químicos e espectroscópicos.

Alguns estudos já foram realizados a fim de avaliar os efeitos dos subprodutos do xisto na MOS. Santos et al., (2013) analisaram a MO de uma área que vinha sendo recuperada há 30 anos após a mineração do xisto e verificaram, por RMN de  $^{13}\text{C}$ , uma forte contribuição de matéria orgânica fóssil, proveniente do XR utilizado para a reconstrução do perfil do solo minerado. Cardoso (2013) analisou as SH extraídas de solos de diferentes regiões que receberam doses de uma matriz fertilizante composta por Xisto Retornado, Finos de Xisto, Calcário de Xisto e de Enxofre elementar. Vale ressaltar que tais experimentos foram realizados em vasos e casa de vegetação e



com base nos resultados obtidos foi concluído que não houve modificação nas SH do solo.

A relevância do presente estudo se dá por avaliar os possíveis efeitos, especificamente do XR, nos solos e nas SH após aplicações de doses cumulativas deste subproduto em experimento de campo de longa duração.

## 1.1. OBJETIVOS

### 1.1.1. Objetivo geral

Caracterizar as substâncias húmicas extraídas de solos, que receberam aplicações cumulativas de xisto retornado, verificando as possíveis transformações na matéria orgânica do solo, em decorrência destas aplicações.

#### 1.1.1.1. Objetivos específicos

a) Caracterizar as amostras de solos empregando-se análises químicas de interesse agrônomo, análise elementar (CHN), análise do carbono orgânico (Método Walkley & Black) e Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa (DRIFT);

b) Caracterizar as SH por meio de análise termogravimétrica, análise elementar e dos seguintes métodos espectroscópicos: Espectroscopia no Ultravioleta visível por Reflectância Difusa (DRUV), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa (DRIFT), Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) e Espectroscopia de Fluorescência Molecular (EFM);

c) Realizar Análises Multivariadas para comparar as amostras de solos, AH e HU testemunhas com aquelas condicionadas com xisto retornado;

d) Propor modelos de predição de carbono em amostras de solo e AH empregando espectroscopia no infravermelho médio.

e) Avaliar a influência da concentração da solução de NaOH durante o processo de extração nas características estruturais das SH.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 A INDUSTRIALIZAÇÃO DO XISTO E SUA IMPORTÂNCIA REGIONAL

O xisto (folhelho orgânico, pela nomenclatura geológica) é uma rocha sedimentar com altos teores de matéria orgânica que resulta da transformação ao longo de milhões de anos de materiais minerais e orgânicos no fundo de grandes mares e lagos interiores (PIMENTEL *et al.*, 2006; MARASCHIN e RAMOS, 2015). A matéria orgânica encontrada no xisto é formada, basicamente por longas cadeias aromáticas condensadas, alcanos e ácidos graxos. Na fração mineral da rocha pode ser encontrado quartzo, feldspatos, argilas (principalmente illita e clorita), carbonatos (calcita e dolomita), pirita e outros minerais (YEN e CHILINGAR, 1976).

Em algumas reservas, os folhelhos orgânicos se encontram preenchidos por óleo, gás natural e betume, um polímero orgânico bastante complexo e sem estrutura definida. Nestes casos as rochas podem ser designadas oleígenas ou betuminosas e a extração dos produtos do xisto é realizada normalmente por fracionamento hidráulico. No entanto, em algumas formações a matéria orgânica presente somente pode ser convertida em óleo ou betume por métodos artificiais como destilação fracionada ou pirólise. Embora também sejam denominadas frequentemente como rochas oleígenas ou betuminosas o termo mais adequado a estas é folhelhos orgânicos (MARASCHIN e RAMOS, 2015).

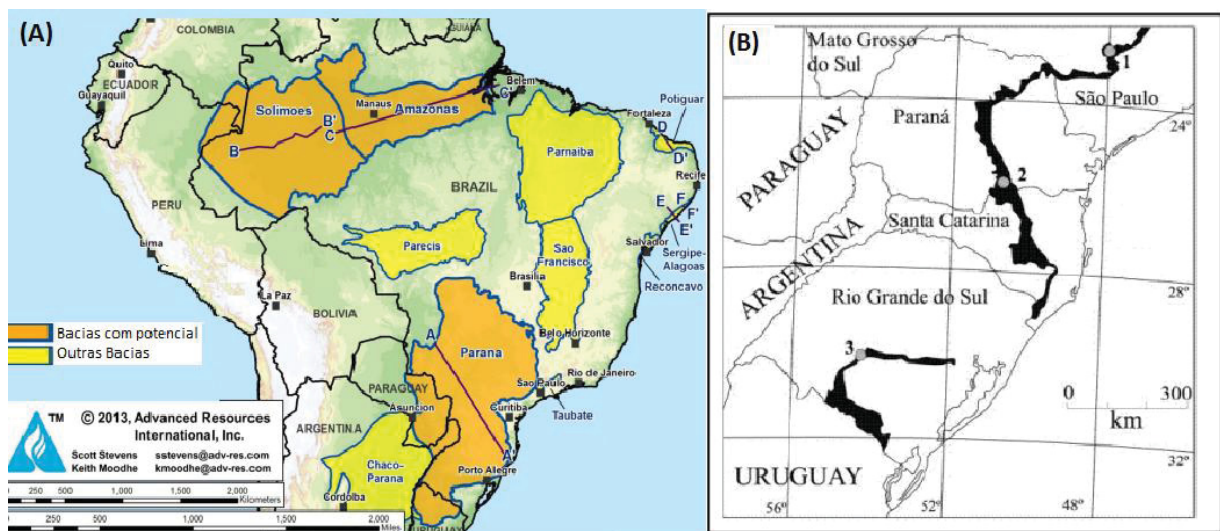
Os recursos de xisto encontram-se espalhados nos cinco continentes, sendo que as principais reservas estão localizadas nos seguintes países: Canadá, Estônia, China, Rússia, Austrália, Brasil, Estados Unidos, Jordânia, Zaire, Marrocos e Itália. As dimensões destes recursos variam desde pequenos acúmulos, sem valor econômico, até reservas com quantidades expressivas de xisto, como a Formação *Green River*, maior reserva mundial, localizada no oeste dos Estados Unidos, cujas estimativas indicam a existência de 213 bilhões de toneladas de óleo de xisto, o que gera cerca de 1,5 trilhões de barris (DYNI, 2006).

O Brasil possui 18 bacias sedimentares terrestres, das quais três apresentam potencial para produção de óleo e gás de xisto: Bacia de Solimões, Bacia do Amazonas e Bacia do Paraná (EIA – U.S *ENERGY INFORMATION ADMINISTRATION*, 2015). Na borda leste da Bacia do Paraná aflora a Formação Irati, reserva nacional mais importante, a qual abrange os estados de São Paulo, Paraná,

Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul e Goiás (PIMENTEL *et al.*, 2010; NICOLINI *et al.*, 2011; MARASCHIN e RAMOS, 2015) e possui capacidade de produzir 1,1 bilhão de barris de óleo, 73,8 bilhões de metros cúbicos de gás combustível, 4,5 milhões de toneladas de gás liquefeito e 48 milhões de toneladas de enxofre (MINEROPAR, 2010).

O conteúdo de carbono orgânico total (COT) do folhelho orgânico da Formação Irati oscila entre 8 e 13% em peso, podendo apresentar picos de até 24 %, no entanto, a rocha é muito fina e termicamente imatura (EIA – U.S ENERGY INFORMATION ADMINISTRATION, 2015). Assim, deve-se realizar a conversão da matéria orgânica por métodos artificiais para extrair o óleo ou o betume.

FIGURA 1: OCORRÊNCIA DE ÓLEO E GÁS DE XISTO NO BRASIL – (A) MAPA DAS BACIAS SEDIMENTARES COM POTENCIAL DE EXPLORAÇÃO (EIA/ARI, 2015); (B) AFLORAMENTO DA FORMAÇÃO IRATI NO SUL DO BRASIL



FONTE: Maraschin e Ramos, 2015.

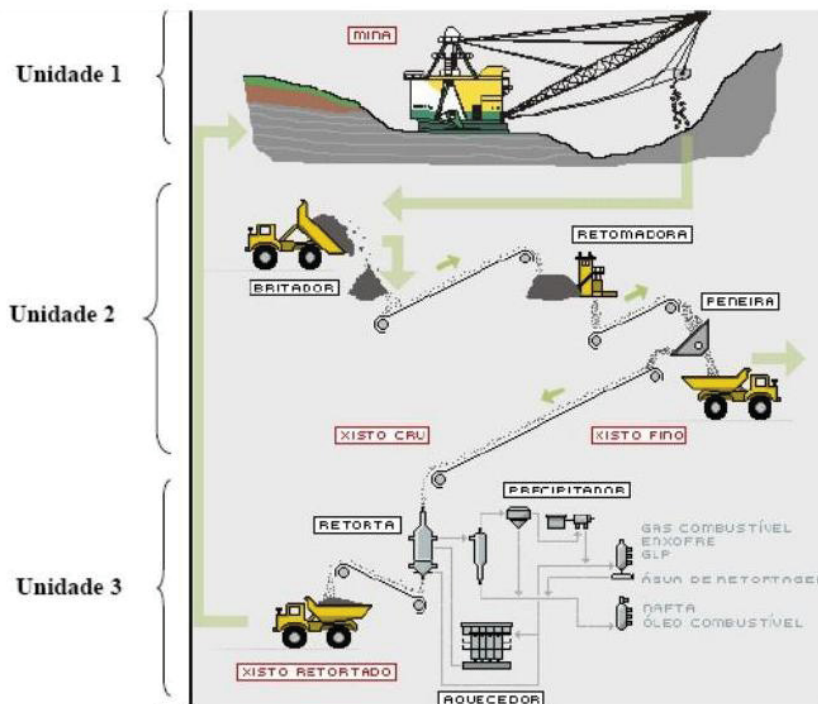
No município de São Mateus do Sul, localizado na porção Sul do estado do Paraná, a 140 km de Curitiba, a Petrobras desenvolveu um processo para extração do óleo por pirólise da rocha chamado Petrosix® (FERREIRA, 2009), o qual é reconhecido mundialmente como o mais avançado no aproveitamento do xisto (PIMENTEL *et al.*, 2010). A grande importância da extração e beneficiamento do óleo desse minério se deve a possibilidade de obter os mesmos derivados do petróleo de poço. Segundo a empresa, diariamente, cerca de 5.500 toneladas de xisto são processadas em São Mateus do Sul gerando cerca de 325 toneladas de óleo

combustível, 55 toneladas de nafta industrial, 70 toneladas de gás de xisto, 35 toneladas de gás liquefeito de petróleo (GLP) e 45 toneladas de enxofre.

Como ilustrado na FIGURA 2, o processo Petrosix é iniciado a céu aberto, na Unidade 1, onde a lavra do xisto é feita por tiras. Em seguida, o xisto entra na Unidade 2, onde é britado, peneirado e classificado em tamanho específico, entre 6 e 70 mm, para a retorta. O material que se encontra acima dessa granulometria volta para a britagem e abaixo dá origem ao primeiro subproduto desta mineração, os finos de xisto. Na Unidade 3 ocorre o processo de retortagem, onde o xisto é aquecido a temperaturas entre 450 e 550 °C para a decomposição da matéria orgânica da rocha-mãe na forma de hidrocarbonetos gasosos. Após o resfriamento, parte dos hidrocarbonetos se condensam e constituem o óleo de xisto e a fração que não se condensa nesta etapa constitui os gases da pirólise como o gás sulfídrico ( $H_2S$ ), o dióxido de carbono ( $CO_2$ ), o hidrogênio ( $H_2$ ) e hidrocarbonetos leves. Os gases de pirólise precisam passar por tratamento para separar a água do gás, recuperar os hidrocarbonetos e o enxofre e remover o gás sulfídrico (FERREIRA, 2009).

Cerca de 80 a 90 % da matéria-prima de alimentação sai do processo na forma de um subproduto sólido, chamado xisto retortado (XR).

FIGURA 2: FLUXOGRAMA GERAL DO PROCESSO PETROSIX



FONTE: Ferreira, 2009

Como mencionado, durante o processo ocorre a geração de diversos subprodutos sólidos e líquidos que podem servir de insumos industriais e agrícolas como: a) a água de xisto, gerada pela vaporização da água estrutural da rocha-mãe e que pode ser utilizada para a formulação de fertilizantes foliares e fitoprotetores; b) os finos de xisto, fragmentos de granulometria inferior a 6 mm sendo, portanto, inadequados para a pirólise e que podem ser utilizados como combustível em termoelétrica e caldeiras ou, ainda, como matéria-prima na produção de fertilizantes sólidos e de cerâmica; c) as cinzas de xisto, resultantes da queima dos finos, que podem ser incorporadas na produção de cimento; d) o calxisto, rocha carbonatada, também chamada marga dolomítica, apresenta potencial para uso na correção de acidez do solo e como fonte de nutrientes na formulação de fertilizante; e) o xisto retornado, pode ser aproveitado para fins energéticos, visto que possui considerável teor de matéria orgânica e, também, como fonte de macro e micronutrientes para a produção de fertilizantes sólidos (PEREIRA *et al.*, 2009).

### 2.1.1 Projeto Xisto Agrícola

As dimensões continentais do Brasil lhes conferem um grande potencial para alavancar sua produção agrícola. No entanto, há uma crescente dependência externa de insumos para a formulação de fertilizantes, sendo que em média 62% dos produtos usados na fabricação destes são importados de países como Estados Unidos e China (ANDA, 2004; LUPINACCI, 2012).

À medida que a demanda interna por alimentos nos países que detêm esses insumos agrícolas cresce, as exportações tendem a ser dificultadas, o que pressiona o Brasil a buscar recursos alternativos no território nacional (LUPINACCI, 2012). Dentre os recursos disponíveis, o uso de alguns tipos de resíduos de processos industriais ou da própria agricultura é uma das opções mais interessantes do ponto de vista econômico, ambiental e social (PIRES e MATTIAZZO, 2008).

A industrialização do xisto gera uma grande quantidade de resíduos com potencial para o uso na agricultura, e, nesse sentido, o Projeto Xisto Agrícola, desenvolvido pela Embrapa Clima Temperado em parceria com a Petrobras e algumas instituições de pesquisa surgiu com o objetivo de desenvolver produtos agrônômicos, como fitoprotetores e fertilizantes, a partir de subprodutos da

industrialização desse minério, bem como, avaliar sua segurança alimentar e ambiental (PETROBRAS/SIX, 2013).

Desde 2005, as matérias-primas calcário de xisto (CX), água de xisto (AX), finos de xisto (FX) e xisto retornado (XR) vêm sendo caracterizadas quimicamente pelas instituições vinculadas ao projeto constatando-se a presença de macro e micronutrientes essenciais ao desenvolvimento das plantas em quantidades consideráveis (PIMENTEL et al., 2006; FERNANDES-MACHADO e MIOTTO-BAGATAO, 2007; NICOLINI et al., 2011).

O xisto retornado (XR), resíduo majoritário da industrialização de xisto, possui teor de matéria orgânica significativo (em torno de 15% da matéria orgânica da rocha mãe), elevado teor de silício (CHAVES E VASCONCELOS, 2006), além da presença de outros elementos minerais importantes para o desenvolvimento das plantas (NICOLINI et al., 2011). Nas tabelas 1 e 2 são apresentadas, respectivamente, a composição mineral do XR obtida por diferentes autores (PIMENTEL et al., 2006; FERNANDES-MACHADO e MIOTTO-BAGATAO, 2007; NICOLINI et al., 2011) e a composição elementar de um lote de XR, coletado na indústria de São Mateus do Sul.

TABELA1 - COMPOSIÇÃO MINERAL DO XISTO RETORNADO DETERMINADA POR DIFERENTES AUTORES

Referência	Concentração (%)							
	SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	K <sub>2</sub> O	MgO	Na <sub>2</sub> O	CaO	TiO <sub>2</sub>
1	51,94	16,90	6,10	1,97	1,72	1,73	0,08	0,38
2	56,1	13,90	6,40	2,90	2,10	1,60	2,6	0,40
3	50,70	10,90	6,50	2,00	1,40	0,80	2,20	0,50

FONTE: (1) PIMENTEL et al., 2006; (2) FERNANDES-MACHADO e MIOTTO-BAGATAO, 2007; (3) NICOLINI et al., 2011, modificado pelo autor.

TABELA 2 - COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DO XISTO RETORNADO DA INDÚSTRIA DE SÃO MATEUS DO SUL

Elemento	Concentração
Nitrogênio (mg kg <sup>-1</sup> )	152
Carbono (%)	6,16
Fósforo (mg kg <sup>-1</sup> )	1547
Potássio (mg kg <sup>-1</sup> )	2746
Cálcio (mg kg <sup>-1</sup> )	11325

(continua)

(conclusão)	
Elemento	Concentração
Enxofre (mg kg <sup>-1</sup> )	840
Magnésio (mg kg <sup>-1</sup> )	2146
Boro (mg kg <sup>-1</sup> )	76
Zinco (mg kg <sup>-1</sup> )	112
Manganês (mg kg <sup>-1</sup> )	233
Molibdênio (mg kg <sup>-1</sup> )	7,1
Cobalto (mg kg <sup>-1</sup> )	14
Sódio (mg kg <sup>-1</sup> )	1675
Cloreto (mg kg <sup>-1</sup> )	359
Níquel (mg kg <sup>-1</sup> )	18
Cobre (mg kg <sup>-1</sup> )	69
Ferro (mg kg <sup>-1</sup> )	12934
Sílica (mg kg <sup>-1</sup> )	71,8
Arsênio (mg kg <sup>-1</sup> )	6,8
Selênio (mg kg <sup>-1</sup> )	<0,4
Mercúrio (mg kg <sup>-1</sup> )	0,19
Cromo (mg kg <sup>-1</sup> )	7,7
Chumbo (mg kg <sup>-1</sup> )	22
Cádmio (mg kg <sup>-1</sup> )	<0,042

FONTE: DOUMER *et al.*, 2011

Pereira e Vitti (2004) avaliaram os efeitos desse subproduto em cultura de tomate e concluíram que: (I) tanto nas folhas de tomateiro quanto no solo sobre o qual este foi cultivado houve aumento na quantidade de silício e enxofre; (II) não houve contaminação por metais tóxicos; (III) houve aumento da disponibilidade de fósforo no meio; (IV) a produtividade de tomates sofreu interferência positiva do tratamento com xisto retornado. Em vista disso, os resultados deste trabalho indicaram que os subprodutos do xisto, nas doses utilizadas, apresentam potencial para uso na agricultura.

Chaves e Vasconcelos (2006) apontaram um grande potencial do uso agrícola do xisto retornado devido ao seu teor de matéria orgânica (em torno de 15%) e silício, presença de elementos minerais importantes para o desenvolvimento das plantas, além de ter provocado um aumento significativo na soma de bases trocáveis do solo.

Colimo (2013) estudou vinhos produzidos a partir de uvas cultivadas em solos condicionados com subprodutos do xisto e verificou que os teores de metais e aminas biogênicas estiveram abaixo dos limites máximos definidos pela legislação ou concordantes com valores da literatura. Sendo assim, foi concluído que não houveram

diferenças significativas entre as amostras testemunha e as amostras provenientes de solos que receberam adições dos subprodutos.

Cardoso (2013) analisou as SH extraídas de solos de diferentes regiões com adição de xisto retornado, cujo experimento foi conduzido em vasos, e verificou-se que não houve discriminação das amostras em relação aos tratamentos. Houve apenas separação devido às diferentes classificações dos solos.

Em estudos recentes foram observados os efeitos do XR na diminuição das perdas de nitrogênio por volatilização de amônia (GIACOMINI *et al.*, 2015) e na retenção de carbono no solo (LEÃO *et al.*, 2014), podendo-se atribuir as reduções das emissões à melhoria da atividade microbiológica do solo resultante da adição de XR (DOUMER *et al.*, 2011).

## 2.2 SOLOS

Os solos são produtos da ação de processos de intemperismo e pedogênese. O intemperismo é responsável pela quebra mecânica e degradação química dos minerais das rochas que produzem um material precursor dos solos, o saprólito. Por meio de processos pedogenéticos de adições, perdas, translocações e transformações, o saprólito evolui para a formação dos solos, os quais são constituídos por horizontes ou camadas diferenciadas, capazes de sustentar a vida vegetal superior (LIMA *et al.*, 2008).

Os solos possuem grande importância para os ciclos hidrológicos e biogeoquímicos, sendo considerados filtros para espécies químicas que podem entrar nos sistemas aquáticos (SANTOS *et al.*, 2013). São compostos por três fases, sendo estas a líquida (solução do solo), a sólida (matéria orgânica e minerais) e a gasosa (ar), fases estas que podem ser encontradas em diferentes proporções, conforme as condições de clima do local (SPARKS, 2003). A solução do solo é o meio através do qual espécies químicas dissolvidas podem ser transportadas para águas subterrâneas ou superficiais, ou até as raízes das plantas e está em contato com a fase sólida, sendo fundamental para o fluxo de nutrientes e reações de oxirredução do solo (SOUSA *et al.*, 2002).

A fração inorgânica representa cerca de 90% da parte sólida do solo, e inclui os minerais primários, que podem ser alterado quimicamente, e secundários, produtos do intemperismo de um mineral primário. Entre esses minerais destacam-se os



silicatos, argilo-minerais, óxidos de ferro, óxidos de alumínio, carbonatos e sulfatos (SPARKS, 2003).

A degradação dos solos é uma das mais preocupantes ações antrópicas negativas sobre o meio ambiente, pois pode afetar direta e indiretamente, a vida do homem. A principal causa da degradação é devido ao mau uso do solo, gerando a redução da matéria orgânica e, conseqüentemente, alterações nas características físicas, químicas e biológicas do solo (SANTOS *et al.*, 2013).

### 2.3 MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO

Segundo a *Soil Society of America*, pode-se definir a matéria orgânica (MO) como “a fração orgânica do solo e sedimento, incluindo resíduos vegetais e animais em diferentes estágios de decomposição, tecidos e células de organismos e substâncias produzidas por habitantes do solo e sedimentos”.

A Matéria Orgânica do Solo (MOS) é parte de um sistema dinâmico influenciado por diversos fatores que afetam a entrada e transformação de compostos orgânicos no solo, como, por exemplo, o clima, a composição e origem das argilas e uso da terra (EBELING *et al.*, 2013).

A MOS é o segundo maior reservatório de carbono terrestre após as reservas fósseis e compreende componentes vivos e não-vivos (LIMA *et al.*, 2008; PRIMO *et al.*, 2011; PESSOA *et al.*, 2012). Os vivos representam 4% do total e são constituídos pelas raízes de plantas e os organismos do solo (PRIMO *et al.*, 2011). Os componentes não-vivos, apesar de sua constituição ser bastante complexa e heterogênea, podem ser divididos em duas frações principais. Tais frações, classificadas em lábeis e estáveis, respondem de forma diferenciada ao manejo do solo e às mudanças no uso da terra (LEITE *et al.*, 2015).

A primeira, fração lábil, é formada por substâncias bem definidas quimicamente e de baixa massa molar se comparada à fração estável. Neste grupo estão inclusos proteínas e aminoácidos, carboidratos, álcoois, aldeídos e ácidos carboxílicos aromáticos e alifáticos. Aproximadamente, 10 a 15 % da MOS é composta por essa fração, a qual possui um curto período de permanência no solo (meses ou alguns anos) devido a sua composição simples que favorece uma alta taxa de decomposição por microrganismos (LIMA *et al.*, 2008; PESSOA *et al.*, 2012; LEITE *et*

*al.*, 2015). Sua importância se deve, principalmente, ao fato de ser uma considerável fonte de carbono no solo (VON LÜTZOW *et al.*, 2007).

Por outro lado, a fração estável (85 a 90% da MOS), denominada substâncias húmicas (SH), é constituída por estruturas estáveis, com elevado tempo de residência no solo que pode chegar a centenas de anos. As SH se originam da degradação de resíduos orgânicos, seguido de reações de sínteses de compostos de alta massa molar (LIMA *et al.*, 2008; PESSOA *et al.*, 2012). Sua principal função é atuar sobre as condições físicas e químicas do solo além de ser importante dreno de C atmosférico (STEVENSON, 1994).

A MOS, como um todo, pode ser utilizada como indicador-chave da qualidade do solo pois responde mais rapidamente às interferências antrópicas quando comparada aos outros atributos do solo, até mesmo mais que o carbono orgânico total (COT) (PESSOA *et al.*, 2012; LEITE *et al.*, 2015).

A matéria orgânica do solo apresenta uma grande multiplicidade de funções além das já citadas. Em grande parte é devido a ela que o solo se apresenta agregado, com boa porosidade e com alta capacidade de retenção de água e nutrientes. Ao se combinar com argilas, cimenta partículas do solo em agregados e permite a troca de gases, aumentando a sua permeabilidade e atuando, assim, na conservação do solo contra a erosão. Além disso, auxilia na germinação de sementes, pois aumenta a retenção de calor (VAN RAIJ, 1987).

Segundo Primo *et al.* (2011) a adição e conservação da MOS em solos com baixo pH e baixa fertilidade natural, como do semiárido do Nordeste brasileiro, aumenta a capacidade produtiva dos solos em decorrência do aumento da CTC, rápida correção da acidez e aporte de nutrientes às plantas, além promover grande melhoria, também, nas propriedades físicas e biológicas dos solos da região.

### 2.3.1 Substâncias Húmicas

As substâncias húmicas (SH), encontradas amplamente em solos e águas naturais, são substâncias amorfas, de elevada massa molar aparente, coloração castanha ou preta e parcialmente aromáticas. Em sistemas terrestres e aquáticos as SH afetam a química e a biodisponibilidade dos elementos químicos, bem como, o

transporte e degradação de xenobióticos e compostos orgânicos naturais (CANELLAS E SANTOS, 2005; HALLIN *et al.*, 2013 ).

Nos solos, além de representarem a maior porção da MOS, as SH são amplamente estudadas devido às importantes funções que desempenham neste ambiente, como o controle do pH, a mobilidade e biodisponibilidade de nutrientes e de contaminantes solo e a lixiviação de metais tóxicos (BAALOUSHA *et al.*, 2005; HALLIN *et al.*, 2013).

Recentemente, foi mostrada a participação das SH no crescimento de plantas, agindo sobre vários mecanismos, como: respiração celular (aumenta a velocidade das reações enzimáticas do ciclo de Krebs), síntese de proteínas, absorção de água e nutrientes, atividades enzimáticas e fotossíntese (promove incremento no teor de clorofila) (FAHRAMAND *et al.*, 2014; ZANDONADI *et al.*, 2014; CARON *et al.*, 2015).

Dentre as características das SH destacam-se quatro que servem de base para o desempenho de várias funções no ambiente (CARON *et al.*, 2015):

- Polifuncionalidade: grupos funcionais diversificados, proporcionando amplo espectro de reatividade;
- Carga macromolecular negativa: permite maior associação à micro e macronutrientes do solo com carga positiva;
- Hidrofilicidade: tendência à formação de intensas ligações de hidrogênio com a água;
- Maleabilidade estrutural: capacidade de associação intermolecular e mudança na conformação molecular em função das características químicas do meio.

As SH em solos e sedimentos podem ser fracionadas quimicamente conforme suas características de solubilidade em: (I) huminas (HU): insolúvel em toda faixa de pH; (II) ácidos fúlvicos (AF): fração solúvel em meio básico e ácido; e (III) ácidos húmicos (AH): material de coloração escura solúvel em base (normalmente NaOH e Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) e insolúvel em meio ácido (pH ≤ 1) (EBELING *et al.*, 2013).

Com relação às estruturas e reatividade, estas frações também se distinguem entre si. As HU são pouco reativas, compostas por estruturas mais hidrofóbicas, fato que justifica sua insolubilidade em meio aquoso, e se encontram ligadas à fase inorgânica do solo por associações organominerais estáveis (DICK, SANTOS e FERRANTI, 2003).

A fração AF, possui massa molar relativamente baixa se comparado às demais frações. Além disso, apresenta maior conteúdo de grupos carboxílicos e

fenólicos, característica responsável por suas altas solubilidade em água e capacidade de troca catiônica (700 a 1000 meq/100 g) (CARON et al, 2015). Devido à sua alta CTC possui propriedade redutora e tende a formar complexos estáveis com cátions de Fe, Cu, Ca e Mg (DINIZ, 2011).

A fração AH, por sua vez, possui elevada massa molar, alto teor de ácidos carboxílicos e quantidade significativa de nitrogênio (TAN, 2014). Combina-se com cátions formando humatos, os quais podem precipitar (humatos de cálcio, magnésio, etc.) ou permanecer em dispersão coloidal (humatos de sódio, potássio, amônio, etc.) (DINIZ, 2011). Alguns autores consideram como mais uma fração os ácidos himatomelânicos, porção dos ácidos húmicos que é solúvel em álcool, forma suspensão coloidal quando em contato com a água e possui menor massa molar que os ácidos húmicos (STEVENSON, 1994; CARON *et al.*, 2015).

Na TABELA 3 são apresentadas algumas características das três frações principais. Vale salientar que os valores expostos abaixo referem-se às propriedades médias que podem variar consideravelmente dependendo da fonte ou processo de extração da SH e, ainda, que a massa molar se trata de um valor aparente.

TABELA 3 - ALGUMAS PROPRIEDADES DAS FRAÇÕES DAS SH

Propriedade	Ácidos fúlvicos	Ácidos húmicos	Humina
Massa Molar (D)	640 – 5000	10000 - 100000	>100000
CTC (cmolc kg <sup>-1</sup> )	~ 1400	~ 500	< 500

FONTE: BENITES *et al.*, 2003, modificado pelo autor.

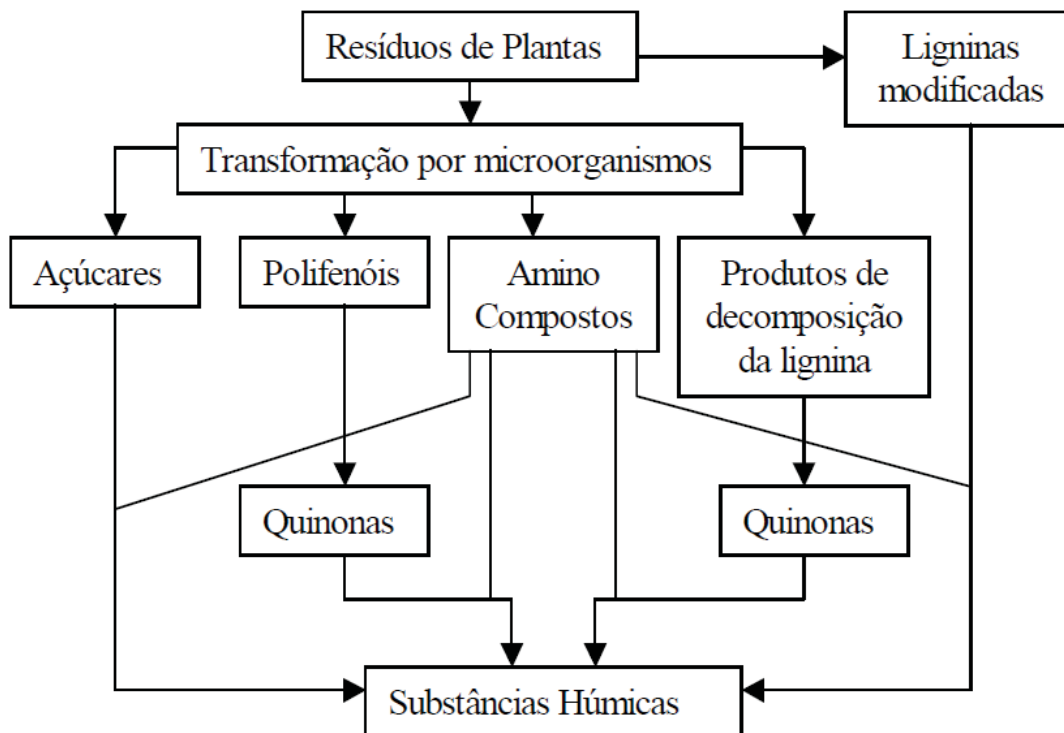
Canellas e Santos (2005) ressaltam que o entendimento das substâncias húmicas é um grande desafio que “atravessa a história moderna do conhecimento e carrega consigo um passado controverso e um futuro não previsível”.

Muitas propostas a respeito da origem das SH já foram realizadas. Maillard (1913) sugeriu que os ácidos húmicos eram produtos de reações químicas entre açúcares redutores e aminoácidos, as quais não envolviam a participação de microrganismos (citado por Novotny, 2002 e CANELLAS e SANTOS, 2005). Atualmente, sabe-se que os polímeros nitrogenados que o autor sintetizava eram melaninas e esta reação, chamada “reação de Maillard”, foi mais tarde empregada na desidratação comercial de produtos alimentícios (NOVOTNY, 2002).

Nos anos 80, com o desenvolvimento dos métodos espectroscópicos, pesquisadores demonstraram que os AH apresentavam estrutura predominantemente alifática e hidrofóbica, sendo proposto, em 1984, por Harvey e colaboradores que sua origem se dava a partir de ácidos graxos (CANELLAS e SANTOS , 2005).

Stevenson (1994) considerou três mecanismos básicos de formação das SH que podem ocorrer simultaneamente de acordo com a quantidade do substrato orgânico e das condições químicas e bioquímicas do meio: (i) reação de aminocompostos oriundos da atividade microbiológica com ligninas modificadas (ii) Oxidação de polifenóis até quinonas e, posteriormente, condensação através de reações com compostos aminados; (III) polimerização de melaninas a partir de estruturas orgânicas simples (açúcares redutores e aminocompostos) (Figura 3).

FIGURA 3 - POSSÍVEIS MECANISMOS DE FORMAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DO SOLO



FONTE: Stevenson, 1994

De acordo com Canellas e Santos (2005) pela compilação das teorias de humificação, pode-se sugerir que dois grandes processos ocorrem concomitantemente: um deles seria de degradação de biopolímeros (por exemplo a lignina), carregada pela ação de enzimas dos microrganismos do solo acompanhado

da síntese de novos compostos. O outro processo seria o de condensação abiótica que envolve a quebra da ligação dos biopolímeros e resíntese de produtos através de reações exclusivamente químicas.

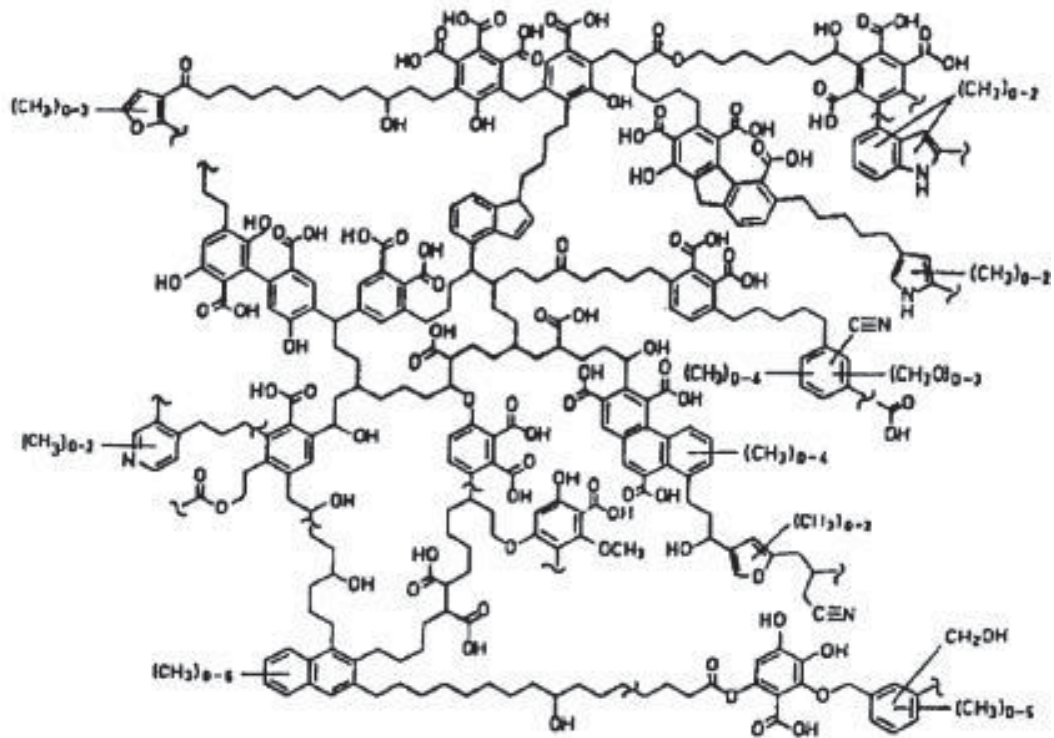
Ainda na atualidade pouco se conhece a respeito do processo de humificação, mas considera-se que este envolve etapas de estabilização de natureza biológica, química e física (BALDOTTO e BALDOTTO, 2014).

Além da origem das substâncias húmicas, outro aspecto que tem gerado muita discussão entre pesquisadores da área diz respeito à suas estruturas. A heterogeneidade e complexidade estrutural das SH se deve, em grande parte, aos diferentes estágios e mecanismos de decomposição pelo qual passaram, dificultando, assim, a existência de uma identidade estrutural genérica (ROCHA e ROSA, 2003).

A caracterização estrutural das SH tem sido objeto de estudo de inúmeros autores, tais como: Schnitzer e Khan (1972), Kononova (1982), Wershaw e Aiken (1985), Wershaw (1993), Sutton e Sposito (2005) e Piccolo, 2001 citados por Baldotto e Baldotto, 2014. No entanto, há dois modelos estruturais vigentes: o modelo de estrutura macromolecular e o modelo de associação supramolecular.

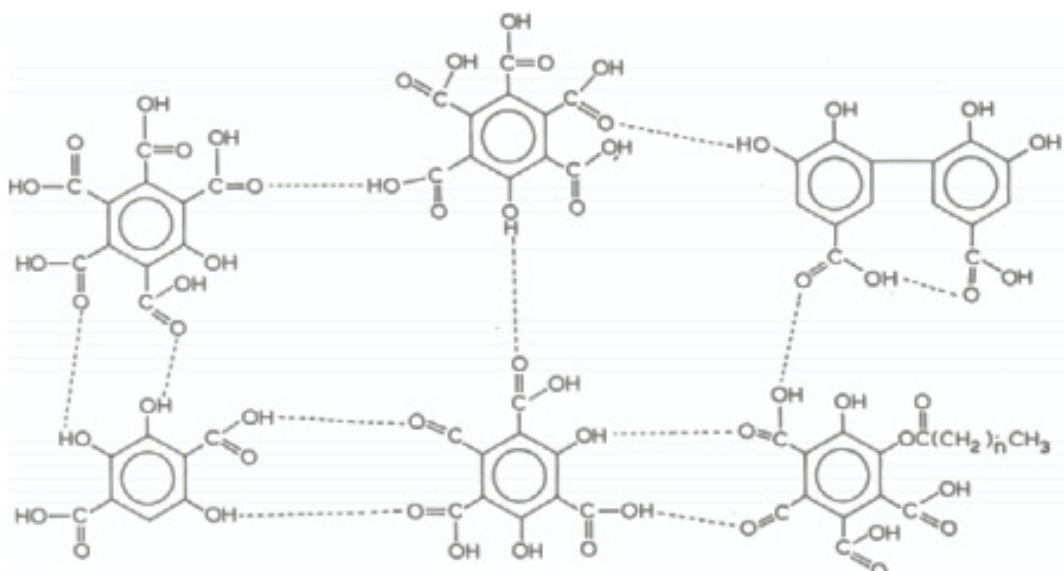
O modelo macromolecular sugere que as variações conformacionais das SH sejam similares àquelas observadas nas macromoléculas biológicas como proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos e ligninas, e dependem da concentração das moléculas húmicas, do pH, e da força iônica do meio (CHEN e SCHNITZER, 1976). Dentre alguns modelos macromoleculares propostos, pode-se destacar o de Schulten e Schnitzer (1993). Segundo os autores as moléculas de AH apresentam longas cadeias alifáticas que formam vazios hidrofóbicos no interior da estrutura. Além disso, estão presentes estruturas de quinonas e de grupos funcionais oxigenados na forma de carboxilas, hidroxilas fenólicas e alcoólicas, carbonilas, ésteres e éteres. Há relativo consenso e aceitação do modelo macromolecular, com relação à presença dos grupos funcionais citados, no entanto, este modelo é controverso no que diz respeito à estrutura e conformação (BALDOTTO e BALDOTTO, 2014). Algumas estruturas hipotéticas para a estrutura molecular das substâncias húmicas são apresentadas nas Figuras 4, 5 e 6.

FIGURA 4 - MODELO MACROMOLECULAR: estrutura hipotética proposta para os ácidos húmicos por Schulten e Schnitzer



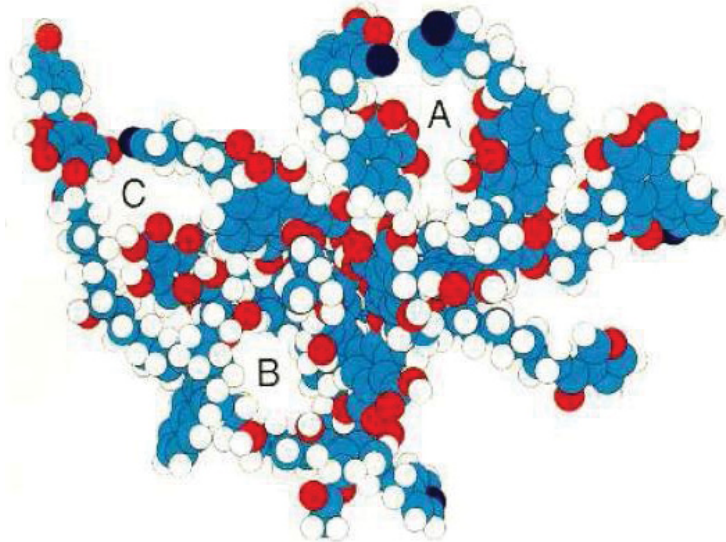
FONTE: Schulten e Schnitzer (1993)

FIGURA 5 - MODELO MACROMOLECULAR: estrutura hipotética proposta para os ácidos fúlvicos por Schnitzer



FONTE: Schnitzer (1978)

FIGURA 6 – MODELO MACROMOLECULAR: ESTRUTURA TRIDIMENCIONAL DOS AH PROPOSTO POR SCHULTEN E SCHNITZER



FONTE: Schulten e Schnitzer (1997)

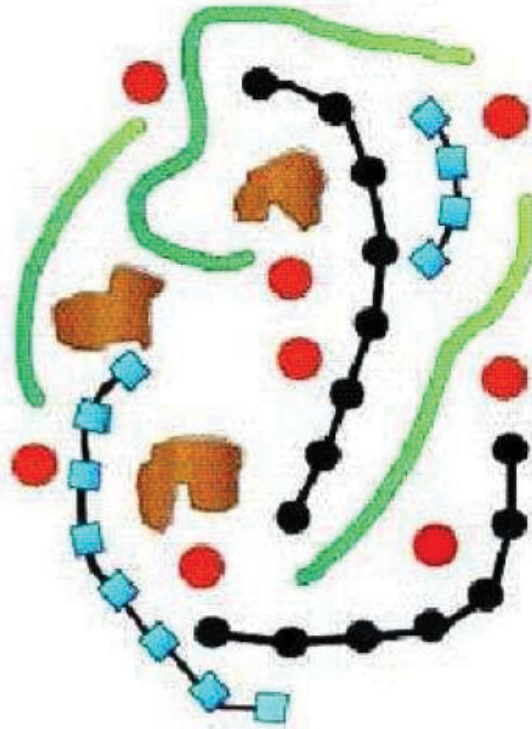
LEGENDA: C= azul; O= vermelho; N= preto e H= branco. As letras A, B e C indicam os espaços vazios presentes nas SH capazes de interagir com outros compostos

O modelo supramolecular, baseado nas teorias de Piccolo e colaboradores (2001), sugere que pequenas unidades de substâncias húmicas sejam arranjadas através de forças de interação fracas. Neste contexto, os AF seriam associações de pequenas moléculas hidrofílicas que se manteriam dispersas em solução a qualquer valor de pH e os AH seriam constituídos por substâncias principalmente hidrofílicas tais ácidos graxos e esteróides, estabilizados em meio neutro por meio de forças intermoleculares como as de van der Waals e em meio ácido por ligações de hidrogênio.

Assim, macroscopicamente, as SH formariam coloides de alta massa molar aparente e, microscopicamente, seriam formados por muitos agregados químicos (CANELLAS e SANTOS, 2005; BALDOTTO e BALDOTTO, 2014). Este modelo foi reforçado por Simpson *et al.*, (2002) (Figura 7).



FIGURA 7 - MODELO SUPRAMOLECULAR DAS SH PROPOSTO POR SIMPSON



FONTE: Simpson *et al.* (2002).

LEGENDA: As unidades vermelhas representam os cátions metálicos, as unidades pretas os polissacarídeos, as unidades azuis os polipeptídeos, as unidades verdes as cadeias alifáticas e as unidades marrons os fragmentos aromáticos provenientes da lignina

As estruturas sugeridas apresentadas nas Figuras 4 a 7 e muitas outras encontradas na literatura são consideradas apenas tentativas de se chegar à uma forma aproximada das substâncias húmicas. Nessa perspectiva, Canellas e Santos (2005) frisam que as SH existem, provavelmente, como um *continuum* da transformação do ciclo do carbono e não como substâncias de estruturas moleculares definidas. A impossibilidade de se estabelecer uma estrutura genérica não impede, porém, a avaliação de suas funções no ambiente.

#### 2.3.1.1 Fracionamento químico das SH

A extração, fracionamento e purificação das substâncias húmicas são procedimentos anteriores à caracterização das SH, dos quais dependerão as futuras interpretações e, portanto, devem ocorrer com mínimas alterações estruturais (ROSA *et al.*, 2000) e fornecer um produto final livre de contaminantes orgânicos e inorgânicos (PRIMO *et al.*, 2011).

Deste modo, vários métodos têm sido aplicados para o isolamento e fracionamento das SH (KONONOVA, 1982; ROCHA *et al.*, 1998; SANTOS e CAMARGO, 1999; BENITES *et al.*, 2003) sendo que o mais amplamente utilizado é o método proposto pela Sociedade Internacional de Substâncias húmicas (IHSS), baseado em 4 horas de extração com solução de NaOH 0,1 mol/L à temperatura ambiente na razão solo/extrator 1:10 (m/v) sob atmosfera de nitrogênio.

Dependendo do objetivo da análise, outros métodos podem ser empregados, sendo um destes, o método proposto por Cozzolino *et al.* (2001), que utiliza como solução extratora uma mistura de hidróxido de sódio (NaOH) 1 mol L<sup>-1</sup> e pirofosfato de sódio (Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A conveniência da aplicação deste método se deve as funções de cada solução extratora. Enquanto a base forte promove a solubilização dos AH e AF, o pirofosfato de sódio atua como um sal neutro capaz de complexar os metais divalentes e, principalmente os trivalentes como Al<sup>3+</sup> e Fe<sup>3+</sup>.

Além dos métodos baseados na solubilidade em água conforme o valor de pH, existem outros procedimentos de extração como a cromatografia de exclusão por tamanho, a ultrafiltração, a eletroforese e os que utilizam diferentes solventes orgânicos (OLIVEIRA, 2011).

Rosa *et al.* (2000), avaliaram diversos parâmetros do processo de extração de SH de turfa e constataram a influência do tipo e concentração do extrator alcalino (NaOH e KOH; 1,0, 0,5 e 0,1 mol/L), tempo e temperatura de extração e granulometria da turfa nas características estruturais, rendimento e teor de cinzas das SH.

Saito e Seckler (2014) desenvolveram um adubo organo-mineral pela extração de SH de turfa utilizando K<sub>2</sub>O como extrator. Os autores verificaram que na menor concentração de K<sub>2</sub>O empregada houve extração de SH com maior quantidade de carbono orgânico total, o que foi justificado pelo fato da menor força iônica do meio favorecer a formação de agregados húmicos.

As substâncias húmicas extraídas do solo costumam apresentar uma quantidade elevada de impurezas que devem ser eliminadas antes dos estudos de caracterização. Através de várias redissoluções e reprecipitações é possível diminuir as impurezas inorgânicas, no entanto, a purificação pode ser mais eficiente quando é realizado o tratamento do extrato com solução diluída da mistura de ácido clorídrico e fluorídrico. Tal eficiência se deve à capacidade do HF de dissolver os minerais argilosos, formando um complexo gasoso com o Si, conforme reação abaixo (CANELLAS e SANTOS, 2005):



## 2.4 CARACTERIZAÇÃO DAS SH

Os estudos das SHs vão desde os métodos de extração, fracionamento e purificação até a caracterização por métodos espectroscópicos. A espectroscopia tem recebido grande atenção, pois o uso de técnicas espectroscópicas em conjunto facilita o estudo e o entendimento da composição química e estrutura das SHs. As técnicas mais utilizadas têm sido: espectrofotometria na região do ultravioleta-visível (UV) e infravermelho (IV), espectroscopia de fluorescência molecular, ressonância magnética nuclear (RMN) e ressonância paramagnética eletrônica (EPR) (PÉREZ *et al.*, 2004; HELAL *et al.*, 2011, MA *et al.*, 2015). Outras ferramentas utilizadas na caracterização de substâncias húmicas são a análise termogravimétrica (BENITES *et al.*, 2005; GIOVANELA *et al.*, 2010, ALEXIS *et al.*, 2010; BARROS *et al.*, 2011; FERNANDEZ *et al.*, 2011), análise da composição elementar (SANCHES *et al.*, 2007; MA *et al.*, 2015) e quantificação dos grupos funcionais, principalmente, carboxílicos e fenólicos (BENITES *et al.*, 1999, CUNHA *et al.*, 2007)

### 2.4.1 Análise Termogravimétrica (TG)

Na análise termogravimétrica (TG) as amostras são submetidas ao aumento da temperatura, a fim de detectar vários eventos na perda de massa. Na Termogravimetria Diferencial (DTG) a primeira derivada da curva TG é plotada em relação à temperatura ou ao tempo, enquanto que na Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) é plotada em relação à liberação de energia na forma de calor. Tanto as curvas de DTG quanto as de DSC mostram, normalmente, em estudos de AH, dois picos principais: um lábil a temperaturas baixas ou médias e um recalcitrante em altas temperaturas. O pico lábil é devido à presença de polissacarídeos, descarboxilação de grupos ácidos e desidratação de estruturas alifáticas hidroxiladas enquanto que o pico recalcitrante é atribuído a polifenóis e outras estruturas condensadas, incluindo lignina (FRANCIOSO *et al.*, 2003; BARROS *et al.*, 2007). A razão entre estes picos é

amplamente utilizada como um indicador de estabilidade térmica (BENITES *et al.*, 2005; GIOVANELA *et al.*, 2010).

Métodos de análise térmica têm sido aplicados para o estudo da matéria orgânica do solo (BENITES *et al.*, 2005; GIOVANELA *et al.*, 2010, ALEXIS *et al.*, 2010; BARROS *et al.*, 2011; FERNANDEZ *et al.*, 2011) para avaliar a evolução da matéria orgânica em solos tratados (BARRIGA *et al.*, 2010; GASCO, *et al.*, 2012), caracterizar substâncias húmicas (FRANCIOSO *et al.*, 2005; LOPEZ-CAPEL *et al.*, 2005), quantificar os teores de umidade e de cinzas (CUNHA *et al.*, 2007), bem como, para observar e caracterizar as mudanças estruturais nas amostras durante o aquecimento (FRANCIOSO *et al.*, 2009).

#### 2.4.2 Métodos de determinação de carbono

O carbono pode apresentar-se no solo em diferentes formas, como: carbono elementar (carvão), carbono inorgânico (carbonatos, bicarbonato e dióxido de carbono) e carbono orgânico (desde a composição de compostos orgânicos mais simples até os mais estáveis) (CATANI *et al.*, 1964; SATO, 2013).

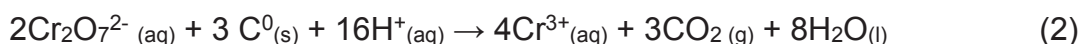
A determinação do teor de carbono é importante para avaliar a fertilidade e necessidades de adubação do solo, visto que este é utilizado para estimar, quantitativamente, a matéria orgânica do solo (SOUZA *et al.*, 2012). Outro grande interesse das determinações de carbono se deve à necessidade atual de acompanhamento das variações do estoque deste elemento no solo, uma vez que se tem buscado incentivar sistemas agrícolas de baixa emissão (McCARTY *et al.*, 2010) sendo que esse cenário tem demandado cada vez mais o desenvolvimento de métodos rápidos e precisos (MARCHÃO *et al.*, 2011). Dentre os métodos mais comuns utilizados na atualidade estão aqueles baseados na combustão úmida (oxidação com dicromato) e na combustão a seco (análise elementar CHN) (WANG *et al.*, 2012).

As peculiaridades de cada método serão discutidas a seguir, porém, pode-se antecipar que ambos apresentam algumas desvantagens que têm provocado um crescente interesse na substituição desses por métodos espectroscópicos, em especial a espectrofotometria de infravermelho (KHAYAMIM *et al.*, 2015; KNOX *et al.*, 2015; SATO, 2013; SOUZA, MADARI e GUIMARÃES, 2012; VOHLAND *et al.*, 2011;

MARCHÃO *et al.*, 2011; McCARTY *et al.*, 2010). As vantagens dos métodos espectroscópicos são a redução do tempo e do custo de análise e a ausência de impactos ambientais (McCARTY *et al.*, 2010). No entanto, sua aplicação está necessariamente associada à Quimiometria.

#### 2.4.2.1 Método de Walkley & Black

No Brasil os métodos de combustão por via úmida, como o Método Walkley & Black –WB– (1964) e suas adaptações, são os mais utilizados devido a sua simplicidade e baixo custo (SATO, 2013). O procedimento baseia-se na oxidação com dicromato em excesso em meio ácido e posterior titulação do dicromato excedente com  $\text{Fe}^{2+}$  na presença dos indicadores difenilamina ou ferroin (SOUZA, MADARI e GUIMARÃES, 2012), conforme equações 2 e 3.



Os métodos de combustão por via úmida podem apresentar recuperações variáveis (DE VOS *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2012), pois não oxidam as formas de carbono mais estáveis e, em se tratando de reações redox, estão sujeitos a interferências químicas de constituintes do solo como  $\text{Cl}^-$ , ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) e manganês ( $\text{Mn}^{2+}$ ) (COSER *et al.*, 2012; CATANI *et al.*, 1964). Além disso, gera uma grande quantidade de resíduo contendo ácido concentrado e cromo, que quando na forma de cromo hexavalente pode apresentar citotoxicidade e genotoxicidade a seres humanos e animais aquáticos (YOUNG *et al.*, 2015). Devido a estas questões ambientais diversos órgãos internacionais de pesquisa baniram uso dos métodos dicromatométricos de seus laboratórios (SATO, 2013).

#### 2.4.2.2 Análise elementar CHN

A análise elementar é um método que permite a determinação dos principais elementos constituintes da matéria orgânica (C, H, N, O, S) por um processo automatizado e preciso (WANG *et al.*, 2012), razões pelas quais é utilizado mundialmente como método de referência (COSER *et al.*, 2012).

O analisador elementar converte todo o carbono da amostra a CO<sub>2</sub> devido ao aquecimento em temperatura próxima a 1000 ° C em meio rico em oxigênio (COSER *et al.*, 2012). O CO<sub>2</sub> e demais gases de combustão (N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O e SO<sub>2</sub>) são separados por cromatografia e detectados por condutividade térmica (N<sub>2</sub>) ou infravermelho (SATO, 2013).

A análise elementar pode ser empregada às amostras de solo ou diretamente às substâncias húmicas. As frações húmicas podem ser diferenciadas pelas quantidades dos elementos químicos presentes em suas moléculas (TABELA 4).

TABELA 4 - COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DAS FRAÇÕES DE SH

Elemento	Ácidos fúlvicos	Ácidos húmicos	Humina
C (%)	42 - 47	51 - 62	> 62
O (%)	45 - 50	31 - 36	< 30
N (%)	2,0 - 4,1	3,6 - 5,5	> 5

FONTE: BENITES *et al.*, 2003, modificado pelo autor.

Outro fator relevante no uso desta técnica é a possibilidade de se obter razões atômicas bastante úteis no estudo das SH. A razão H/C quando elevada pode indicar predominância de estruturas alifáticas e quando baixa sugere estruturas mais aromáticas. O aumento da razão O/C sugere maior grau de humificação e estruturas com mais grupos carboxílicos e fenólicos, capazes de formar complexos com ácidos duros de Pearson. Já razões N/C elevadas indicam maiores quantidades de proteínas ou porfirinas, que são mais hábeis a formar complexos com ácidos moles (OLENDZKI, 2006; BUDZIAK, 2002).

A análise elementar não gera resíduos perigosos como o método WB, porém, como desvantagem apresenta custo elevado, o que o torna limitado a poucos laboratórios de órgãos de pesquisa públicos ou privados e universidades (SATO, 2013).

#### 2.4.3 Métodos Espectroscópicos

Os métodos espectroscópicos estão baseados na interação entre a radiação eletromagnética e os átomos ou as moléculas de um analito. O espectro eletromagnético contém desde ondas de rádio, microondas, infravermelho, luz visível,

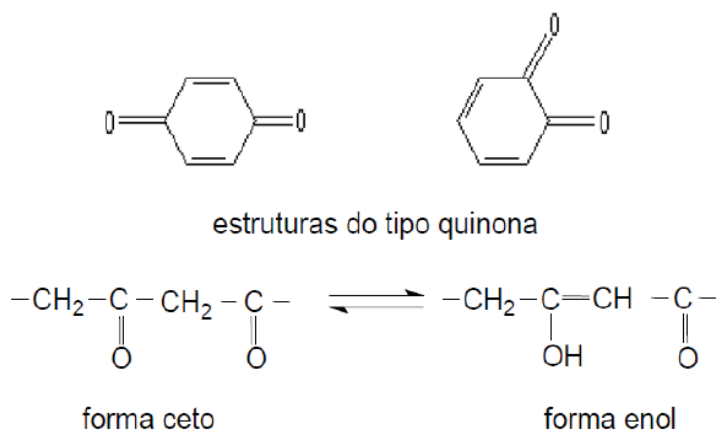
ultravioleta, raios X, até a radiação gama. Cada região ocorre em uma faixa de frequência e energia diferente e a forma como a radiação eletromagnética interage com a matéria depende da energia da radiação incidente (SKOOG, 2006).

#### 2.4.3.1 Espectroscopia UV-Vis

A excitação com radiação ultravioleta e visível envolve a promoção de elétrons presentes em orbitais moleculares ou atômicos de baixa energia para orbitais de mais alta energia. Estas transições eletrônicas podem ocorrer com elétrons de orbitais  $\sigma$  para  $\sigma^*$  ou  $\pi^*$ , de orbital  $\pi$  para  $\sigma^*$  ou  $\pi^*$  e de orbital  $n$  para  $\sigma^*$  ou  $\pi^*$ , no entanto, as aplicações da espectroscopia UV-Vis nos estudos de compostos orgânicos se baseia nas transições de elétrons em orbitais  $n$  e  $\pi$  para orbitais  $\pi^*$  cujas energias necessárias se encontram na referida região UV-Vis (200-700 nm). É necessário, portanto, a presença de grupos funcionais insaturados, denominados cromóforos, para que ocorra absorção nesta região (SKOOG, 2002).

Quando aplicada à caracterização de substâncias húmicas essa técnica não permite identificar um cromóforo em particular, mas a sobreposição de absorbâncias de vários grupos funcionais (STEVENSON, 1994). No entanto, alguns autores atribuem a absorção na região UV (200 a 400 nm) a elétrons do grupamento aromático e carboxílico, enquanto que na região visível (400 a 800 nm) a grupamentos quinonas e ceto-enol (VAZ Jr, 2010) (Figura 8):

FIGURA 8 - PRINCIPAIS CROMÓFOROS DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS QUE ABSORVEM NA REGIÃO DO VISÍVEL



FONTE: Stevenson, 1994.

A espectroscopia de UV-Vis é considerada um salto histórico pois abriu caminho para o desenvolvimento de outras técnicas espectroscópicas. Todavia, atualmente é pouco utilizada como principal método na análise estrutural das SH, pois os espectros apresentam pouca definição e a absorção decresce linearmente com o aumento do comprimento de onda (PRIMO *et al.*, 2010). A baixa absorção de radiação na região do visível pelas SH é de causa incerta, mas esta faixa espectral é útil por permitir a obtenção da razão  $E_4/E_6$  (absorbância a 465 nm/absorbância a 665 nm) que é frequentemente associada ao grau de humificação (CUNHA *et al.*, 2009)

O decréscimo da razão  $E_4/E_6$  é considerado, por alguns autores, indicativo de maior massa molar, alto grau de condensação dos carbonos aromáticos e maior grau de humificação da matéria orgânica do solo (MARTIN-NETO e SAAB, 2007; PIMENTA *et al.*, 2009). Colnago et al. (1997) estudando a correlação entre a razão  $E_4/E_6$  e a aromaticidade por  $^{13}\text{C}$  RMN concluíram que esta razão está associada ao grau de condensação entre os núcleos aromáticos e não à aromaticidade em si. Os valores da relação  $E_4/E_6$  dos AH podem ser influenciados pelos diferentes tipos de vegetação, composição da matéria orgânica e ambiente de formação (FONTANA, 2009).

Apesar de ser um parâmetro amplamente utilizado na caracterização de SH, tem sido motivo de controvérsia na literatura devido a resultados contraditórios obtidos pela técnica, sendo recomendado que seja utilizado em associação a outros métodos mais exatos (COLNAGO *et al.*, 1997; SANTOS, 2006; NARIMOTO, 2006; SAAB e MARTIN-NETO, 2007; PRIMO *et al.*, 2011).

Recentemente, as SH e também os solos têm sido analisados no estado sólido empregando a técnica de reflectância difusa. Como vantagem, essa técnica elimina interferências decorrente da ionização ou protonação de grupos hidroxílicos e carboxílicos que podem ocorrer em solução, gerando deslocamento no comprimento de onda de absorção e mudança na absortividade (HAYES e SWIFT, 1978 citados por CARDOSO, 2013).

#### 2.4.3.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa (DRIFT)

A radiação infravermelha inicia na faixa denominada infravermelho próximo - do inglês, *Near Infrared Spectroscopy*, NIR- de 12800 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , seguida do infravermelho médio - do inglês, *Mid Infrared Spectroscopy*, MIR - de 4000 a 200  $\text{cm}^{-1}$ .



<sup>1</sup>, e finaliza no infravermelho distante – do inglês, *Far Infrared Spectroscopy*, FAR - de 200 a 10  $\text{cm}^{-1}$ . As regiões de maior interesse em ciência dos solos são as do infravermelho médio e próximo (SOUZA *et al.*, 2012). Enquanto o MIR apresenta os sinais referentes às vibrações fundamentais das moléculas, no NIR detectam-se as vibrações harmônicas e as combinações (FERRARESI *et al.*, 2012).

Esta radiação não possui energia suficiente para promover transições eletrônicas, mas pode alterar os estados vibracionais e rotacionais das moléculas e como cada um possui seu próprio espectro de frequências de absorção, o infravermelho é uma técnica útil para decifrar estruturas (SKOOG, 2002).

A Espectroscopia de Infravermelho aplicada a estudos dos solos tem sido utilizada para prever vários atributos químicos, como o teor de carbono (McCARTY *et al.*, 2010; VOHLAND *et al.*, 2011; SOUZA, MADARI e GUIMARÃES, 2012; SATO, 2013; KNOX *et al.*, 2015) e nitrogênio (CECILLON e BRUN, 2007) e, também, físicos, como o teor de argilas (SANTOS *et al.*, 2012), de gibbsita (KHAYAMIM *et al.*, 2015) e análise textural completa (FERRARESI *et al.*, 2012).

No estudo das substâncias húmicas, esta técnica tem sido amplamente empregada para obter informações quanto à presença, reatividade e arranjo estrutural de grupos funcionais, tais como, amino, carboxílico, hidroxílico, carbonila, cetona, éter, éster, e ligações C-C e C-H e, ainda, para indicar a presença de componentes inorgânicos do solo como íons metálicos e argilas (SENESI *et al.*, 2003; MAO *et al.*, 2008; SANTIN *et al.*, 2009; DROUSSI *et al.*, 2009; FERNÁNDEZ *et al.*, 2009; SANTANA *et al.*, 2011; FERRARI *et al.*, 2011).

Os espectros geram mais informações a respeito dos processos ocorridos nas SH do que sobre a suas estruturas pois, normalmente, são verificadas bandas largas oriundas da sobreposição das bandas de absorção dos constituintes individuais, o que dificulta a interpretação com segurança. Assim, as atribuições das bandas são realizadas de modo comparativo confrontando um espectro contra outro (PRIMO *et al.*, 2011).

Vários processos já foram avaliados pela análise de SH por infravermelho e alguns exemplos são: o efeito de diferentes sistemas de manejo de pastagem (SANTANA *et al.*, 2011), efeitos das aplicação de lodo de esgoto (DIAS *et al.*, 2009) e dejetos de animais no solo (MAO *et al.*, 2008), além do uso das substâncias húmicas como agente desintoxicante de metais (SANTOS *et al.*, 2007) e na fotodegradação de pesticidas (TAJEDDINE *et al.*, 2011).

O Quadro 1 apresenta regiões de absorção características para os tipos de ligações mais comuns nas SH.

QUADRO 1 - ATRIBUIÇÃO DE BANDAS CARACTERÍSTICAS DE DEFORMAÇÕES E ESTIRAMENTOS VIBRACIONAIS DOS AH

POSIÇÃO DA BANDA	ATRIBUIÇÃO
3600 – 3000 cm <sup>-1</sup>	Estiramento da ligação O-H de argilas e oxidróxido
2900 cm <sup>-1</sup>	Estiramento assimétrico de C-H alifático
2800 cm <sup>-1</sup>	Estiramento simétrico de C-H alifático
1720 cm <sup>-1</sup>	Estiramento C=O do grupo carboxílico
1660 – 1630 cm <sup>-1</sup>	Estiramento C=O de grupo amida I e quinonas, estiramento C=O de cetonas conjugadas com ligação de hidrogênio, estiramento de COO <sup>-</sup>
1620 – 1600 cm <sup>-1</sup>	Estiramento de C=O aromático, estiramento de COO <sup>-</sup>
1540 cm <sup>-1</sup>	Deformação N-H e estiramento C=N de amida II
1280 - 1200 cm <sup>-1</sup>	Estiramento C-O e deformação de O-H em COOH, estiramento de de C-O em ésteres e arilas
1170 – 950 cm <sup>-1</sup>	Estiramento de C-O em polissacarídeos

Fonte: Stevenson (1994), Ferrari et al. (2011)

Esta técnica permite, também, estabelecer o índice de aromaticidade (IA) para as SH por meio da razão entre a soma das bandas em 3050 cm<sup>-1</sup>, 1620 cm<sup>-1</sup> e 1530 cm<sup>-1</sup> (indicadoras de estruturas aromáticas) pela soma das bandas em 2925 cm<sup>-1</sup>, 1450 cm<sup>-1</sup>, 1050 cm<sup>-1</sup> e 1074 cm<sup>-1</sup> (indicadoras de estruturas alifáticas) (DING *et al.*, 2002; WANDER e TRAINA, 1996); quando associado a outras técnicas, este índice ajuda a estabelecer o grau de aromaticidade/alifaticidade das substâncias húmicas.

O modo de reflectância difusa é uma alternativa conveniente para se obter espectros no infravermelho médio, pois a técnica tradicional de transmitância apresenta problemas associados ao preparo da amostra, como interferências de água na pastilha de KBr e modificações no analito devido à pressão exercida no preparo da pastilha (PAINTER *et al.*, 1985 citado por FERREIRA, 2006).

### 2.4.3.3 Espectroscopia de Fluorescência Molecular

Quando são excitados, átomo ou moléculas podem retornar ao estado fundamental por diversos mecanismos, sendo os mais importantes a relaxação não-radiativa e a emissão fluorescente. A fluorescência molecular é um processo fotoluminescente em que as moléculas são excitadas por radiação ultravioleta ou visível e quando relaxam, voltando ao estado fundamental, dissipam o excesso de energia emitindo fótons (SKOOG, 2006).

A fluorescência requer características estruturais que diminuam a velocidade dos processos de relaxação não-radiativos e aumentem a velocidade da relaxação por fluorescência sendo que, desta forma, a quantidade de moléculas que exibem este fenômeno é limitada (SKOOG, 2006). No entanto, a ocorrência de fluorescência é altamente provável em sistemas moleculares que contêm átomos com pares de elétrons livres, tais como: C=O, aromáticos, fenólicos, quinonas e sistemas alifáticos conjugados insaturados (PRIMO *et al.*, 2011). Estes grupos funcionais fazem parte das SH e, portanto, a espectroscopia de fluorescência molecular tem sido utilizada, com sucesso, para obter informações a respeito de suas estruturas, conformações e heterogeneidade, assim como, aspectos relacionados a interações intra e intermoleculares (NOVOTNY, 2002).

Embora as várias unidades estruturais presentes nas substâncias húmicas tenham efeitos variáveis no comprimento de onda e intensidade de fluorescência, alguns comportamentos gerais podem ser descritos:

- A intensidade de fluorescência diminui com o aumento do tamanho molecular. Assim, as bandas de emissão dos AH tendem a ser menos intensas que dos AF (PRIMO *et al.*, 2011).
- Grupos retiradores de elétrons (COOH) em compostos aromáticos diminuem a intensidade de fluorescência, enquanto que grupos doadores de elétrons (OH, NH<sub>2</sub>, OCH<sub>3</sub>) a aumentam (PEURAVUORI *et al.*, 2002; CHEN *et al.*, 2002; AZEVEDO e NOZAKI, 2008).
- Substituintes contendo grupos carbonila, hidroxila, alcóxi e amino tendem a deslocar o máximo de fluorescência para comprimentos de onda mais longos (desvio para o vermelho). Por outro lado, o deslocamento para comprimentos de onda mais curtos (desvio para o azul) pode ser causado por uma redução do tamanho do sistema de elétrons  $\pi$ , seja pela diminuição no número de anéis

aromáticos, ou pela redução do número de ligações conjugadas em sistemas alifáticos insaturados (RODRIGUEZ *et al.*, 2014).

Outra importante característica da fluorescência molecular é sua alta sensibilidade, a qual geralmente é cerca três vezes maior que a da espectroscopia de absorção (SKOOG, 2006), permitindo que as medições sejam feitas nas concentrações de interesse em estudos ambientais, fator relevante no caso das SH de ambientes aquáticos (ANTUNES e SILVA 2005), ou em baixas concentrações (geralmente 20 mg /L) (RODRIGUEZ *et al.*, 2014).

Uma caracterização estrutural abrangente das substâncias húmicas pode ser alcançada pela combinação entre diversas técnicas de obtenção dos espectros de fluorescência, descritas a seguir (CHEN *et al.* 2003; SIERRA *et al.* 2005; PRIMO *et al.*, 2011; RODRIGUEZ *et al.*, 2014):

- Modo emissão: o comprimento de onda de excitação é mantido fixo enquanto o monocromador de emissão é variado em uma região espectral na qual a amostra emite.
- Modo excitação: são obtidos pela medida da intensidade de emissão mantendo fixo o comprimento de onda de emissão e variando o de excitação.
- Varredura síncrona: ambos os monocromadores (de excitação e de emissão) varrem o espectro de forma simultânea com uma diferença fixa de comprimento de onda,  $\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{exc}$ . Os espectros apresentam maior resolução, com picos mais definidos, característicos de cada fluoróforo que compõe o material que está sendo analisado.
- Luminescência total ou matriz excitação-emissão: são registrados diversos espectros de emissão obtidos em vários comprimentos de onda de excitação e em seguida é gerado um gráfico em 3D composto por um eixo relativo ao comprimento de onda de emissão, outro de excitação e o terceiro de intensidade.

Rodriguez *et al.*, (2014) estudaram diferentes tipos de ácidos húmicos utilizando todas as técnicas atuais de fluorescência. No estudo foi evidenciado que AH de fonte comercial exhibe espectros completamente diferente de AH de ambientes aquáticos naturais. Além disso, constataram que o modo sincronizado permitiu a identificação de picos que foram atribuídos à presença de proteínas que não foram detectadas pelas demais técnicas.

Hallin e colaboradores (2013) investigaram as propriedades de fluorescência de uma solução de ácido húmico com diferentes tamanhos moleculares e em

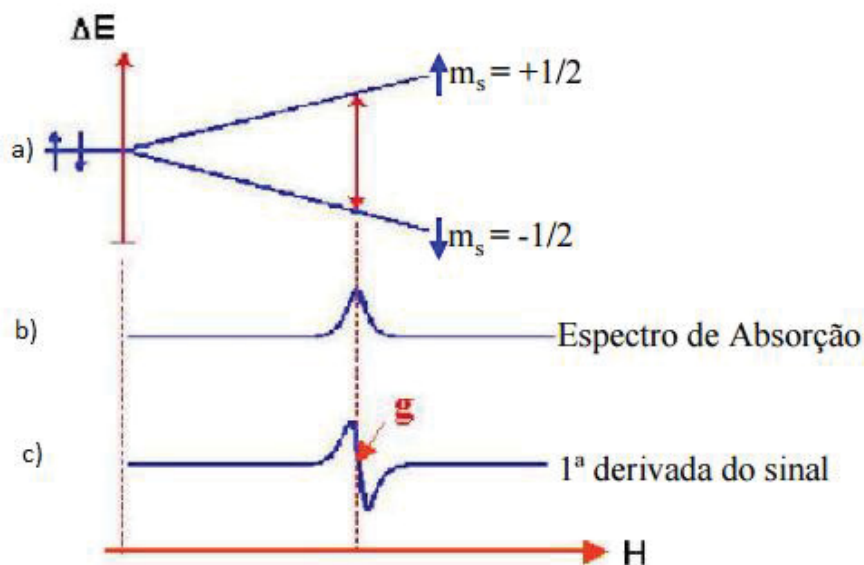
diferentes valores de pH. Os autores verificaram que sistemas do tipo fenol exibiram máximo de fluorescência em condições ácidas (pH 4) e sistemas do tipo naftol apresentaram maior intensidade em meio básico (pH 8). Além disto, concluíram que a diminuição do tamanho molecular gera o aumento da fluorescência associada a estruturas semelhantes a proteínas e o surgimento de novos picos de excitação/emissão ( $\lambda_{ex} / \lambda_{em} = 260/440$  e  $260/520$  nm).

Zhang e colaboradores (2008) avaliaram por fluorescência molecular o efeito do processo de ozonização na matéria orgânica natural de um rio. Os espectros de varredura síncrona revelaram que a ozonização produziu uma quantidade significativa de subprodutos com baixa aromaticidade e baixo peso molecular.

#### 2.4.3.4 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica

A ressonância paramagnética eletrônica, EPR, é um ramo da espectroscopia na qual a radiação, na frequência de microondas, é absorvida por elétrons desemparelhados de um átomo, molécula ou íon quando estes se encontram sujeitos a aplicação de um campo magnético externo (WEIL *et al.*, 1994).

FIGURA 9 - ESQUEMA MOSTRANDO: A) EFEITO ZEEMAN: DESDOBRAMENTO DOS NÍVEIS DE ENERGIA DO SPIN ELETRÔNICO NA PRESENÇA DE UM CAMPO MAGNÉTICO; B) FORMA DA LINHA DE ABSORÇÃO DE ENERGIA DO CAMPO DE MICROONDAS; C) PRIMEIRA DERIVADA DA LINHA DE ABSORÇÃO



FONTE: Adaptado de Pillon *et al.*, 2002)

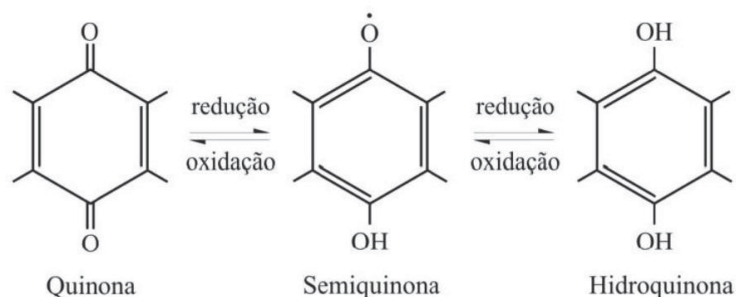
O fenômeno de EPR é baseado no efeito Zeeman, que é a capacidade de desdobramento dos níveis de energia do spin eletrônico na presença de um campo magnético. No caso do elétron, há duas orientações permitidas para o spin, uma paralela (estado  $m_s = 1/2$  de maior energia) e outra antiparalela ao campo (estado  $m_s = -1/2$  de menor energia) (PILLON *et al.*, 2002; PRIMO *et al.*, 2011).

A EPR é uma técnica sensível, não destrutiva, e que permite a detecção de espécies paramagnéticas, ou seja, que possuem elétrons desemparelhados, em amostras sólidas, líquidas e gasosas (WEIL *et al.*, 1994; PRIMO *et al.*, 2011). Espécies diamagnéticas (que não possuem elétrons desemparelhados) não podem ser detectadas por EPR, e, portanto, não interferem nos experimentos (citado por OLENSKI, 2006).

Por meio de EPR é possível avaliar o grau de humificação das SH pela quantificação do radical livre orgânico (RLO) do tipo semiquinonas (BAYER *et al.*, 2003) e também obter informações estruturais sobre a formação de complexos de íons metálicos paramagnéticos ( $Fe^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $V^{4+}$  e outros) com as SH (BOTERO *et al.*, 2014).

As SH contêm radicais livres estabilizados na sua estrutura do tipo semiquinonas. As semiquinonas são produzidas a partir da dehidrogenação oxidativa de compostos fenólicos (remoção de H dos grupos OH dos fenóis), sendo assim, quanto maior a concentração de fenóis no material de origem, maior a concentração de spins formados a partir deles (RIFFALDI E SCHNITZER, 1972, citados por CARDOSO, 2013) (FIGURA 10).

FIGURA 10 - ESQUEMA DA ESTABILIZAÇÃO DO RADICAL LIVRE DO TIPO SEMIQUINONA



FONTE: Senesi e Schnitzer, 1997

A ocorrência dessas reações podem estar associadas com a polimerização/despolimerização, com o grau de aromaticidade e humificação da matéria orgânica. Além disso, leva, eventualmente, a importantes envolvimentos das SH em reações de recuperação de ambientes contaminados por pesticidas e outros poluentes orgânicos tóxicos (BARRICHELLO *et al.* 2010).

O sinal do radical livre detectado é caracterizado por uma única linha com sinal em  $g \sim 2,003$  (PRIMO *et al.*, 2011). Depois do sinal de RLO, o sinal do íon  $Fe^{3+}$  é o mais frequentemente observado nos espectros de EPR de SH por ser a espécie paramagnética mais abundante nos solos (FERREIRA, 2006).

Alguns parâmetros espectroscópicos obtidos por meio da EPR, como o fator  $g$ , largura de linha e saturação de potência do sinal do radical livre, também têm sido utilizados como fonte de informações sobre as SH (MERDY *et al.*, 2003; SAAB e MARTIN-NETO, 2004; PRIMO *et al.*, 2011).

Cogo (2008) analisou os subprodutos sólidos da mineração de Xisto (CX, FX e XR) por EPR observando sinais de  $Fe^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$  e do radical orgânico em todas as amostras. Além disso, verificou que o sinal do XR apresentou característica semelhante ao radical orgânico com valor em  $g = 2,003$  e largura de linha de 5,5 G.

Santos *et al.* (2013) analisaram, por EPR, a matéria orgânica de solos de área recuperada após mineração de xisto e de uma floresta nativa próxima à área. Neste estudo foram observadas estruturas orgânicas hidrofílicas que se correlacionaram negativamente com o sinal do radical livre orgânico (RLO) associado a átomos de oxigênio ( $g = 2,0042$ ) e estruturas hidrofóbicas que se correlacionaram positivamente com o sinal do RLO associado a átomos de carbono ( $g = 2,003$ ).

## 2.5 ANÁLISES QUIMIOMÉTRICAS

A análise multivariada aplicada ao tratamento de dados químicos, ganhou popularidade e deu origem a um novo ramo da química, a Quimiometria (SENA *et al.*, 2000). Esta emprega métodos matemáticos e estatísticos para: I) definir ou selecionar as condições ótimas de medidas e experimentos; II) extrair o máximo de informações a partir da análise de dados químicos (BRUNS e FAIGLE, 1985).

É comum que em análises químicas se tenha que avaliar muitas variáveis simultaneamente e a decisão sobre qual a importância de cada uma delas acaba

sendo feita, muitas vezes, com base em critério subjetivos, como a experiência do analista. No entanto, a redução de variáveis através de critérios objetivos pode ser conseguida através de técnicas multivariadas, como a análise de componentes principais, PCA (do inglês *principal component analysis*) (NETO e MOITA, 1998).

A Análise de Componentes Principais é uma importante ferramenta que permite reduzir um grande número de variáveis, por exemplo, absorção em diferentes comprimentos de onda, à componentes principais contendo informação estatística mais relevante (NETO *et al.*, 2001). Além disso, é capaz de revelar a existência de amostras anômalas e de tornar mais evidente as relações, quando existentes, entre as variáveis medidas e agrupamentos entre amostras (LYRA *et al.*, 2010).

O número de componentes principais é igual ao número de variáveis originais, mas a redução ocorre pelo fato das primeiras componentes obtidas representarem grande parte da variabilidade total dos dados. Sendo assim, a primeira componente é aquela que responde pela maior variância possível entre os dados. Já as componentes seguintes, terão a máxima variância sob a restrição de serem ortogonais às componentes anteriores, de tal forma que cada uma seja estatisticamente independente (SOUZA *et al.*, 2012; SOUZA e POPPI, 2012).

Cada componente principal é representada por uma matriz de dados ( $X$ ), a qual é composta pelo produto vetorial de duas matrizes menores, os *scores* ( $T$ ) e os *loadings* ( $P$ ), e uma matriz de resíduos ( $E$ ) que se refere à parte não modelada de  $X$  (GELADI e KOWASLSKI, 1986; MARTENS e NAES, 1989; NAGATA *et al.*, 2001) (Equação 4):

$$X = T P^T + E \quad (4)$$

Os *scores* e *loadings* representam, respectivamente, as coordenadas das amostras no sistema de componentes principais e o peso relativo de cada variável original para a formação de cada componente.

A partir da análise de componentes principais surge uma das mais difundidas técnicas de calibração multivariada, a regressão por mínimos quadrados parciais, PLS (do inglês *Partial Least Squares*). O PLS utiliza o PCA para a redução da dimensionalidade do conjunto de dados para posterior correlação entre a matriz  $X$  com uma ou mais as propriedades de interesse (matriz  $Y$ ). Quando existe apenas uma



propriedade,  $y$  é um vetor, que pode representar, por exemplo, uma propriedade físico-química ou concentração de um determinado elemento na amostra (citado por SOUZA *et al.*, 2013). A variável dependente,  $Y$ , também pode ser decomposta em *scores* ( $U$ ), *loadings* ( $Q$ ) e resíduos ( $F$ ), conforme representado a seguir:

$$Y = UQ + F \quad (5)$$

Posteriormente, os *scores* das variáveis independentes ( $X$ ) e dependentes ( $Y$ ) são relacionados por um modelo linear (Equação 6). Desta forma, no PLS existe um compromisso entre a explicação da variância em  $X$  e a obtenção da máxima correlação com  $Y$  (MARTENS e NAES, 1989; SOUZA *et al.*, 2013).

$$U = b * T \quad (6)$$

onde  $b$  é o vetor do coeficiente de regressão.

Uma outra técnica multivariada bastante utilizada e relativamente mais simples é a análise de agrupamento hierárquico (AHC), a qual permite construir agrupamentos entre as amostras de acordo com suas similaridades, utilizando todas as variáveis disponíveis, e representando-os de maneira bidimensional através de um dendrograma (NETO e MOITA, 1998).

Atualmente os métodos espectroscópicos e a Quimiometria convivem em simbiose uma vez que esta é uma ferramenta extremamente útil para retirar as informações contidas nos espectros. O desenvolvimento da espectroscopia NIR nas últimas décadas, por exemplo, está diretamente atrelado à difusão dos métodos quimiométricos, visto que esta faixa do infravermelho foi ignorada por químicos analíticos e espectroscopistas até meados do século XX por apresentar bandas largas e sobrepostas de difícil interpretação (SOUZA *et al.*, 2012).

Nas ciências do solo observa-se um aumento significativo das aplicações dos métodos quimiométricos a partir dos anos 90, levando os pesquisadores da área a uma grande elevação na sua capacidade de extrair informações dos dados (SENA *et al.*, 2000).

A combinação de técnicas de regressão e métodos espectroscópicos têm sido aplicados, por exemplo, na análise de diferentes amostras ambientais com resultados satisfatórios, sendo que muitas das publicações lidam com a concepção de modelos

para prever propriedades dos solos (GREDILLA *et al.*, 2016) e para estimar a qualidade do solo (FILEP. *et al.*, 2016).

Dobbss *et al.* (2009) caracterizaram por diferentes métodos químicos e espectroscópicos as SH de sete latossolos brasileiros. Pela análise dos *loadings* do PCA dos AH, observaram que as variáveis de maior peso para a discriminação entre as amostras, em ordem decrescente, foram: aromaticidade por RMN, massa molar média e relação  $E_4/E_6$ . Já para os AF, os principais fatores de diferenciação foram: o índice de fluorescência (IF), a relação  $E_4/E_6$  e a relação atômica O/C, respectivamente.

Zhou *et al.* (2015) investigaram os impactos da extração de madeira de uma floresta natural do sudeste da China nas propriedades químicas e físicas do solo. Com base na análise de componentes principais os autores observaram que o impacto mais crítico foi o déficit de nutrientes do solo, em particular, P e K, associado à extração de madeira, mesmo em uma intensidade de corte baixa. Com relação às propriedades físicas, verificaram que o solo poderia ser recuperado sob intensidades de corte baixa e média de extração e que intensidades alta e extra-alta deveriam ser evitadas naquela floresta.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 EXPERIMENTO DE CAMPO E AMOSTRAGEM

As amostras de solo, classificado como solo Argissolo vermelho distrófico arênico, foram coletadas na área experimental do Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria – RS. O experimento em campo foi iniciado no ano de 2009 e, anualmente, foram realizadas aplicações de adubação de base de NPK (fontes de nitrogênio, fósforo e potássio) e xisto retortado, conforme o tratamento empregado. Na TABELA 5 estão descritos os seis diferentes tratamentos utilizados neste experimento, sendo eles: solo testemunha de adubação (T1, sem adição de XR e com adubação de NPK), solos com adubação de base e adições crescentes de xisto retortado (T2, T3 e T4), solo testemunha absoluta (T5, sem adição de XR e sem adubação de NPK) e solo testemunha de XR (T6, com adição de XR e sem adubação de NPK).

TABELA 5 - DOSES DE XISTO RETORTADO E DE ADUBAÇÃO DE BASE E ÉPOCA DE COLETA DAS AMOSTRAS DE SOLO EM EXPERIMENTO EM CONDIÇÕES DE CAMPO REALIZADO NO DEPARTAMENTO DE SOLOS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA, EM SANTA MARIA (RS)

TRATAMENTO	DOSES DE XR E NPK APLICADAS EM SUPERFÍCIE (kg ha <sup>-1</sup> )	ADUBAÇÃO COM NPK <sup>A</sup> + DOSE ACUMULADA DE XR <sup>B</sup>					
		(DEZ/2009)	(SET/2010)	(DEZ/2011) 1 <sup>a</sup> COLETA	(JUN/2012) 2 <sup>a</sup> COLETA	(JAN/2013) 3 <sup>a</sup> COLETA	(DEZ/2013) 4 <sup>a</sup> COLETA <sup>C</sup>
T1	NPK	0	0	0	0	0	0
T2	750 + NPK	750	1500	2250	3000	3750	3750
T3	1500 + NPK	1500	3000	4500	6000	7500	7500
T4	3000 + NPK	3000	6000	9000	12000	15000	15000
T5	0	0	0	0	0	0	0
T6	1500	1500	3000	4500	6000	7500	7500

FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: <sup>A</sup> NPK = Adubação de base: aplicação de N (100 kg ha<sup>-1</sup>), P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (120 kg ha<sup>-1</sup>) e K<sub>2</sub>O (90 kg ha<sup>-1</sup>). <sup>B</sup>doses de XR acumuladas de aplicações anteriores; <sup>C</sup>Sem aplicação de NPK e XR

Após as aplicações, os solos foram cultivados em sistema de rotação de culturas em plantio direto com feijão durante o verão e trigo no período de inverno. Depois de cada colheita foram realizadas coletas de amostras de solos, as quais

ocorreram nos períodos de dezembro de 2011, junho de 2012, janeiro de 2013 e dezembro de 2013.

As parcelas analisadas (áreas de plantio) apresentaram 25 m<sup>2</sup> cada (5 x 5 m), onde cada tratamento foi realizado em quatro repetições, totalizando 24 parcelas. Em cada parcela foram realizadas várias coletas obtendo-se, assim, uma amostra composta para cada tratamento. As coletas foram realizadas em trincheiras com o uso de uma pá de corte, na profundidade de 0 – 5 cm, uma vez que se espera maior teor de matéria orgânica nesta região.

### 3.2 DESCRIÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras foram identificadas, primeiramente, de acordo com seu tipo, sendo utilizada a sigla S para os solos, AH para ácidos húmicos, HU para huminas e AF para os ácidos fúlvicos. Também foram utilizadas as descrições: C1 (1<sup>a</sup> coleta: dezembro de 2011), C2 (2<sup>a</sup> coleta: junho de 2012), C3 (3<sup>a</sup> coleta: janeiro de 2013) e C4 (4<sup>a</sup> coleta: dezembro de 2013), que se referem às coletas, além de T1, T2, T3, T4, T5 e T6 referentes aos tratamentos aplicados.

A partir da seção 4.3 (Influência do processo de extração) são utilizadas, ainda, as classificações A e B que se referem aos dois métodos de extração das SH utilizados neste estudo. Quando não identificadas como A ou B deve-se considerar que se trata de uma amostra extraída pelo método A.

### 3.3 ANÁLISES QUÍMICAS DOS SOLOS

As amostras de solo foram secas ao ar, destorroadas e passadas em peneiras de malha de 2 mm. Posteriormente, as amostras da 1<sup>a</sup> coleta foram enviadas ao Laboratório de Química e Fertilidade do Solo (DSEA/UFPR) para realização de análises químicas seguindo metodologias descritas por Sirtoli *et al.* (2006).

A acidez dos solos foi determinada pelos parâmetros: acidez ativa (pH em CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup>) e acidez potencial (H+Al), esta, calculada indiretamente por correlação com pH em solução tampão SMP pela equação a seguir:

$$H + Al = \frac{e^{(10,665 - 1,488 \text{ SMP})}}{10} \quad (7)$$

O tampão SMP é preparado a partir de 3,6 g de *p*-nitrofenol, 6 g de cromato de potássio, 106,2 g de cloreto de cálcio, 4 g de acetato de cálcio e 5 mL de trietanolamina, em 1 L de água ultrapura, e seu pH ajustado para 7,5 com solução de NaOH 1 mol L<sup>-1</sup>.

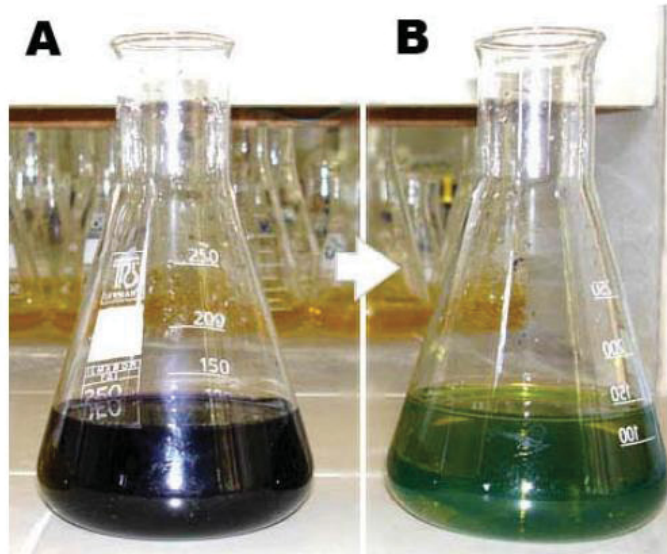
Os cátions trocáveis cálcio (Ca<sup>2+</sup>), magnésio (Mg<sup>2+</sup>) e alumínio (Al<sup>3+</sup>) foram extraídos com KCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>. Os dois primeiros foram determinados por absorção atômica e o Al<sup>3+</sup> por titulação com NaOH 0,025 mol L<sup>-1</sup>. Os teores de K<sup>+</sup> e P disponíveis, ambos extraídos pelo método Mehlich 1 (0,025 mol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0,05 mol L<sup>-1</sup> de HCl) foram determinados, respectivamente, por fotometria de chama e espectrofotometria no visível.

### 3.4 DETERMINAÇÃO DE CARBONO

#### 3.4.1 Determinação de carbono orgânico dos solos

As medidas de carbono orgânico dos solos de todas as coletas e tratamentos foram realizadas por oxidação úmida, pelo método de Walkley-Black (1964, citado por SOUZA *et al.*, 2012, SATO, 2013), no LABPPAM, DQ/UFPR. Sendo assim, para cada amostra foram pesados 0,5 g de solo e transferidos a um erlenmeyer de 500 mL juntamente com 10,0 mL de dicromato de potássio 0,167 mol L<sup>-1</sup> (4,9 g de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> seco dissolvido e avolumado a 1 L com água ultrapura) e 20 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado. A mistura foi agitada por 1 min e, posteriormente, deixada em repouso por 30 min. Em seguida adicionou-se 200 mL de água ultrapura, 10 mL de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) concentrado e 1 mL de difenilamina 0,16%. A titulação do excesso de dicromato foi realizada com solução padronizada de sulfato ferroso amoniacal ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) de aproximadamente 1 mol L<sup>-1</sup> (preparada a partir de 39,2 g do sal (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O e 15 mL de ácido sulfúrico concentrado ajustados para 1 L de solução com água ultrapura) até mudança da coloração da solução de púrpura (Figura 11A) para verde (Figura 11B).

FIGURA 11 - PONTO FINAL DA REAÇÃO WALKLEY &amp; BLACK



FONTE: Silva, Azevedo e -Polli, 2007

A padronização da solução de sulfato ferroso amoniacal foi realizada por titulações com solução de dicromato de potássio  $0,167 \text{ mol L}^{-1}$ , em triplicata, de provas em branco. O resultado do carbono orgânico foi expresso em gramas de carbono por quilograma de solo e para os cálculos foi utilizada a seguinte equação:

$$C_{WB} (\text{g kg}^{-1}) = \frac{(V_b - V_a) \cdot [Fe^{2+}] \cdot 1,5 \cdot 12 \cdot f_d}{m \cdot 6} \quad (8)$$

Onde:

$V_b$  = volume;

$V_a$  = volume do  $Fe^{2+}$  gasto na amostra em mL;

$[Fe^{2+}]$  = concentração de  $Fe^{2+}$  padronizado em  $\text{mol L}^{-1}$ ;

1,5 = relação estequiométrica da reação entre o carbono orgânico e o  $Cr_2O_7^{2-}$ ;

12 = massa molar carbono em  $\text{g mol}^{-1}$ ;

$f_d$  = fator de diluição;

$m$  = massa de solo em g;

6 = relação estequiométrica da reação entre  $Fe^{2+}$  e  $Cr_2O_7^{2-}$ ;

### 3.4.2 Análise Elementar CHN dos solos e AH

A análise elementar CHN das amostras de solo e AH foram realizadas na central analítica da Embrapa Clima Temperado (Pelotas, RS). Foram pesados 0,5 g de cada amostra previamente maceradas e analisadas individualmente em analisador automático aTruSpec CHN – LECO. Na câmara de combustão do analisador as amostras foram queimadas a uma temperatura de aproximadamente 900°C. Os gases de combustão foram separados por cromatografia. As concentrações de carbono e hidrogênio são determinadas por detectores de infravermelho de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O, respectivamente, e a concentração de nitrogênio por condutividade térmica.

Os cálculos das razões H/C e C/N foram efetuados dividindo as porcentagens em massa dos elementos por suas respectivas massas atômicas:

$$\frac{H}{C} = \frac{\% H}{\% C/12} \quad (9)$$

$$\frac{C}{N} = \frac{\% C/12}{\% N/14} \quad (10)$$

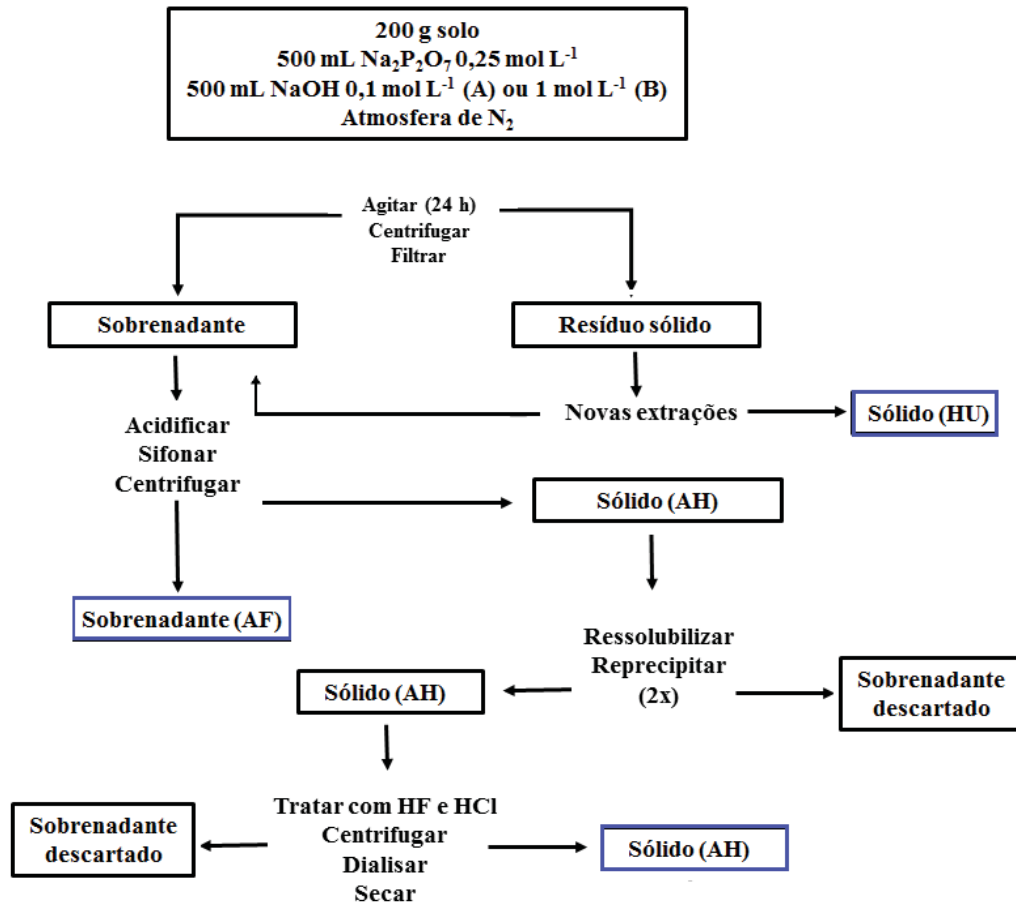
## 3.5 EXTRAÇÃO, FRACIONAMENTO E PURIFICAÇÃO DAS SH

As amostras de solos foram quarteadas para a realização das extrações, deste modo, todas as granulometrias que compõem a amostra como um todo são repartidas igualmente, compondo uma amostra representativa. As substâncias húmicas foram extraídas utilizando-se duas metodologias adaptadas de Cozzolino *et al.* (2001), as quais seguem as mesmas etapas apresentadas no fluxograma da Figura 12, empregando, em cada caso, diferentes concentrações de NaOH, sendo estas:

Método A - Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (0,25 mol L<sup>-1</sup>) e NaOH (0,1 mol L<sup>-1</sup>), aplicado às amostras das 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> coletas.

Método B - Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (0,25 mol L<sup>-1</sup>) e NaOH (1,0 mol L<sup>-1</sup>), aplicado às amostras da 4<sup>a</sup> coleta.

FIGURA 12 - FLUXOGRAMA DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO, FRACIONAMENTO E PURIFICAÇÃO DAS SH.



FONTE: Olendski, 2006, modificado pelo autor.

Após secagem ao ar e peneiramento, foram pesados 200,0 g de cada solo, os quais foram transferidos para uma garrafa plástica junto a 500 mL de cada solução extratora (NaOH e Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) e em seguida aplicou-se fluxo de N<sub>2</sub> por 15 minutos. A mistura foi agitada em agitador mecânico por 24 horas e, no dia seguinte, centrifugada (3000 rpm) por 15 minutos obtendo-se um resíduo sólido. O sólido foi submetido a mais duas extrações (500 mL de cada solução extratora, 15 minutos em atmosfera de N<sub>2</sub>), estas com agitação de 1 hora ao invés de 24 horas. Em seguida, o sólido resultante, humina (HU), foi deixado em estufa (60 °C) até secagem completa. Todo o sobrenadante foi filtrado em lã de vidro e seu pH elevado a 12 utilizando NaOH e posteriormente acidificado com HCl (até pH 1) para precipitação do ácido húmico. Após período de repouso de uma noite, o sobrenadante, ácido fúlvico (AF), foi separado do precipitado, ácido húmico (AH), por sifonação e armazenado no freezer. Ao precipitado (AH) foram adicionados 3 L de água deionizada, o pH foi novamente



ajustado a 12 e, em seguida, acidificado a pH 1. O procedimento de solubilização-precipitação foi repetido por mais uma vez para eliminar impurezas e, em seguida, o ácido húmico foi tratado com solução de HF/HCl (40 mL/2,5 mL em 1L de água destilada) para remoção dos contaminantes inorgânicos, procedimento sugerido pela International Humic Substances Society (IHSS) (DICK *et al.*, 2002). A mistura (AH + HF/HCl) foi agitada por 48 horas, centrifugada, dialisada em membrana de diálise (14.000 Da de tamanho de poro), até teste negativo para cloreto, utilizando nitrato de prata. Ao fim do processo o ácido húmico (AH) foi seco em estufa a 60 °C (GONDAR *et al.*, 2005). Estes procedimentos foram realizados no LABPPAM, DQ/UFPR.

### 3.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG)

Para a determinação da porcentagem de perda de massa e obtenção das curvas termodiferenciais das amostras de ácidos húmicos, foi utilizado um equipamento Netzsch STA449 F3 Júpiter, com forno de carbetto de silício, disponível no DQ/UFPR. Foram pesados 10,0 mg de AH e colocados em cadinhos de alumina. A temperatura foi elevada de 30 °C a 650 °C com taxa de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup>. Foi descontada a região entre 30 °C e 105 °C, considerada a faixa de perda de umidade.

As curvas de termodecomposição foram divididas em duas regiões de acordo com a perda de massa ao longo do aquecimento: região 1 (105 a 350 °C), atribuída à degradação térmica de estruturas menos estáveis, por exemplo, polissacarídeos, descarboxilação de grupos ácidos e desidratação de estruturas alifáticas hidroxiladas (FRANCIOSO *et al.*, 2003) e região 2 (350 a 650 °C), referente ao rompimento de estruturas contendo núcleos aromáticos (PROVENZANO e SENESI, 1999). O índice termogravimétrico (resistência a termodecomposição) foi calculado conforme descrito por Benites *et al.* (2005) pela razão entre a perda de massa da região 2 (350 a 650 °C) pela perda de massa da região 1 (105 a 350 °C).

### 3.7 MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS

#### 3.7.1 Espectroscopia Ultravioleta-Visível por Reflectância Difusa (DRUV-VIS)

Os espectros no DRUV-VIS foram obtidos na faixa de 190-900 nm utilizando espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC, equipado com acessório de esfera de integração modelo 240-52454-01, do laboratório LABBPAM. As amostras de solo, HU e AH, no estado sólido, foram colocadas em porta amostras de 26 mm de diâmetro, à temperatura ambiente e utilizou-se como referência sulfato de bário ( $\text{BaSO}_4$ ).

As razões  $E_4/E_6$  dos AH e HU foram calculadas dividindo-se as intensidades de log (1/reflectância) ou os valores das absorbâncias nos comprimentos de onda 465 e 665 nm. As medidas por DRUV-VIS foram feitas em quintuplicata e utilizou-se os espectros médios, para melhor comparação e avaliação dos resultados.

#### 3.7.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa (DRIFT)

As análises de DRIFT dos solos, AH e HU, no estado sólido, foram realizadas utilizando-se equipamento Vertex 70, equipado com acessório de reflectância difusa *Gemini Diffuse Reflectance Sampling Head*, no Laboratório de Espectroscopia Vibracional de Infravermelho, DQ/UFPR. Os espectros de DRIFT foram obtidos na faixa do infravermelho médio,  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ , com resolução de  $2 \text{ cm}^{-1}$  e 256 varreduras, em triplicata.

A partir dos dados de infravermelho calculou-se, para as amostras de AH, o índice de aromaticidade, IA, obtido pela razão entre a soma das bandas em  $3050 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1620 \text{ cm}^{-1}$  e  $1530 \text{ cm}^{-1}$  (bandas indicadoras de estruturas aromáticas) dividido pela soma das bandas em  $2925 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1450 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1050 \text{ cm}^{-1}$  e  $1074 \text{ cm}^{-1}$  (bandas indicadoras de estruturas alifáticas).

#### 3.7.3 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Nuclear (EPR)

As amostras de AH e HU foram secas, colocadas em tubos de quartzo de 4 mm de diâmetro e posteriormente analisadas no Laboratório Regional Sul de EPR,

LABEPR/DQ/UFPR. Os espectros de EPR dos AH e HU foram obtidos utilizando-se espectrômetro BRUKER ESP 300E usando a banda X (~ 9,5 GHz) com frequência de modulação de 100 kHz, à temperatura ambiente, em varredura de campo magnético de 5000 G. Para o cálculo do número de spins  $g^{-1}$  foram registrados espectros a partir de varreduras de campo magnético a 50 G. Como padrão de quantidade de radical livre orgânico (RLO), utilizou-se amostra determinada “WichPitch” com  $1,04 \times 10^{13}$  spins  $cm^{-1}$ . O cálculo do número de spin  $g^{-1}$  foi realizado da seguinte forma:

$$S_{amostra} \cdot n^{\circ} \text{ spins } cm^{-1} \text{ padrão} = S_{padr\tilde{a}o} \cdot n^{\circ} \text{ spins } cm^{-1} \text{ amostra} \quad (11)$$

$$n^{\circ} \text{ spins } cm^{-1} \text{ amostra} = S_{amostra} \cdot n^{\circ} \text{ spins } cm^{-1} \text{ padrão} / S_{padr\tilde{a}o} \quad (12)$$

onde,

$S_{amostra}$  = área sob a curva de absorção da amostra;

$n^{\circ} \text{ spins } cm^{-1} \text{ padrão}$  = número de spins do padrão “wich pitch” por cm;

$S_{padr\tilde{a}o}$  = área sob a curva de absorção do padrão;

$n^{\circ} \text{ spins } cm^{-1} \text{ amostra}$  = número de spins da amostra por cm;

Como a amostra é pesada, a sua altura no tubo de EPR foi transformada em massa e, assim, o valor  $n^{\circ} \text{ spins } cm^{-1} \text{ amostra}$  em  $n^{\circ}$  de spins  $g^{-1}$ .

#### 3.7.4 Espectroscopia de Fluorescência Molecular

As amostras de AH e AF em solução foram colocadas em cela de quartzo multifacetada (Sigma) com 3,5 mL de capacidade e analisadas em espectrofotômetro de luminescência Hitachi modelo F-4500 do DQ/UFPR. As concentrações utilizadas nas determinações foram de 20 mg  $L^{-1}$  para os AH e 5% (v/v) para os AF, ambas diluídas em bicarbonato de sódio ( $NaHCO_3$ ) 0,05 mol  $L^{-1}$  (pH 10 ajustado com NaOH 0,1 mol  $L^{-1}$ ). O pH das soluções foi definido a partir de testes preliminares, sendo considerado como pH ótimo o valor cujas maiores intensidades de emissão foram obtidas.

Os espectros de fluorescência foram obtidos em dois modos: modalidade emissão e varredura síncrona. Os espectros de emissão ( $Em$ ) foram obtidos empregando-se os seguintes comprimentos de onda de excitação ( $\lambda_{ex}$ ):

- $\lambda_{ex} = 240 \text{ nm}$  ( $Em$  300-650)  $\rightarrow \lambda_{ex}$  utilizado por Zsolnay et al., (1999), Santos (2006) e Vaz Jr (2010);

$\lambda_{ex} = 295 \text{ nm}$  (Em 305 – 650)  $\rightarrow \lambda_{ex}$  cujas amostras apresentaram máxima absorção no espectro UV-Vis;

Os espectros de varredura síncrona, por sua vez, foram obtidos empregando os seguintes deslocamentos de Stokes:

- $\Delta\lambda = 18 \text{ nm}$   $\rightarrow$  para as amostras de AH e AF, deslocamento de Stokes teórico (DROUSSI *et al.*, 2009; SANTIN *et al.*, 2009; RODRIGUEZ *et al.*, 2014);
- $\Delta\lambda = 45 \text{ nm}$   $\rightarrow$  intervalo entre os máximos de emissão e excitação para os AH (deslocamento de Stokes experimental obtido em ensaios preliminares);
- $\Delta\lambda = 65 \text{ nm}$   $\rightarrow$  intervalo entre máximos de emissão e excitação para os AF (deslocamento de Stokes experimental obtido em ensaios preliminares);

Os parâmetros para aquisição dos espectros encontram-se resumidas na Tabela 6.

TABELA 6 - PARÂMETROS PARA AQUISIÇÃO DOS ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR

MODO	Emissão	$\lambda_{em}$ 300 – 650	$\lambda_{ex}$ 240
		$\lambda_{em}$ 310 – 650	$\lambda_{ex}$ 295
Sincronizado		$\lambda_{em}$ 250 – 650	$\Delta\lambda$ 18 nm
		$\lambda_{em}$ 250 – 650	$\Delta\lambda$ 45 nm
		$\lambda_{em}$ 250 – 650	$\Delta\lambda$ 65 nm

FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: Velocidade de varredura: 240 nm.min<sup>-1</sup>; Resolução espectral: 0,2 nm. Incremento no comprimento de onda de excitação e emissão de 10 e 5 nm, respectivamente.

### 3.8 ANÁLISES QUIMIOMÉTRICAS

#### 3.8.1 Análises de Agrupamento Hierárquico e de Componentes Principais

Para a análise de Agrupamento Hierárquico (HCA) foram utilizadas as médias das triplicatas das análises químicas do solo. Aos dados foram aplicados autoescalamento e distância do vizinho mais próximo (KNN, do inglês *K-Nearest Neighbor*). As análises de Componentes Principais (PCA) dos espectros de infravermelho dos solos, AH e HU foram realizadas utilizando os espectros médios de cada amostra. Antes de processados os dados foram pré-tratados por diferentes métodos convencionais, sendo estes: centrado na média, alisamento Savitsky-Golay, 1° derivada e normalização. Ao PCA dos índices de aromaticidade foi aplicado apenas

autoescalamento. Para tais procedimentos foi utilizado o pacote PLS – Toolbox versão 1.5 executado em ambiente MATLAB versão 7.0.1.

### 3.8.2 Regressão por Mínimos Quadrados Parciais

Os modelos de calibração multivariada foram realizados pelo método de Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (*Partial Least Squares*, PLS) no software MATLAB 7.0.1, utilizando o pacote PLS-Toolbox versão 1.5.

Os espectros de infravermelho de solos e AH foram utilizados para a construção das matrizes (X) e os valores de C determinados por Walkley & Black ou análise elementar foram utilizados como vetores (Y). Os espectros, obtidos conforme descrito na seção 3.7.2, foram pré-tratados por alisamento Savitsky-Golay, centrado na média, normalização e 1ª derivada. Os valores das matrizes obtidos em reflectância foram transformados para  $-\log R$ .

A identificação e remoção de amostras anômalas, *outliers*, foi realizada pela avaliação de duas grandezas complementares: *leverage h* (*leverage* extremo) e resíduos studentizados.

Considerando-se uma distribuição normal dos dados a um nível de confiança de 95%, o valor limite para o resíduo studentizado corresponde a  $\pm 2,5$ . O parâmetro *leverage* indica a distância entre uma amostra e a média de um conjunto de dados, quando o valor de *leverage* para uma determinada amostra é baixo significa que esta influi pouco na construção do modelo de calibração (FERREIRA et al., 1999). O valor do *leverage* limite ( $h_{limite}$ ) em cada modelo foi obtido conforme recomendação da norma ASTM1655-05 (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM, 2012), calculado pela equação 13.

$$h_{limite} = 3 \frac{VL+1}{N} \quad (13)$$

Onde,  $h_{limite}$  é o *leverage* limite, VL é o número de variáveis latentes e N o número de amostras.

Desta forma, amostras com resíduos studentizados acima de 2,5, abaixo de -2,5, ou ainda, com  $h_i$  maiores que o  $h_{limite}$  foram analisadas e consideradas *outliers*.

O desempenho dos modelos foram avaliados por seus coeficientes de determinação,  $R^2$ , e pelas raízes dos erros médios de calibração (RMSEC - *Root Mean Square Error of Calibration*) e de validação cruzada (RMSECV - *Root Mean Square Error of Calibration Cross Validation*).

Para realizar o modelo de validação cruzada utilizou-se o método denominado *leave-one-out*. Neste método, o espectro de uma amostra do conjunto de calibração foi deixado de fora e um novo modelo foi construído com os demais espectros para a predição dos teores de carbono das amostras. Este procedimento foi repetido por “N” vezes (onde N é o número de amostras) (SOUZA *et al.*, 2013)

A validação cruzada foi utilizada também para escolher o número de variáveis latentes (VL) empregadas em cada modelo.

### 3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas, como teste t de Student, ajustes por regressão linear, análise de variância (ANOVA) e Diferença Mínima Significativa (DMS) foram realizadas nos programas Windows Excel e OriginPro 9.1.

A ANOVA de fator único foi utilizada para avaliar as diferenças entre os tratamentos, as diferenças entre as coletas e a significância do modelo de regressão (NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2001).

O cálculo do DMS foi realizado pela seguinte equação:

$$DMS = t_{v = n-1} (2 \times MQ_r/n_g)^{1/2}$$

Onde,  $t_{v = n-1}$  é o valor de t a 95% de confiança para o número de graus de liberdade dos resíduos,  $MQ_r$  é a média quadrática dos resíduos e  $n_g$  o número de replicatas.

## 4 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

### 4.1 ESTUDOS DOS SOLOS

#### 4.1.1 Análises químicas dos solos: Parâmetros Agronômicos

Os resultados das análises químicas, em triplicata, das amostras de solo da 1ª coleta, na profundidade de 0-5 cm, estão apresentados nas Tabelas 7 e 8.

TABELA 7 - RESULTADOS DAS DETERMINAÇÕES (N = 3) DE PARÂMETROS AGRONÔMICOS PARA OS SOLOS DE SANTA MARIA (1ª COLETA – C1, PROFUNDIDADE DE 0-5 CM PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS (T1-T6))

Amostra	pH (CaCl <sub>2</sub> )	pH SMP <sup>1</sup>	P mg kg <sup>-1</sup>
T1C1	5,07 ± 0,06	6,27 ± 0,06	46,6 ± 0,2
T2C1	4,90 ± 0,01	6,20 ± 0,01	35,93 ± 0,06
T3C1	4,93 ± 0,06	6,17 ± 0,06	38,4 ± 0,4
T4C1	4,90 ± 0,01	6,27 ± 0,06	42,1 ± 0,4
T5C1	4,90 ± 0,01	6,20 ± 0,01	30,1 ± 0,2
T6C1	4,83 ± 0,06	6,07 ± 0,06	26,7 ± 0,2
XR	5,83 ± 0,06	6,97 ± 0,06	155 ± 3

FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR. <sup>1</sup>SMP: Shoemaker–McLean–Pratt

TABELA 8 - RESULTADOS DAS DETERMINAÇÕES (N = 3) DE PARÂMETROS AGRONÔMICOS PARA OS SOLOS DE SANTA MARIA (1ª COLETA – C1, PROFUNDIDADE DE 0-5 CM PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS (T1-T6))

Amostra	Al mmolc kg <sup>-1</sup>	H+Al	Ca	Mg	K
T1C1	ND <sup>1</sup>	30 ± 1	16,7 ± 0,4	8,8 ± 0,7	2,28 ± 0,01
T2C1	0,080 ± 0,001	34,4 ± 0,1	19,5 ± 0,4	10,7 ± 0,5	2,19 ± 0,05
T3C1	0,083 ± 0,001	37 ± 1	21,1 ± 2,7	10,6 ± 0,5	2,4 ± 0,1
T4C1	0,081 ± 0,001	33 ± 1	20,4 ± 1,9	9,7 ± 0,8	2,10 ± 0,01
T5C1	0,077 ± 0,001	33,1 ± 0,1	15,4 ± 0,8	9,0 ± 0,4	2,05 ± 0,04

(continua)

(conclusão)

Amostra	Al	H+Al	Ca	Mg	K
T6C1	0,083 ± 0,001	39 ± 2	18,7 ± 0,5	9,09 ± 0,01	2,12 ± 0,05
XR	ND <sup>1</sup>	30,4 ± 0,7	135 ± 56	31 ± 11	5,7 ± 0,3

FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR. <sup>1</sup>ND = Não detectado

O pH representa a acidez ativa do solo, sendo que quanto menor seu valor, maior será a quantidade de íons H<sup>+</sup> dissociados na fase líquida do solo (SIRTOLI *et al.*, 2006). De acordo com os dados da Tabela 7 pode-se verificar que neste estudo o pH dos solos manteve-se entre 4,8 e 5,0 sendo considerados valores muito baixos para solos agrícolas, conforme valores de referência expressos no Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, apresentados no anexo 1 (CQFS-RS/SC, 2004). Kray *et al.* (2013) obtiveram um valor de pH de 4,5 para amostra de solo da mesma classe. Apesar do XR ter apresentado pH mais elevado que as amostras de solo, como também verificado por Chaves e Vasconcelos (2006), a baixa concentração de carbonatos e pouca reatividade dos silicatos presentes no subproduto não exercem influência sob a reação do solo. Quanto às variações entre os tratamentos, estas não parecem ser significativas do ponto de vista agrônomo.

Além da acidez ativa (H<sup>+</sup> livre na solução do solo), os solos apresentam acidez potencial, a qual é constituída pela acidez não trocável (hidrogênio covalente, H<sup>0</sup>) e acidez trocável (H<sup>+</sup> e Al<sup>3+</sup> ligados à fase sólida do solo por forças eletrostáticas) (SIRTOLI *et al.*, 2006). A acidez potencial pode ser estimada por correlação com o índice SMP e, este, utilizado para indicar as quantidades de calcário necessárias para elevar o pH do solo.

Os valores obtidos para acidez potencial dos solos e XR foram próximos entre si, não havendo grandes variações com a aplicação do XR ao solo. Silva *et al.* (2013) encontraram valores com média de 35,5 mmol<sub>c</sub> kg<sup>-1</sup> em um Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico sob cultivo de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*) estando estes próximos ao do presente estudo.

Com relação aos íons cálcio e magnésio trocáveis, as testemunhas, T1 e T5, apresentaram menores teores que as amostras de solos que receberam a aplicação de XR. Estas variações, ainda que pequenas, podem ser atribuídas às altas concentrações destes íons no subproduto de xisto. Os teores de cálcio são



considerados médios nas amostras T1, T2, T5 e T6 e alto nas amostras T3 e T4. Quanto ao magnésio, todas as amostras apresentaram valores altos (ver valores de referência para tal classificação no Anexo 1) (CQFS-RS/SC, 2004).

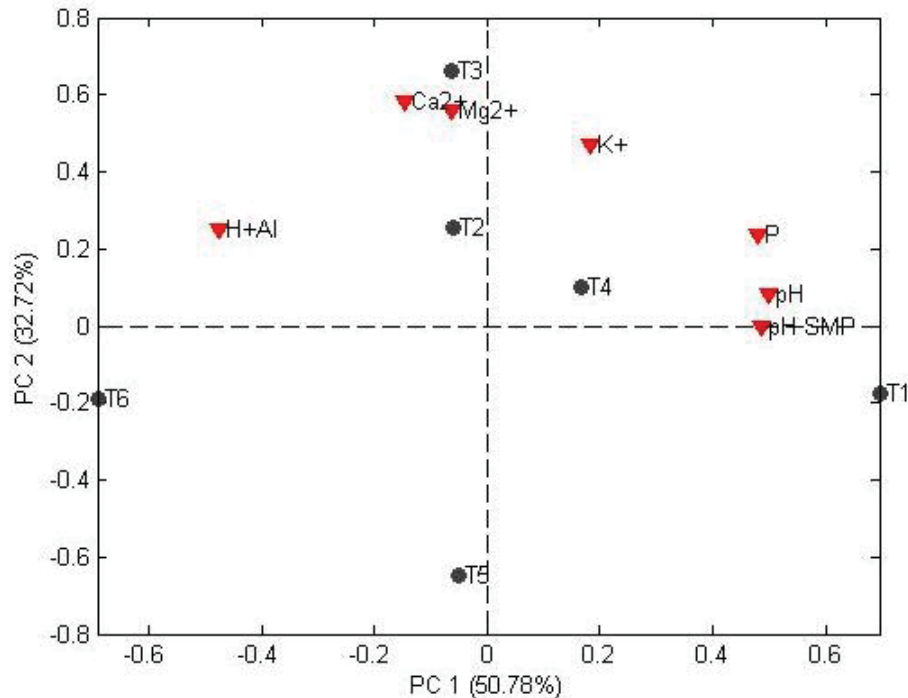
As concentrações de  $K^+$  trocável foram muito altas em todas as amostras. Quanto aos teores de fósforo, as amostras T1 e T4 apresentaram valores considerados muito altos e as demais amostras valores altos (Anexo 1) (CQFS-RS/SC, 2004). Os resultados encontrados concordam, de maneira geral, com os valores obtidos por outros pesquisadores (PEREIRA e VITTI, 2004; KRAY *et al.*, 2013).

A análise de componentes principais (PCA) mostrada a seguir na Figura 13 foi efetuada para visualizar conjuntamente as relações entre as amostras e as variáveis. A primeira componente principal (50,78 % da variância dos dados), a PC1, foi responsável pela diferenciação entre os tratamentos pelo grau de acidez dos solos e teor de P. Assim, a amostra T1, com maior carregamento na PC1, apresentou além da maior concentração de P, uma menor acidez potencial ( $H^+Al$ ), visto que seus valores de pH e pH SMP são elevados. A testemunha de xisto (T6) apresentou um comportamento inverso à T1, o que pode indicar que a adição de XR isoladamente (sem NPK) induz o aumento da acidez dos solos. As demais amostras, por sua vez, apresentaram comportamento intermediário. A correlação negativa entre o valor de pH SMP e a acidez potencial observados está de acordo com o que é descrito na literatura (SIRTOLI *et al.*, 2006).

O aumento do teor de P na amostra T1 pode estar associado à diminuição da acidez não por coincidência, mas devido à elevação do pH favorecer o surgimento de cargas negativas no solo, elevando, assim, sua CTC (capacidade de troca catiônica) e melhorando as condições de disponibilização de nutrientes para as plantas (PAVINATO *et al.*, 2009).

A segunda componente principal PC2 (32,72 % da variância dos dados) separa as amostras de solos de acordo com a quantidade de cátions trocáveis ( $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  e  $K^+$ ). Assim, foi possível concluir que a testemunha absoluta (T5) é um solo mais pobre que os demais, uma vez que se apresentou mais distante destas variáveis. Foi observado, ainda, que, no geral, as testemunhas (T1, T5 e T6) apresentaram concentrações mais baixas de cátions trocáveis que as amostras submetidas a adubação de base e XR (T2, T3 e T4), sugerindo um possível efeito sinérgico entre os dois tipos de aplicação no aumento dos níveis de  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  e  $K^+$  no solo.

FIGURA 13 - GRÁFICOS BIPLLOTS DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DAS ANÁLISES QUÍMICAS DOS SOLOS DA 1ª COLETA: (A) PC2 VS. PC1; (B) PC3 VS. PC1



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR.

#### 4.1.2 Determinação de carbono nos solos

##### 4.1.2.1 Determinação de C dos solos via Análise Elementar e Walkley & Black

O teor de carbono do solo é um dos parâmetros mais utilizados para avaliar alterações a médio e longo prazo, uma vez que é sensível às mudanças climáticas e atividades de manejo, além de influenciar diversas características químicas, físicas e biológicas do solo (JERKE, 2011).

Atualmente, existem diversos métodos para a determinação do teor de carbono no solo que se baseiam em princípios de combustão a seco, como a Análise Termogravimétrica e Análise elementar - CHNS/O, e combustão úmida, dentre os quais se destacam os métodos Walkley & Black e Mebius. No presente estudo foram determinados nas amostras de solos os teores de carbono total por análise elementar ( $C_{CNH}$ ) e carbono orgânico pelo método Walkley & Black ( $C_{WB}$ ). Os resultados estão apresentados na Tabela 9.

TABELA 9 - TEORES DE C TOTAL POR ANÁLISE ELEMENTAR ( $C_{CNH}$ ) E CARBONO ORGÂNICO PELO MÉTODO WALKLEY & BLACK ( $C_{WB}$ ) DOS SOLOS

TRATAMENTO	$C_{CNH}$ (g kg <sup>-1</sup> )				Média dos Tratamentos
	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	4ª coleta	
ST1	12,1	12,0	13,3	12,2	13,0
ST2	12,6	11,7	12,8	12,1	12,3
ST3	12,3	13,1	15,7	12,7	13,4
ST4	12,1	12,4	13,0	12,8	12,6
ST5	13,1	12,6	12,5	12,5	12,7
ST6	12,3	**	12,5	12,6	12,5
Média das Coletas	12,8	12,4	13,3	12,5	
	$C_{WB}$ (g kg <sup>-1</sup> )				
ST1	10,3	10,3	10,5	10,5	10,4
ST2	10,7	10,1	10,6	10,3	10,4
ST3	10,4	10,2	10,5	10,4	10,4
ST4*	10,4 ± 0,2	10,5 ± 0,3	10,9 ± 0,1	10,4 ± 0,2	10,6
ST5	10,0	10,2	10,7	10,5	10,4
ST6	10,7	**	10,3	10,3	10,3
Média das Coletas	10,4	10,3	10,6	10,4	

FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR. \*Análise realizada em triplicata. \*\*valor não determinado

Pela observação dos dados da Tabela 9 pode-se evidenciar que os valores de carbono medidos pelo CHN nas amostras de solo variaram entre 11,7 g kg<sup>-1</sup> e 15,7 g kg<sup>-1</sup>, com média de 12,75 g kg<sup>-1</sup> e desvios padrão entre as médias das coletas de ± 0,35 g kg<sup>-1</sup> e entre as médias dos tratamentos de ± 0,36 g kg<sup>-1</sup>. Os valores do método titulométrico foram menores e com menor amplitude (diferença entre valor mínimo e máximo), variando entre 10 g kg<sup>-1</sup> e 10,9 g kg<sup>-1</sup>, com média de 10,4 g kg<sup>-1</sup> e apresentando desvios de, aproximadamente, ± 0,1 g kg<sup>-1</sup> tanto entre as coletas quanto entre os tratamentos. Para este método foram realizadas, também, análises em triplicata dos tratamentos T4 para a obtenção dos desvios padrões das medidas. Estes estiveram entre ± 0,1 g kg<sup>-1</sup> e ± 0,3 g kg<sup>-1</sup>, desta forma conclui-se que a maioria das amostras apresentaram, estatisticamente, o mesmo teor de carbono orgânico.

O fato de valores de carbono obtidos pela análise elementar serem superiores aos do método Walkley & Black (combustão por via úmida) está em consonância com as observações de outros autores (CATANI *et al.*, 1964; McCARTY *et al.*, 2010; COSER *et al.*, 2012; SATO, 2013) e se justifica em razão de a análise elementar

determinar todas as formas de carbono, enquanto que o Walkley & Black determina, essencialmente, o carbono orgânico. Pelo teste *t* pareado, as médias experimentais da análise elementar foram significativamente maiores que as do método Walkley & Black, com 95 % de confiança.

Os testes *F* aplicados à análises de variância (ANOVA) apontaram que tanto as diferenças entre as médias das coletas quanto as diferenças entre as médias dos tratamentos não foram significativas a um nível de confiança de 95%.

Na literatura são encontrados valores de carbono orgânico para o Argissolo Vermelho distrófico arênico do Município de Santa Maria próximos aos obtidos no presente estudo. Braida e colaboradores (2008) realizaram medidas de carbono orgânico total (COT, método de análise elementar adaptado) com o intuito de avaliar os efeitos de doses de esterco de suínos e plantas de cobertura nesta classe de solo e encontraram valores entre 10,6 e 15,4 g kg<sup>-1</sup>. Em estudo recente, cujo objetivo era determinar a capacidade de suporte de carga e a suscetibilidade à compactação de solos do município de Santa Maria, foi obtido para a amostra controle, em profundidade de 0-12 cm, teor de COT de 12,2 g kg<sup>-1</sup> (BRAGA *et al.*, 2015).

A partir do método de oxidação por via úmida, Leite *et al.* (2015) obtiveram valores de carbono orgânico em torno de 2,0 e 15,5 g kg<sup>-1</sup>, com uma média de 7,8 g kg<sup>-1</sup>, para Argissolo Vermelho-Amarelo do estado do Piauí.

#### 4.1.2.2 Predição do teor de C nos solos por Espectroscopia de Infravermelho

Os principais métodos de determinação de carbono utilizados atualmente possuem diferentes desvantagens, sendo as principais delas a geração de resíduos tóxicos pelo Walkley & Black e o alto custo da análise elementar. Diante disso, a espectroscopia de infravermelho tem gerado grande interesse na predição do teor de carbono, uma vez que esta técnica apresenta baixo custo comparado a análise elementar e não gera resíduos.

Os espectros de infravermelho médio das amostras de solos de todas as coletas e tratamentos foram obtidos por reflectância difusa na região de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>, porém a faixa entre 1000 e 400 cm<sup>-1</sup> foi excluída do conjunto de dados para diminuir o erro de previsão do modelo, uma vez que nesta região há grande interferência da reflexão especular.

Posto isto, o conjunto de dados resultante foi submetido à rotina no programa MATLAB para a construção dos modelos de calibração multivariada por Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (*Partial Least Squares*, PLS) utilizando como métodos de referência o teor de carbono total obtido por análise elementar e o método Walkley & Black ( $C_{WB}$ ) para determinação do carbono orgânico.

Neste mesmo programa foram testados vários métodos de pré-processamento, sendo que os que se mostraram mais adequados, isto é, com menor erro de previsão, foram os dados centrados na média, normalização, alisamento e 1ª derivada aplicados no bloco X (matriz de espectro) e nenhum pré-processamento no bloco Y (teor de carbono medido).

Como critério para seleção do número de variáveis latentes (VL) utilizado em cada modelo foram considerados, principalmente, o valor da raiz quadrada do erro médio quadrático de validação cruzada (*Root Mean Squares Error of Cross Validation*, RMSECV) e a porcentagem de variância capturada acumulada, mostrados na Figura 14a-b (modelo baseado nos valores de referência da análise elementar).

FIGURA 14 -A PORCENTAGEM DE VARIÂNCIA CAPTURADA ACUMULADA EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE SOLO (23 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR;

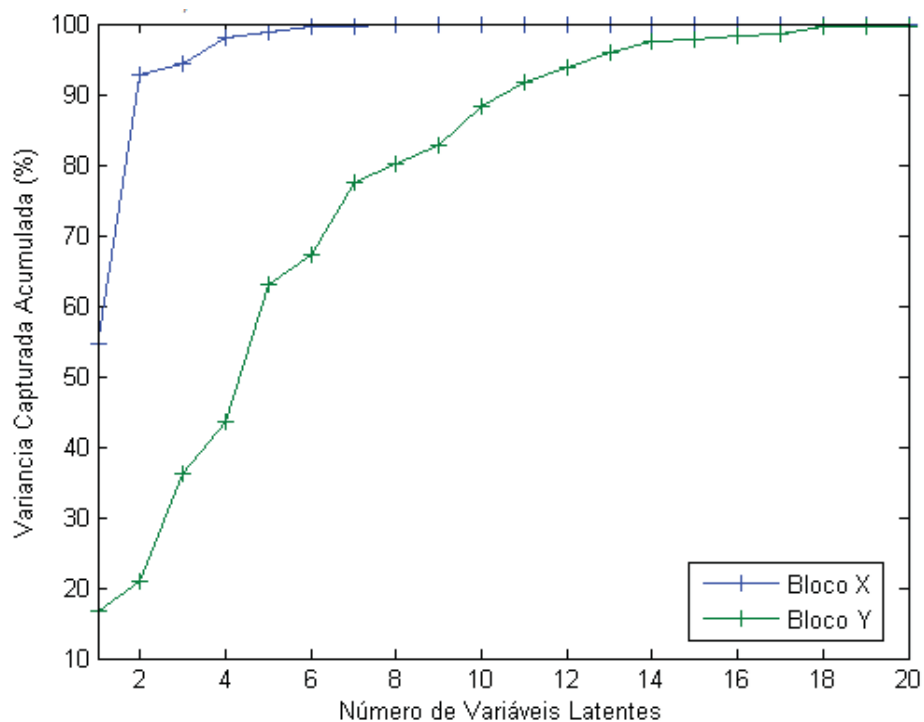
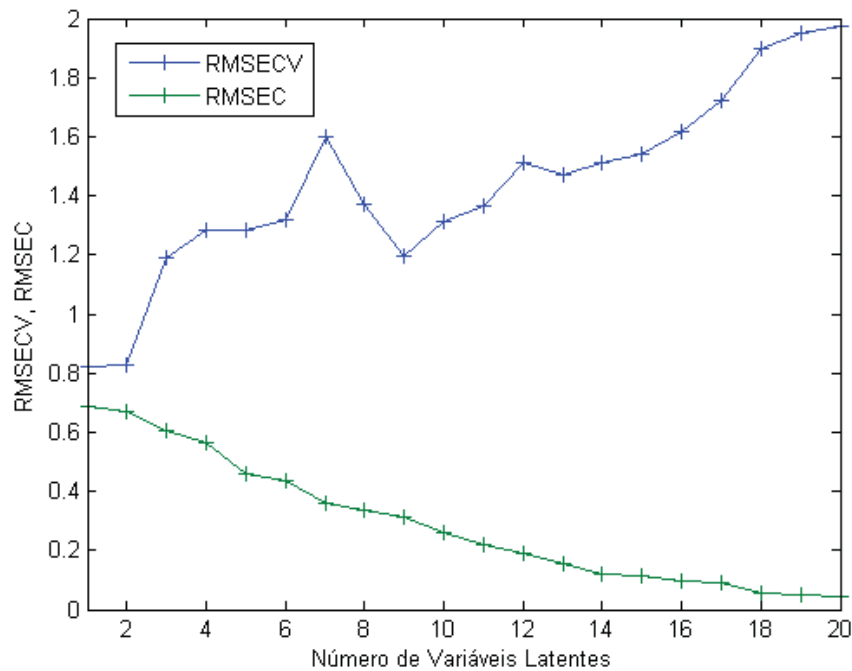


FIGURA 14 B – RMSEC E RMSECV EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE SOLO (23 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR



FONTE: O autor (2016).

Pode ser observado na figura 14b que os mínimos valores de RMSECV foram obtidos com até 2 VL (RMSEC: 0,672; RMSECV: 0,826). No entanto, o coeficiente de determinação utilizando 2 VL,  $R^2 = 0,462$ , foi insuficiente para considerar o modelo ao menos razoável, o que se atribui à baixa porcentagem de variância capturada acumulada, especialmente no bloco y (% variância acumulada com 2 VL – Bloco x: 92,74 % Bloco y: 20,85). Com 5 variáveis latentes a variância capturada da matriz de espectros é 99,85 % , sugerindo que a inclusão de mais uma variável latente possa superestimar o modelo, embora a variância capturada em Y seja 63 %, além disso, o erro de previsão do modelo com 6 VL foi maior do que o do modelo com 5 VL. Por esta razão, o Modelo 1 foi construído com 5 VL (FIGURA 15).

FIGURA 15 A - MODELO 1: MODELO DE CALIBRAÇÃO COM 5 VL PARA DETERMINAÇÃO DE CARBONO TOTAL NAS AMOSTRAS DE SOLO (23 AMOSTRAS) POR INFRAVERMELHO UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR

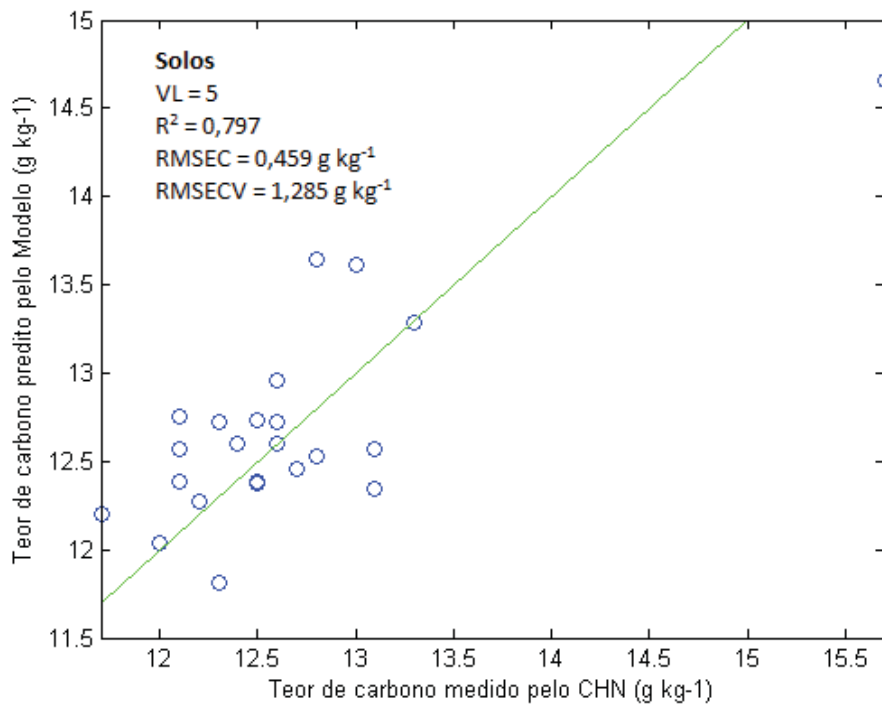
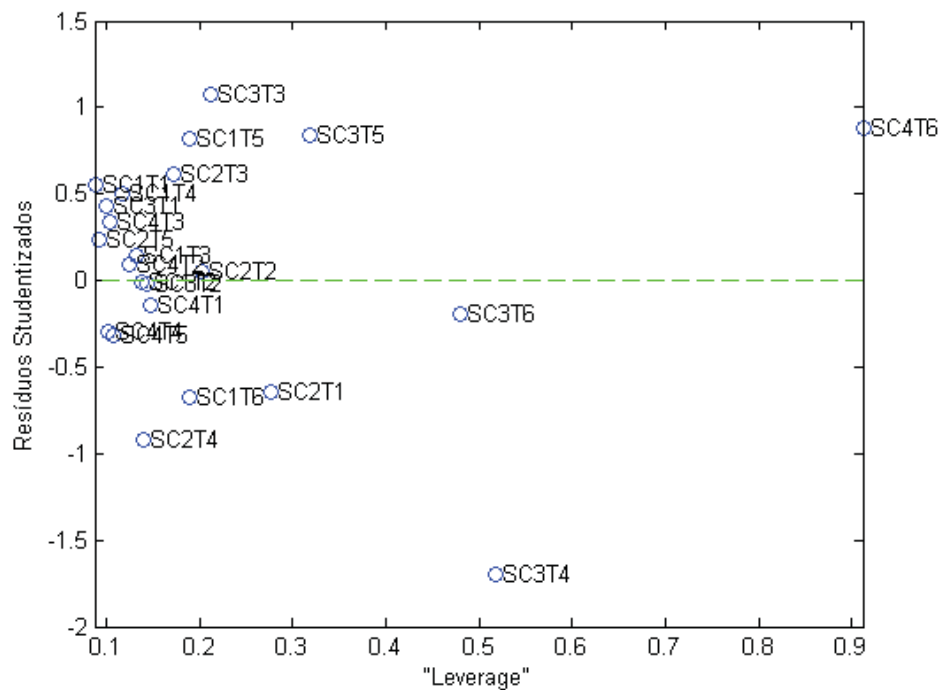


FIGURA 15 B – GRÁFICO DE *LEVERAGE* X RESÍDUOS STUDENTIZADOS DO MODELO 1



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: SC1: solo coleta 1, SC2: solo coleta 2, SC3: solo coleta 3, SC4: solo coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR.

Como visto na Figura 15A, o Modelo 1 apresentou coeficiente de determinação  $R^2 = 0,797$  e erros de previsão RMSEC e RMSECV iguais a  $0,458 \text{ g kg}^{-1}$  e  $1,285 \text{ g kg}^{-1}$ , respectivamente. Estes erros podem ser considerados elevados posto que os teores de carbono medidos pelo CHN nas amostras de solo variaram entre  $11,7 \text{ g kg}^{-1}$  e  $15,7 \text{ g kg}^{-1}$ , com média de  $12,75 \text{ g kg}^{-1}$  e desvio padrão entre as médias das coletas de  $0,35 \text{ g kg}^{-1}$  e entre as médias dos tratamentos de  $0,36 \text{ g kg}^{-1}$ .

Outro importante fator a ser considerado foi a presença de anomalia (*outlier*) pois, apesar dos valores de resíduos studentizados, com nível de confiança de 95%, de todas as amostras estarem entre  $\pm 2,5$ , a amostra SC4T6 ultrapassou o valor de *leverage* limite,  $h_{lim} = 0,78$ , calculado conforme recomendação da norma ASTM empregando 23 amostras e 5VL (FIGURA 15B). Isto significa que esta amostra está distante do centróide (média) do conjunto de dados.

Um segundo modelo foi construído com 9 VL devido à diminuição dos erros de calibração (RMSEC =  $0,313 \text{ g kg}^{-1}$ ) e validação cruzada (RMSECV =  $1,198 \text{ g kg}^{-1}$ ) neste ponto, além de uma considerável melhora na correlação entre o CHN e o infravermelho,  $R^2 = 0,912$ . Apesar da aparente melhora do modelo, o gráfico de *leverage* X resíduos studentizados revela que com o aumento do número de VL outras duas amostras estariam acima do valor de  $h_{lim}$ . O Modelo 2, portanto, pode ser considerado insatisfatório pois a adição de variáveis acima do necessário gerou sobreajuste e baixa robustez.



FIGURA 16 A - MODELO 2: MODELO DE CALIBRAÇÃO COM 9 VL PARA DETERMINAÇÃO DE CARBONO TOTAL NAS AMOSTRAS DE SOLO (23 AMOSTRAS) POR INFRAVERMELHO UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR

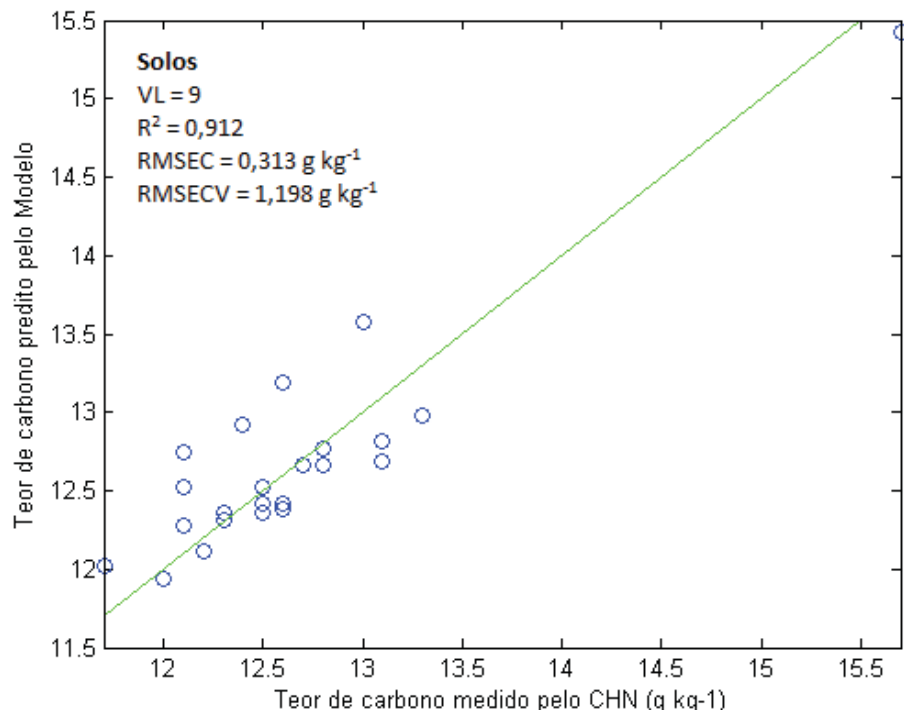
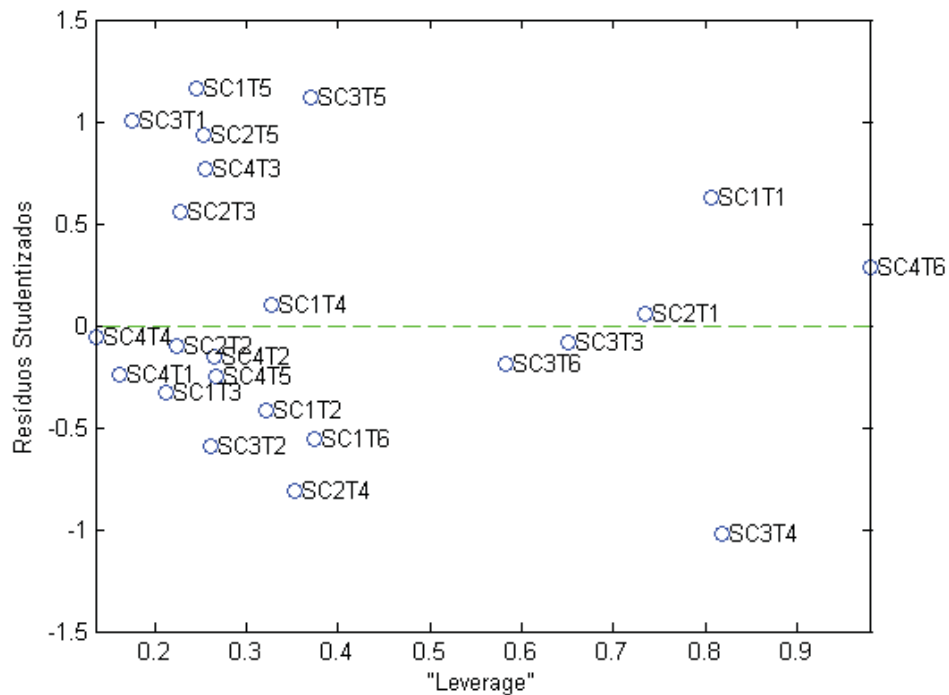


FIGURA 16 B - GRÁFICO DE *LEVERAGE* X RESÍDUOS STUDENTIZADOS DO MODELO 2



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: SC1: solo coleta 1, SC2: solo coleta 2, SC3: solo coleta 3, SC4: solo coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR.

Buscando um modelo mais robusto, a amostra identificada como *outlier* no Modelo 1 foi removida e os dados das amostras restantes submetidos a uma nova rotina de PLS no programa Matlab, onde foram obtidos os gráficos de variância acumulada e de RMSEC/RMSECV a seguir (FIGURA 17A-B).

FIGURA 17 A - PORCENTAGEM DE VARIÂNCIA CAPTURADA ACUMULADA EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE SOLO (22 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR

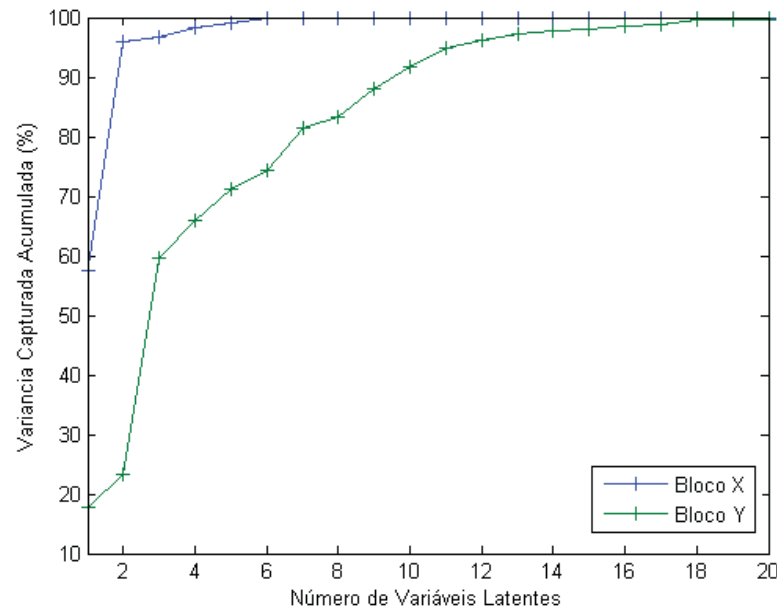
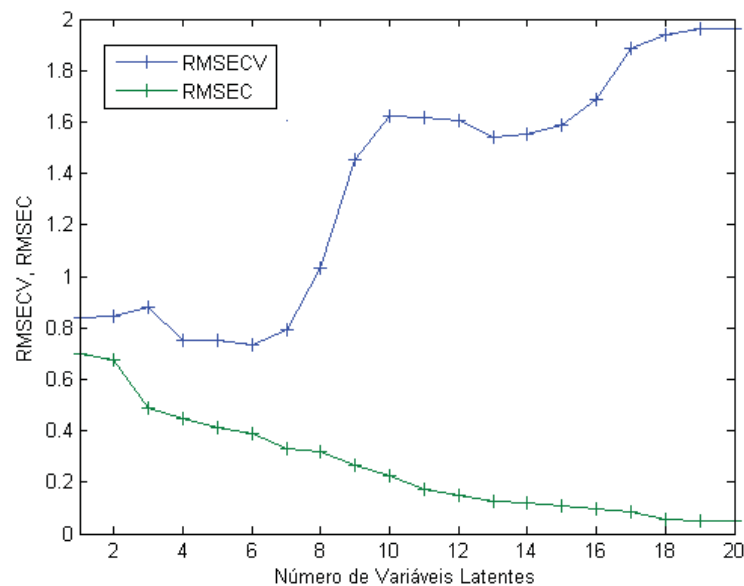


FIGURA 17 B - RMSEC E RMSECV EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE SOLO (22 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR



FONTE: O autor (2016).

Baseado na figura 17A-B e visando aplicar o menor número possível de variáveis latentes, o terceiro modelo foi desenvolvido empregando 4 VL. A

porcentagem de variância capturada no bloco x foi de 98,40 % e no bloco y de 66,03 %. Os valores de  $R^2 = 0,814$  e  $RMSEC = 0,449 \text{ g kg}^{-1}$  foram próximos aos do Modelo 1, no entanto, nota-se redução no valor de  $RMSECV$  de  $1,285 \text{ g kg}^{-1}$  (Modelo 1) para  $0,753 \text{ g kg}^{-1}$  (Modelo 2). Com relação à análise de *outliers*, nenhuma amostra do Modelo 3 apresentou valores acima de +2,5 ou abaixo de -2,5 para resíduo studentizado, tampouco, valor de *leverage* superior ao  $h_{lim}$  de 0,68, calculado com 4 VL e 22 amostras.

FIGURA 18 A - MODELO 3: MODELO DE CALIBRAÇÃO COM 4 VL PARA DETERMINAÇÃO DE CARBONO TOTAL NAS AMOSTRAS DE SOLO (22 AMOSTRAS) POR INFRAVERMELHO UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR

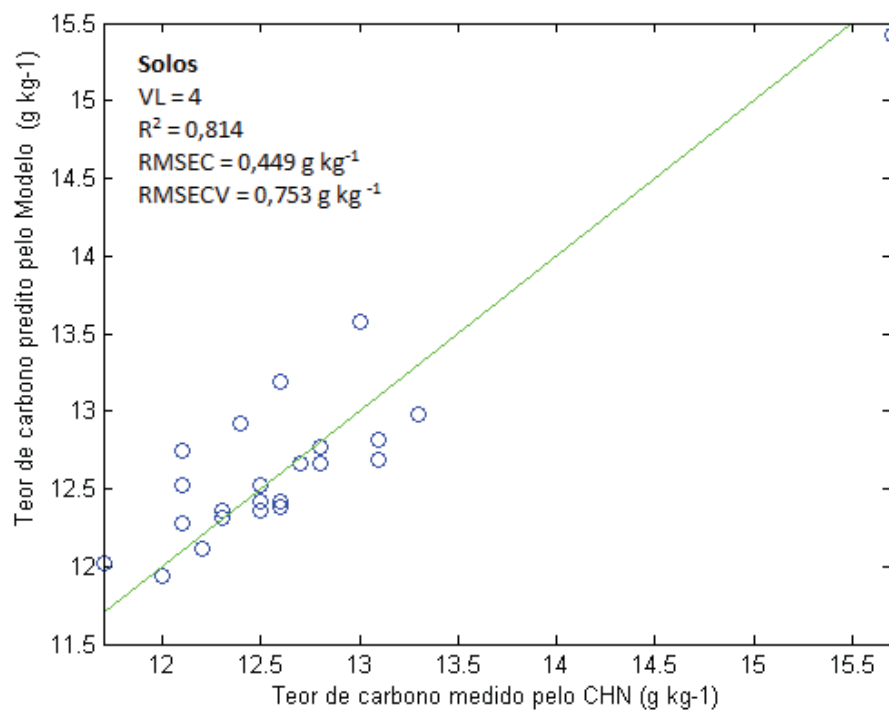
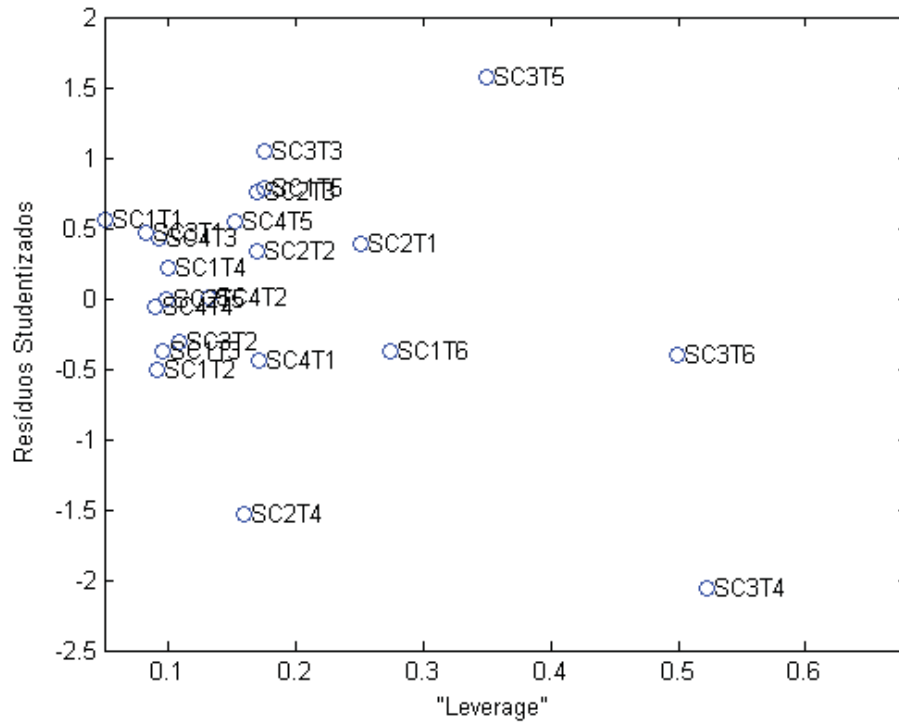


Figura 18 B - GRÁFICO DE *LEVERAGE* X RESÍDUOS STUDENTIZADOS DO MODELO 3



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: SC1: solo coleta 1, SC2: solo coleta 2, SC3: solo coleta 3, SC4: solo coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR.

Como mencionado no início desta seção, também foram testados modelos empregando como método de referência o carbono orgânico medido pelo método Walkley & Black. Para tanto, aplicou-se os mesmos métodos de pré-processamento dos dados utilizados anteriormente, visto que novamente se mostraram os mais adequados. Na sequência, foram adquiridos os gráficos de porcentagem de variância capturada acumulada e de RMSEC/RMSECV em função do número de variáveis latentes, os quais se encontram apresentados na Figura 19.

FIGURA 19 A – PORCENTAGEM DE VARIÂNCIA CAPTURADA ACUMULADA EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE SOLO (23 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE WALKLEY & BLACK

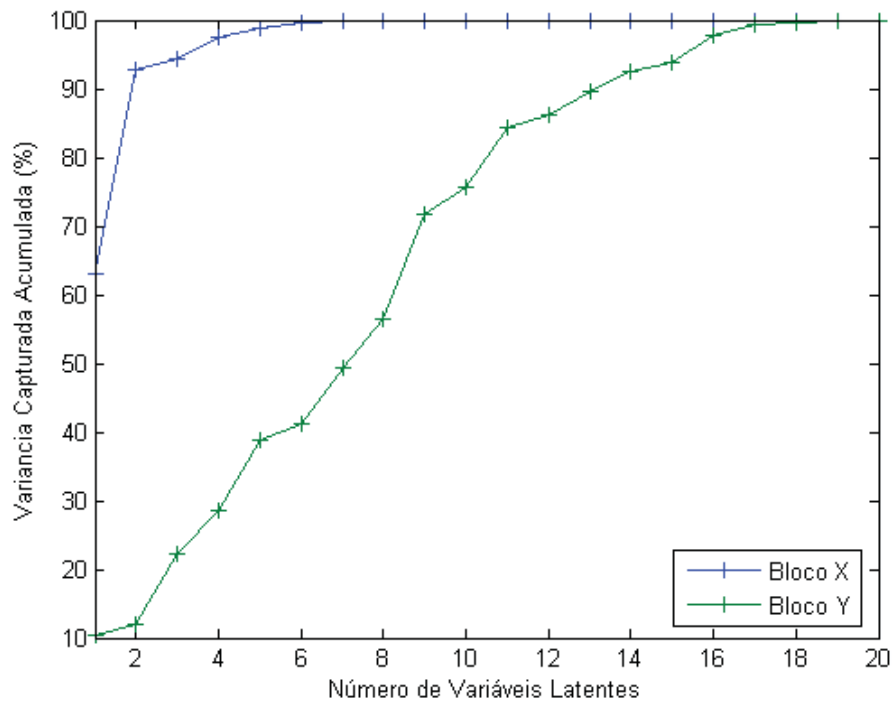
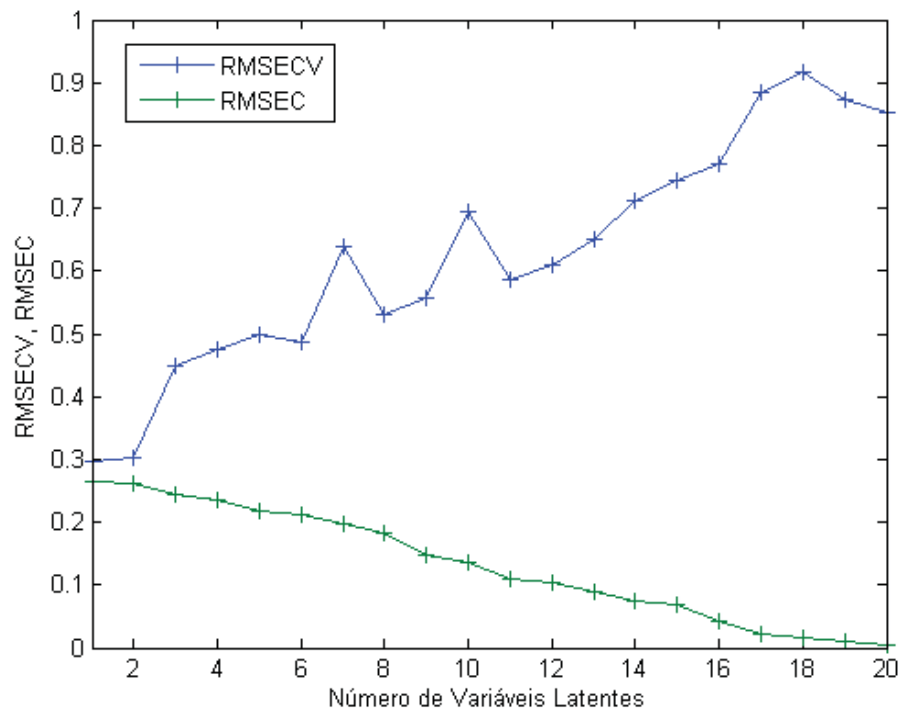


FIGURA 19 B - RMSEC E RMSECV EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE SOLO (23 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE WALKLEY & BLACK



FONTE: O autor (2016).

Utilizando os valores de carbono do Walkley & Black como referência a porcentagem de variância capturada no bloco  $y$  foi pouco significativa para número de variáveis latentes menor que 8 VL, sendo fixado este valor para o desenvolvimento do modelo 4. O coeficiente de determinação obtido foi de  $R^2 = 0,751$ , sendo este menor, portanto, que dos modelos anteriores. Apesar da menor correlação com os espectros de infravermelho, seus erros de calibração (RMSEC =  $0,183 \text{ g kg}^{-1}$ ) e validação cruzada (RMSECV =  $0,529 \text{ g kg}^{-1}$ ), foram inferiores aos dos Modelos 1, 2 e 3 .

FIGURA 20 A – MODELO 4: MODELO DE CALIBRAÇÃO COM 8 VL PARA DETERMINAÇÃO DE CARBONO ORGÂNICO NAS AMOSTRAS DE SOLO (23 AMOSTRAS) POR INFRAVERMELHO UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE WALKLEY & BLACK

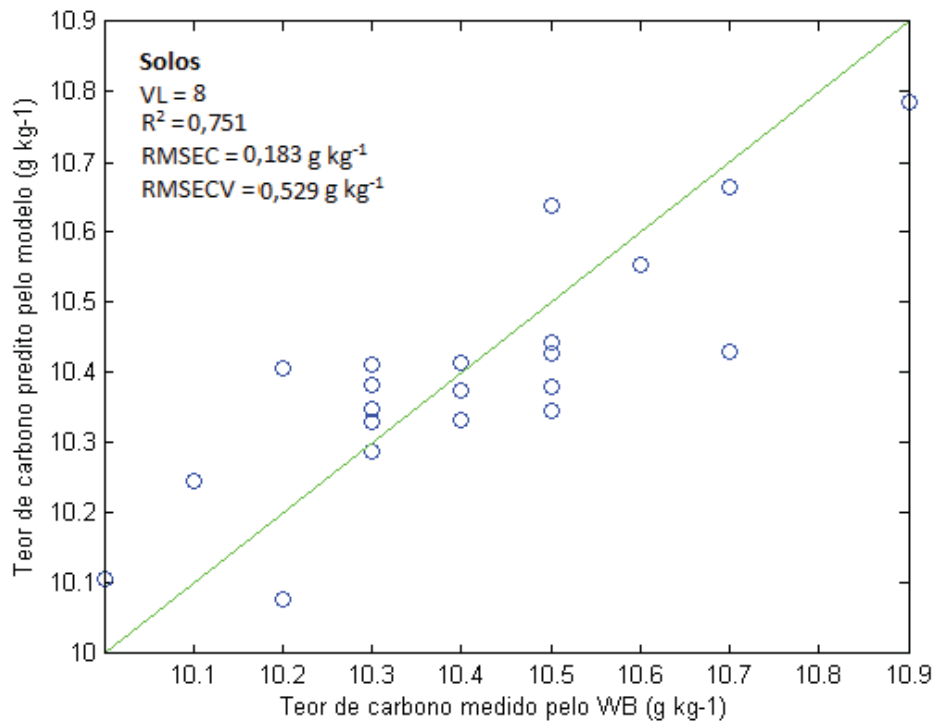
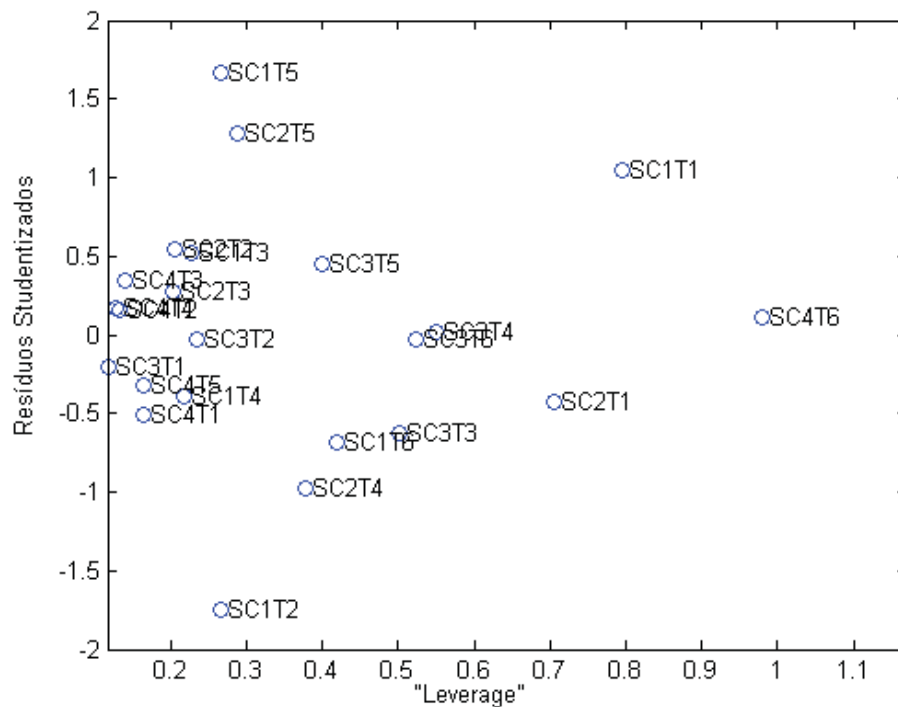


FIGURA 20 B - GRÁFICO DE *LEVERAGE* X RESÍDUOS STUDENTIZADOS DO MODELO 4

FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: SC1: solo coleta 1, SC2: solo coleta 2, SC3: solo coleta 3, SC4: solo coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR.

Em estudo realizado em solos de três regiões do oeste africano (116 amostras por região, sendo 58 amostras da profundidade 0-20 cm e 58 de 20-40 cm), McCarty e colaboradores (2010) obtiveram correlação superior à do presente estudo para determinação do teor de carbono por infravermelho, com  $R^2$  de 0,94 empregando como referência a análise elementar.

Sato e colaboradores (2013) fizeram uso da espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) para análise de solos do cerrado brasileiro. O modelo de calibração com base no WB ( $R^2 = 0,88$ ; RMSEC de  $2,85 \text{ g kg}^{-1}$  e RMSECV de  $3,70 \text{ g kg}^{-1}$ ) apresentou maior coeficiente de determinação e menores erros que o do CHN ( $R^2 = 0,87$ ; RMSEC de  $3,25 \text{ g kg}^{-1}$  e RMSECV de  $4,47 \text{ g kg}^{-1}$ ), o que foi justificado pela maior absorção de energia do infravermelho próximo pelos compostos orgânicos do solo, apresentando comportamento similar ao Walkley & Black, que determina o carbono orgânico.

Em estudo realizado com um número mais expressivo de amostras, 1014, coletadas aleatoriamente por todo o estado da Florida (Estados Unidos) e analisadas

por infravermelho médio e CHN Knox *et al.* (2015) obtiveram  $R^2$  de 0,96, RMSEC de 0,21 g kg<sup>-1</sup> e RMSECV de 0,25 g kg<sup>-1</sup> (KNOX *et al.*, 2015).

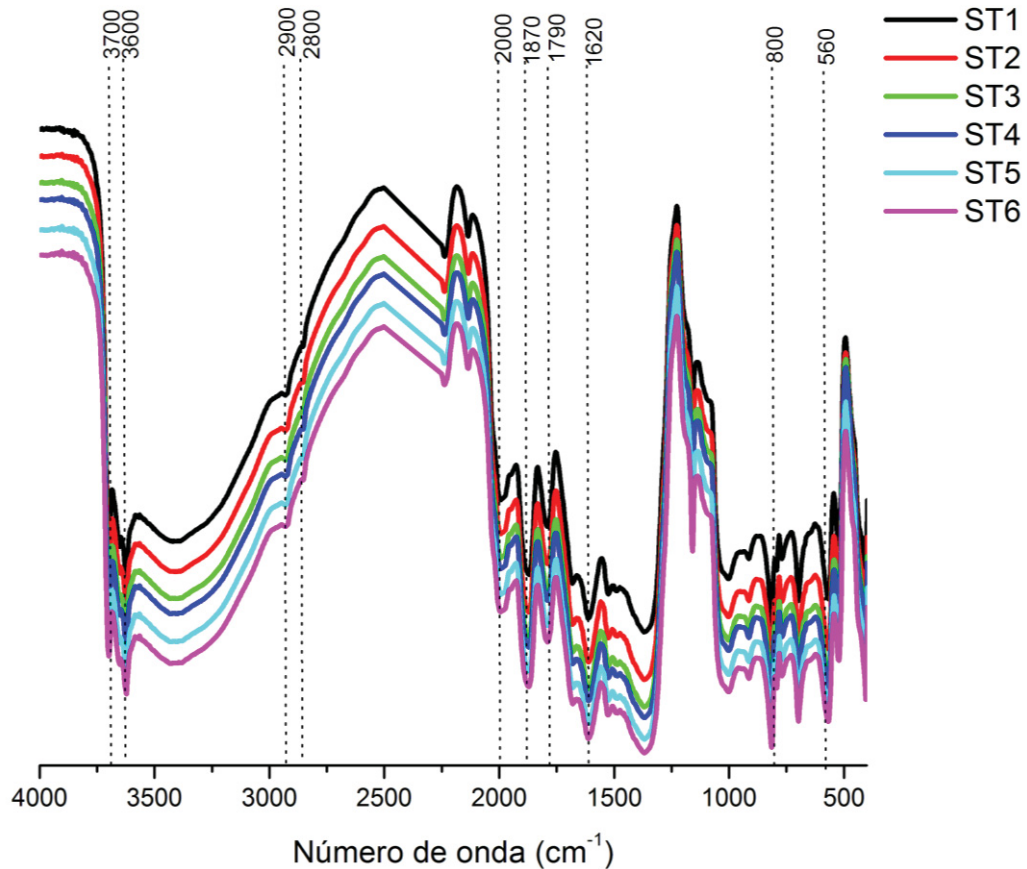
Mais recentemente, Rial, Cortizas e Rodríguez-Lado (2016) apresentaram um modelo para estimar e mapear o conteúdo de carbono orgânico em solo superficial da Galicia (Espanha). Os autores consideraram o modelo satisfatório ( $R^2 = 0,74$  e raiz quadrada do erro quadrático médio RMSE = 2.81 g kg<sup>-1</sup>) demonstrando que a espectroscopia de IV pode ser utilizada para substituir o Walkley & Black como forma de minimizar os custos e tempo de análise. O método PLS possibilitou, ainda, a explicação dos teores de carbono orgânico em função de fatores climáticos, uso da terra e geologia utilizando mapas ambientais como co-variáveis.

#### 4.1.3 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa (DRIFT)

Os espectros de DRIFT dos solos foram obtidos em triplicata. Na Figura 21 estão representados os espectros médios dos solos da 1<sup>o</sup> coleta. Em suma, os perfis dos espectros das amostras de todos tratamentos e coletas foram bastantes semelhantes entre si. Houve, no entanto, diferenças nas intensidades relativas de algumas bandas, que serão discutidas adiante na seção de análise de componentes principais (seção 4.1.3.1).



FIGURA 21 - ESPECTROS MÉDIOS DE DRIFT DOS SOLOS PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS (1ª COLETA)



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: ST1: apenas NPK, ST2: 750XR + NPK, ST3: 1500XR + NPK, ST4: 3000XR + NPK, ST5: sem adições e ST6: 1500XR.

De modo geral, os espectros dos solos de DRIFT dos solos apresentaram bandas na região de 3700 a 3380  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao estiramento  $\nu$  da ligação O-H de argilas e oxihidróxidos (FERRARESI *et al.*, 2012). As bandas finas entre 3700 e 3600  $\text{cm}^{-1}$  podem ser atribuídas à caulinita e a banda fraca centrada em 3380  $\text{cm}^{-1}$  à gibbsita (TERRA, 2011). Em 2900 e 2800  $\text{cm}^{-1}$  aparecem, respectivamente, bandas associadas aos estiramentos assimétrico e simétrico de C-H alifático (Matéria orgânica alifática) (MAO *et al.*, 2008). A presença de quartzo (Si-O) pode ser identificada pelas bandas em 2000, 1865 e 1780  $\text{cm}^{-1}$ , observadas nos solos e HU estando de acordo com os resultados obtidos por Cardoso (2013).

Bandas na região de 1700 – 1680  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas à  $\nu$  C=O de grupos COOH e, parcialmente, à  $\nu$  C=O de outros grupos (NOVOTNY, 2002). A absorção em 1620  $\text{cm}^{-1}$  é indicativa diversas vibrações como C=C de compostos aromáticos ou alifáticos insaturados, C=O de carboxilatos ou amida primária (FERRARESI *et al.*,

2012) e, ainda,  $\delta\text{OH}$  de água higroscópica (NOVOTNY, 2002). Outras bandas de silicatos podem ser evidenciadas nas regiões de 1100, 800 e 560  $\text{cm}^{-1}$  que correspondem, nesta ordem, a  $\nu\text{Si-O}$ ,  $\delta\text{O-H}$  de  $\text{SiAlO-H}$  e  $\delta\text{Si-O}$  (FERRARESI *et al.*, 2012).

#### 4.1.3.1 Análise de Componentes Principais dos espectros de Infravermelho

Tendo em vista o elevado volume de dados contidos nos espectros de infravermelho e o número relativamente alto de amostras analisadas (23 amostras de solo), a análise de componentes principais (PCA) se torna uma ferramenta bastante conveniente para realizar as devidas comparações entre estas. Sendo assim, realizou-se o PCA dos espectros de DRIFT (4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ ) médios (média das leituras em triplicata) e pré-processamentos dos dados (alisamento, centrado na média e normalização) no pacote PLS Toolbox versão 1.5 do programa MATLAB® v.7.1.

A primeira componente principal, PC1, recuperou 84,46 % da variância dos dados, separando, assim, as 1ª e 4ª coletas das 2ª e 3ª (FIGURA 22). A análise dos *loadings* da PC 1 (FIGURA 23) permite atribuir tal diferenciação às maiores intensidades: (I) da banda localizada em 1260  $\text{cm}^{-1}$  de grupos oxigenados provenientes da matéria orgânica e (II) da banda em 520  $\text{cm}^{-1}$  de  $\delta\text{Si-O}$  (silicatos). Ainda pela Figura 26, é possível verificar, por meio da comparação dos espectros das amostras de exemplo, uma da 4ª (AHC4T4) e uma da 2ª (AHC2T4) coleta, que as regiões espectrais de maior peso na PC 1, foram mais intensas nas amostras da 4ª coleta. Perfil, este, também exibido pelas amostras da 1ª coleta. Pela segunda componente principal, PC2 7,81 % da variância, foi possível diferenciar as amostras da 1ª e 4ª coletas entre si pelas vibrações de OH de argila e oxidróxidos (3900 e 3700  $\text{cm}^{-1}$ ).

FIGURA 22 – GRÁFICO DE SCORES DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PC1 VS. PC2) OBTIDOS A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DOS SOLOS

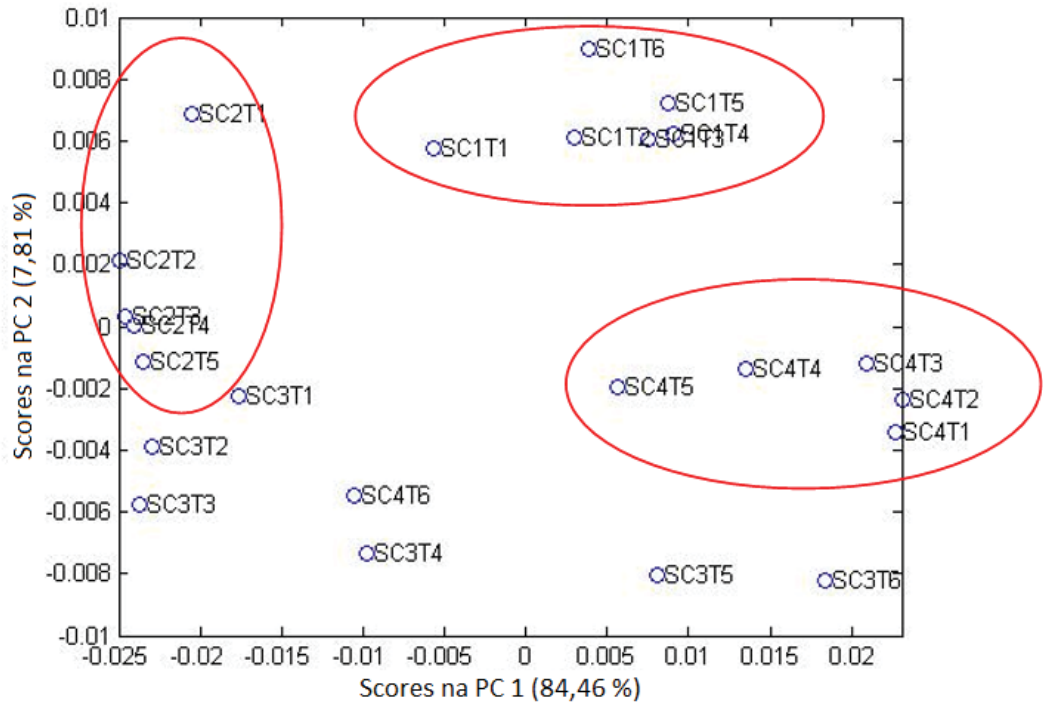
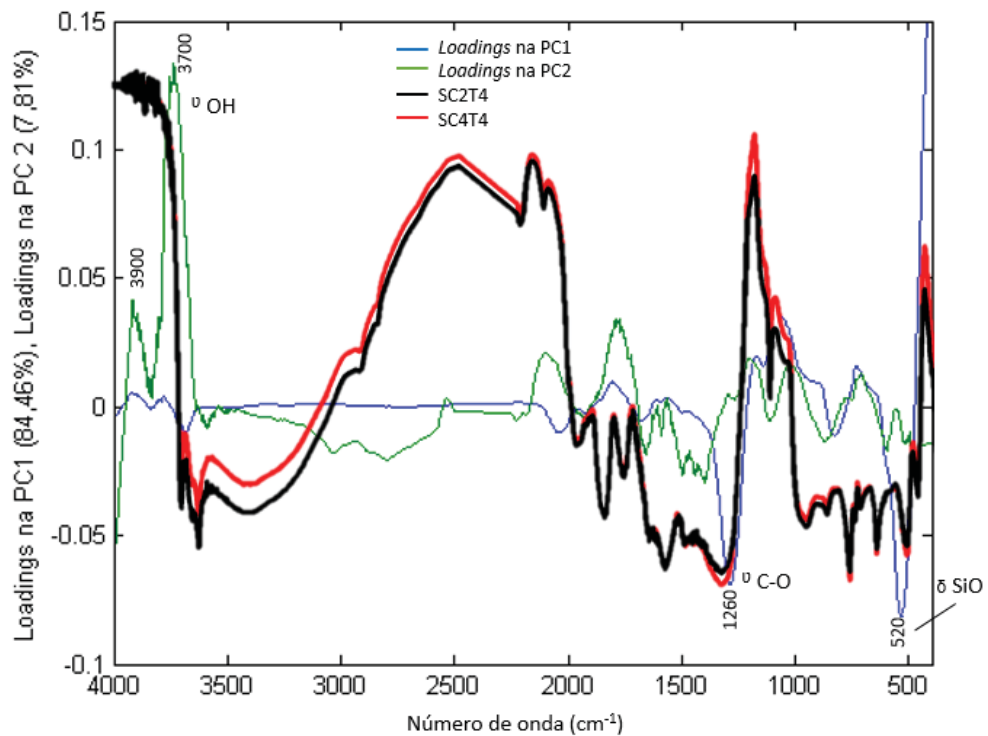


FIGURA 23 - GRÁFICOS DE *LOADINGS* DAS COMPONENTES PRINCIPAIS PC1 E PC2 OBTIDOS A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DOS SOLOS E ESPECTROS REPRESENTATIVOS DAS VARIAÇÕES (SC2T4 E SC4T4)



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: SC1: solo coleta 1, SC2: solo coleta 2, SC3: solo coleta 3, SC4: solo coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR.

#### 4.1.4 Conclusões parciais para os solos estudados

- O solo da testemunha absoluta (T5) pode ser considerado mais pobre em nutrientes que os demais. As outras testemunhas (T1 e T6) também apresentaram concentrações de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{K}^+$  menores que os solos que receberam adubação de base e XR indicando sinergia entre os dois tipos de aplicação no aumento da quantidade de cátions trocáveis;
- Com relação aos teores de carbono, estes estiveram de acordo com os valores esperados para a classe de solo estudada (Argissolo Vermelho Distrófico arênico) e não houveram variações significativas em decorrência dos tratamentos aplicados;
- A regressão linear entre os métodos Walkley & Black e análise elementar foi significativa com relação ao teste  $F$ , porém apresentou baixo coeficiente de correlação comparado a valores obtidos por outros autores;
- Os modelos 1, 2 e 3 de predição do teor de carbono nos solos por DRIFT utilizando a análise elementar como método de referência apresentaram maior coeficiente de determinação que o modelo 4, cujo método de referência foi o de Walkley & Black. No entanto, os erros de calibração e validação cruzada deste último foram menores devido às diferenças entre os teores de carbono orgânico das amostras medidos por Walkley & Black serem muito pequenas;
- Pela análise de componentes principais dos espectros de infravermelho foi possível verificar que as amostras de solo das 1ª e 4ª coletas apresentaram maior intensidade de bandas atribuídas à MO do solo que as amostras das 2ª e 3ª coletas, porém, não se observou diferença entre os tratamentos.

## 4.2 ESTUDOS DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

As análises apresentadas a seguir são referentes aos AH e HU extraídos pelo Método A.

### 4.2.1 Análise Termogravimétrica

As curvas de termodecomposição obtidas foram divididas em duas regiões, comumente avaliadas no estudo de ácidos húmicos: região 1, de 105 a 350 °C, que corresponde à degradação de estruturas alifáticas, grupos funcionais oxigenados e peptídeos (BENITES *et al.*, 2005), e, região 2, 350 a 650 °C, que indica a perda de estruturas aromáticas.

A razão da perda de massa entre a segunda e a primeira região é definida como índice termogravimétrico (TGI, do inglês *thermogravimetric index*), que representa a estabilidade térmica dos ácidos húmicos (BENITES *et al.*, 2005) (TABELA 10).

TABELA10 - ÍNDICE TERMOGRAVIMÉTRICO DOS ÁCIDOS HÚMICOS

AMOSTRA	ÍNDICE TERMOGRAVIMÉTRICO
AHC1T1	1,64
AHC1T4	1,43
AHC2T1	1,19
AHC2T4	1,44
AHC3T1	1,32
AHC3T4	1,22
AHC4T1	2,25
AHC4T2	1,60
AHC4T3	2,34
AHC4T4	2,41
AHC4T5	1,26
AHC4T6	1,05 ± 0,01

FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. C1: coleta 1, C2: solo coleta 2, C3: solo coleta 3, C4: solo coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR

Os valores de ITG da TABELA 10 estiveram acima de 1 devido à perda de massa na segunda região ter sido mais intensa que na primeira, o que indica maior recalcitrância química do material estudado (BENITES *et al.*, 2005; GIOVANELA *et*

*al.*, 2010). Perfis parecidos podem ser observados em AH derivados de materiais que contém grande quantidade de estruturas aromáticas, como hulha e lignina (LEINWEBER *et al.*, 1992; FERNANDES, 2007). De modo geral, os AH que apresentaram maior resistência à degradação térmica, devido à grande quantidade de anéis aromáticos em suas estruturas foram os da 4<sup>a</sup> coleta, seguidos pelos AH da 1<sup>a</sup> coleta, concordando, portanto, com os resultados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de DRIFT e EPR discutidos adiante.

Os resultados indicam também que a aplicação do XR no solo não parece influenciar significativamente as modificações da MO.

#### 4.2.2 Determinação de carbono nos AH

Na TABELA 11 são apresentados os percentuais de C, H e N determinados para algumas amostras de AH e as razões atômicas H/C e C/N.

TABELA11 - PERCENTUAL DE C, H E N NOS ÁCIDOS HÚMICOS E RAZOES ATÔMICAS H/C E C/N

AMOSTRA	% C	% H	% N	H/C	C/N
AHC2T1	48,38	1,76	2,98	0,44	18,94
AHC2T4	59,22	2,26	3,63	0,46	19,03
AHC3T1	52,21	2,10	3,17	0,48	19,21
AHC3T4	58,33	2,19	3,52	0,45	19,33
AHC4T1	62,52	2,06	3,59	0,39	20,32
AHC4T2	54,27	1,87	3,16	0,41	20,04
AHC4T3	74,92	2,37	4,19	0,38	20,86
AHC4T4	76,76	2,42	4,25	0,38	21,07
AHC4T5	30,74	1,24	1,91	0,48	18,78
AHC4T6	18,74	0,81	1,08	0,52	20,24
XR*	7,80 ± 0,12	0,51 ± 0,003	0,28 ± 0,01	0,78 ± 0,01	32,42 ± 0,67

FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. C1: coleta 1, C2: solo coleta 2, C3: solo coleta 3, C4: solo coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR

\* Análise realizada em triplicata

As porcentagens nos AH dos elementos acima mencionados variaram entre 18,74 e 76,76 % de C, entre 0,81 e 2,42 % de H e entre 1,08 e 4,25 % de N, sendo possível observar tendência de aumento nos teores dos três elementos devido á

presença do XR, visto que as amostras do tratamento T4 de todas as coletas apresentaram valores maiores que as do tratamento T1, e, também, nas porcentagens de C e N com relação à variação temporal das coletas, ou seja, quanto maior o período decorrido do início do experimento à coleta, maior a incorporação de C e N nos ácidos húmicos ( $C2 < C3 < C4$ ), o que pode ser relacionado com o acúmulo da adubação de base e XR.

A razão atômica H/C é considerado um parâmetro de aromaticidade dos AH. Quanto menor a razão, maior a quantidade de anéis aromáticos condensados. Ferri e colaboradores (2005) avaliaram AH de Argissolo Vermelho distrófico determinando valores que variaram entre 1,0 e 1,1 para razões H/C. No presente estudo a razão variou de 0,38 a 0,61, indicando AH mais aromáticos que os avaliados por Ferri e colaboradores. O XR e a testemunha de XR (AHC4T6) apresentaram os valores mais altos para a razão atômica H/C, indicando caráter mais alifático quando comparado as demais amostras.

A relação C/N é indicativa do grau de incorporação de nitrogênio na estrutura húmica e de estabilização MOS pelos microrganismos do solo (SANCHES *et al.*, 2007). AH de solos bem desenvolvidos normalmente apresentam relações C/N baixas, entre 10 e 15 (TAN, 2014). Um bom exemplo são AH de solos tropicais, como os da região amazônica que em estudo realizado por Cunha e colaboradores (2007) apresentaram valores entre 8,8 e 12,6. Em contrapartida, no presente estudo foram encontrados valores altos, entre 18,78 (AHC4T5) e 21,07 (AHC4T4B), indicando que os AH deste solo apresentam baixa incorporação de N oriundos da decomposição de proteínas e polipeptídios

Razões acima de 20 podem indicar que o processo foi menos favorecido pela atividade microbiana (SANCHES *et al.*, 2007). Verificou-se que a alta razão C/N do XR ( $32,42 \pm 0,67$ ) resultou no aumento da razão C/N dos AH dos solos em que o subproduto foi incorporado. As amostras que receberam apenas adubação de base (testemunhas de adubação, T1) ou XR (testemunhas de XR, T6) apresentaram razões C/N menores que as amostras que receberam os dois tipos de aplicações (com exceção da amostra AHC4T2) o que caracteriza mais um indício de um efeito sinérgico da adubação com NPK e XR, como verificado nas análises químicas do solo da 1ª coleta.

Finalmente, pode-se inferir que baixos valores de razão H/C e altas relações C/N indicam que os AH estudados apresentam alto grau de aromaticidade e baixos teores de grupos funcionais contendo N.

#### 4.2.2.1 Predição do teor de C nos AH por Espectroscopia de Infravermelho

Para os AH utilizou-se como método de referência o teor de carbono total obtido por análise elementar ( $C_{CHN}$ ). A obtenção e pré-processamento dos espectros de AH (centrar na média, alisamento e normalização), bem como, os critérios adotados para construção do modelo seguiram os mesmo procedimentos descritos para os modelos realizados com as amostras de solo. Desta maneira, foram gerados os seguintes gráficos de variância capturada e RMSEC/RMSEVC para a seleção do número de variáveis latentes (FIGURA 24 A-B).

FIGURA 24 A – PORCENTAGEM DE VARIÂNCIA CAPTURADA ACUMULADA EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE AH (16 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR

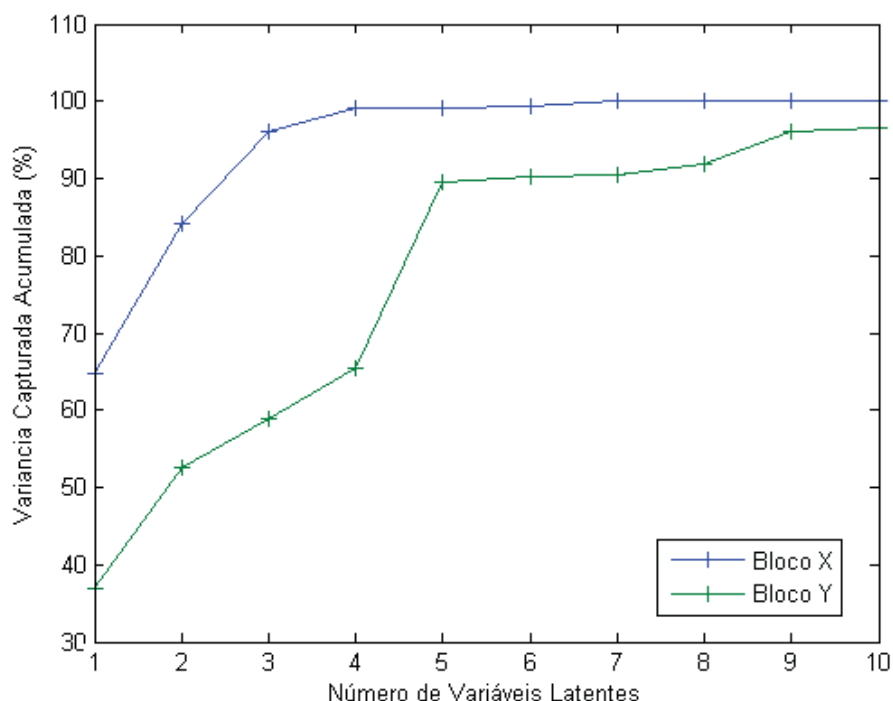
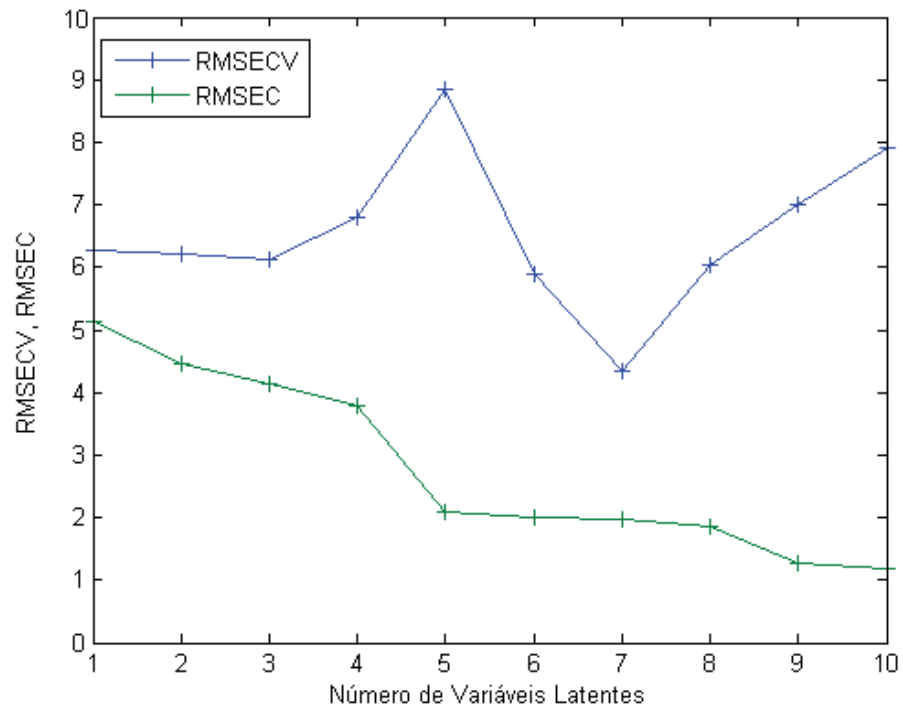




FIGURA 24 B – RMSEC E RMSECV EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES DAS AMOSTRAS DE AH (16 AMOSTRAS) UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR



FONTE: O autor (2016)

De modo a aplicar o menor número de variáveis latentes capaz de gerar um modelo que exprima boa correlação entre o infravermelho e a análise elementar, foram empregadas, inicialmente 3 VL Neste ponto, a variância capturada foi de 96,09 % no bloco X e 58,89 % no bloco Y, gerando um modelo com coeficiente de determinação  $R^2 = 0,769$ . Os erros de calibração e de validação cruzada foram, respectivamente, 4,13 e 6,13 g kg<sup>-1</sup> e nenhuma amostra foi identificada como anômala, pois se enquadraram dentro dos limites estabelecidos para os resíduos studentizados ( $\pm 2,5$ , com 95 % de confiança) apresentaram valor de *leverage* menor que o valor máximo para este modelo ( $h_{lim} = 0,75$ , utilizando 3 VL e 16 amostras).

FIGURA 25 A - MODELO 5: MODELO DE CALIBRAÇÃO COM 3 VL PARA DETERMINAÇÃO DE CARBONO TOTAL NAS AMOSTRAS DE AH (16 AMOSTRAS) POR INFRAVERMELHO UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR

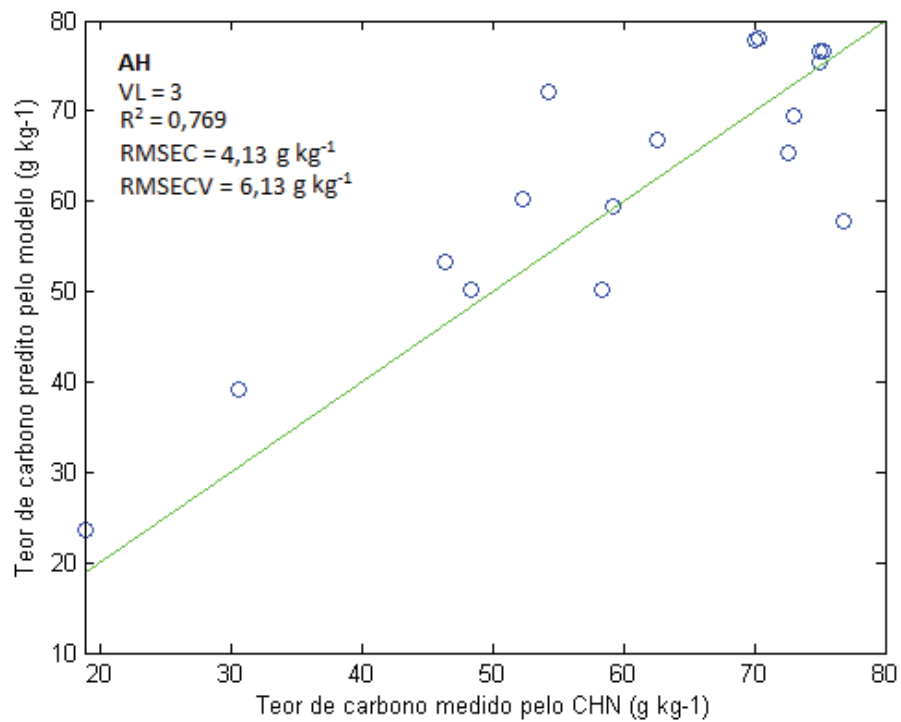
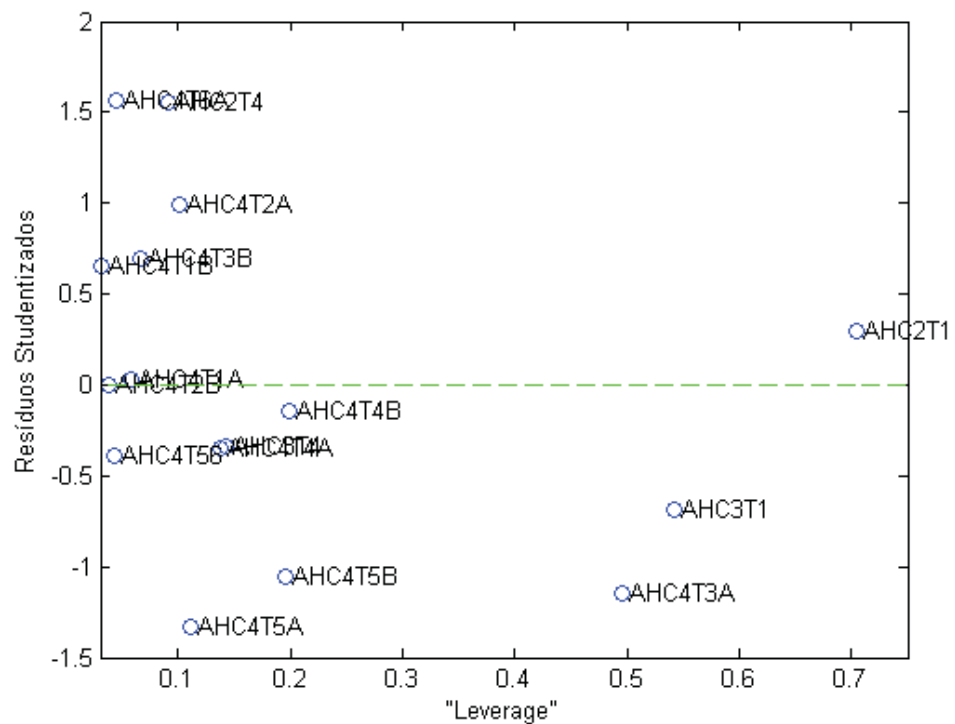


FIGURA 25 B - GRÁFICO DE *LEVERAGE* X RESÍDUOS STUDENTIZADOS DO MODELO 5



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. C1: coleta 1, C2: solo coleta 2, C3: solo coleta 3, C4: solo coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR

Foi construído, também, um modelo com 7 VL, devido ao menor valor de RMSECV neste ponto e significativo aumento do  $R^2 = 0,952$ . Assim como no modelo anterior, nenhuma amostra foi considerada anômala, no entanto, houve aumento no leverage de algumas amostras e, conseqüentemente, distanciamento do valor central.

FIGURA 26 A - MODELO 6: MODELO DE CALIBRAÇÃO COM 7 VL PARA DETERMINAÇÃO DE CARBONO TOTAL NAS AMOSTRAS DE AH (16 AMOSTRAS) POR INFRAVERMELHO UTILIZANDO O MÉTODO DE REFERÊNCIA DE ANÁLISE ELEMENTAR

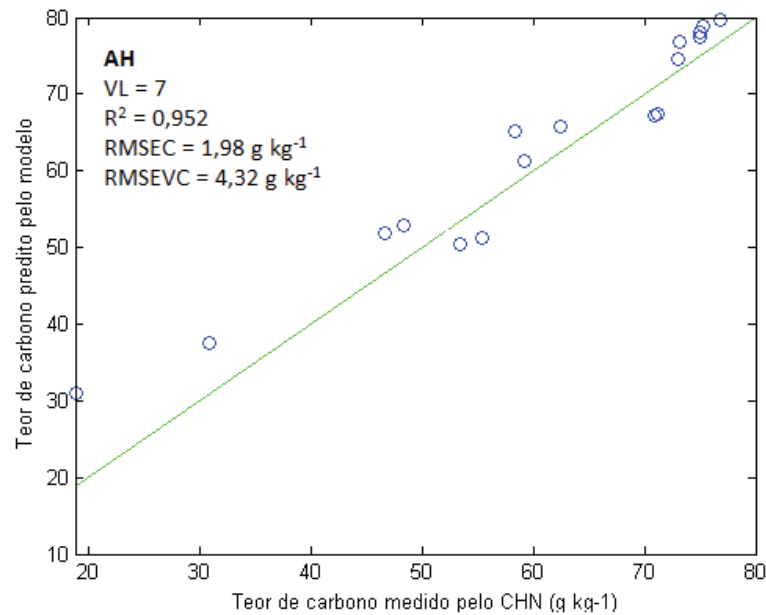
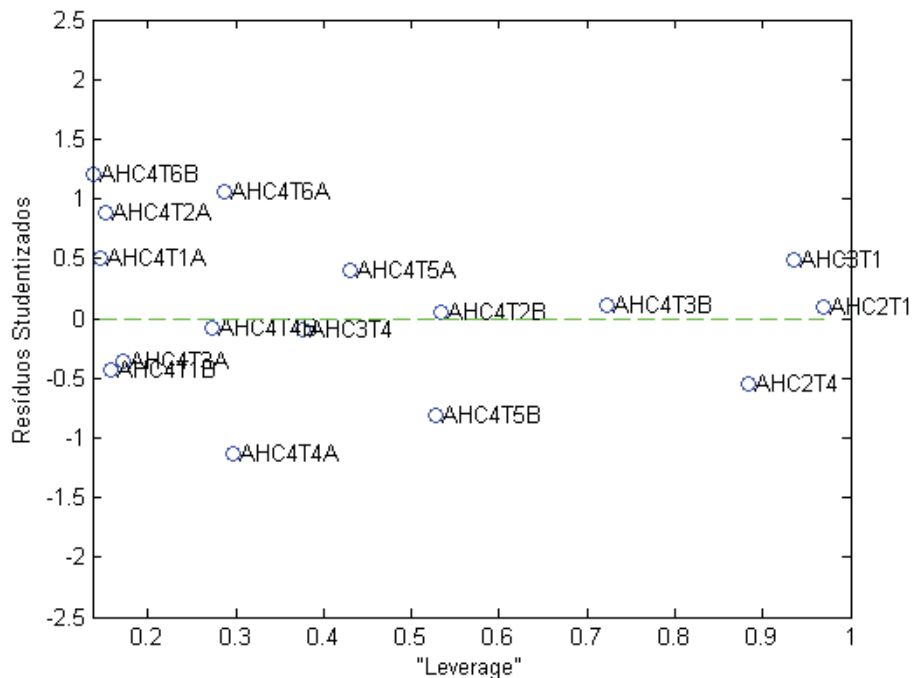


FIGURA 26 B – GRÁFICO DE LEVERAGE X RESÍDUOS STUDENTIZADOS DO MODELO 6



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. C1: coleta 1, C2: solo coleta 2, C3: solo coleta 3, C4: solo coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR

De modo geral, os modelos de calibração realizados com as amostras de AH apresentaram melhor correlação entre o método de referência e o infravermelho frente aos modelos apresentados anteriormente para as amostras de solo (seção 4.1.2). Este fato pode ser justificado pela alta concentração de carbono nos AH comparados aos solos, que proporciona uma maior relação sinal/ruído dos espectros. Além disso, os AH são matrizes com menores interferências químicas, como compostos inorgânicos, presentes em quantidades muito mais elevadas nos solos, ainda que a região espectral entre 1000 e 400  $\text{cm}^{-1}$  tenha sido removida do conjunto de dados.

Não foi possível estabelecer comparações com outros estudos uma vez que não foram encontrados modelos de predição do teor de carbono em AH na literatura consultada (pesquisa realizada no *science direct* utilizando as palavras chave “humic acid”, “partial least square” e “carbon”).

#### 4.2.3 Métodos Espectroscópicos

##### 4.2.3.1 Espectroscopia no UV-Vis por Reflectância Difusa - DRUV-VIS

A espectroscopia na região UV-Vis foi utilizada para cálculo da razão  $E_4/E_6$ , parâmetro de aromaticidade amplamente adotado nos estudos das SH que indica a proporção entre cadeias alifáticas,  $E_4$  (absorbância a 465 nm), e aromáticas,  $E_6$  (absorbância a 665 nm). Deste modo, o decréscimo da razão  $E_4/E_6$  implica em maior aromaticidade e maiores pesos moleculares e grau de condensação (MARTIN-NETO e SAAB, 2007; PIMENTA *et al.*, 2009). A TABELA 12 apresenta os valores médios da razão  $E_4/E_6$  para as amostras de AH e HU.

TABELA12 - RAZÕES  $E_4/E_6$  PARA AS AMOSTRAS DE AH E HU DAS 1ª, 2ª, 3ª E 4ª COLETAS E DOS TRATAMENTOS T1, T2, T3, T4, T5 E T6

TRATAMENTO	AH				Média dos Tratamentos
	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	4ª coleta	
AHT1	1,41 ± 0,07	1,19 ± 0,03	1,31 ± 0,05	1,32 ± 0,01	1,31
AHT2	1,33 ± 0,03	1,31 ± 0,01	1,41 ± 0,08	1,30 ± 0,01	1,34
AHT3	1,30 ± 0,07	1,41 ± 0,01	1,52 ± 0,01	1,77 ± 0,01	1,50

(continua)

(conclusão)

TRATAMENTO	AH				Média dos Tratamentos
	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	4ª coleta	
AHT4	1,30 ± 0,01	1,19 ± 0,03	1,56 ± 0,08	1,46 ± 0,04	1,38
AHT5	2,11 ± 0,13	1,04 ± 0,04	1,53 ± 0,07	1,34 ± 0,03	1,46
AHT6	0,96 ± 0,05	*	1,52 ± 0,02	1,16 ± 0,04	1,12
Média das Coletas	1,40	1,23	1,40	1,39	
HU					
HUT1	4,67 ± 0,06	4,65 ± 0,04	3,75 ± 0,01	6,06 ± 0,01	4,78
HUT2	5,29 ± 0,05	5,17 ± 0,05	3,26 ± 0,01	5,56 ± 0,02	4,82
HUT3	6,13 ± 0,08	4,71 ± 0,01	4,32 ± 0,07	6,41 ± 0,01	5,39
HUT4	5,37 ± 0,03	4,79 ± 0,05	4,26 ± 0,02	6,54 ± 0,01	5,24
HUT5	5,85 ± 0,01	4,57 ± 0,09	4,36 ± 0,01	6,76 ± 0,01	5,38
HUT6	5,67 ± 0,04	*	4,70 ± 0,01	6,68 ± 0,01	5,68
Média das Coletas	5,50	4,78	4,11	6,34	

FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. HU: húmica. C1: coleta 1, C2: solo coleta 2, C3: solo coleta 3, C4: solo coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR. \* valor não determinado

As razões  $E_4/E_6$  variaram entre 0,96 e 2,11 para as amostras de AH e entre 3,26 e 6,79 para as HU. Sugere-se que o valor para as HU seja maior devido à alta contribuição das reflexões da matriz argilomineral e complexos de íons metálicos nestas amostras em 650 nm (OLENDZKI, 2006).

Os valores obtidos para os AH são semelhantes a resultados encontrados na literatura para amostras no estado sólido. Santos (2009) estudou os ácidos húmicos de solos de área recuperada após a mineração de Xisto e obteve razões entre 1,14 e 2,26. Outros estudos, com diferentes tipos de AH, relatam valores na mesma faixa (OLENDZKI, 2006; FERREIRA, 2008; BLUM, 2010).

Aplicando o teste  $F$  (95 % de confiança), a partir da ANOVA, não se observou variações significativas nas razões  $E_4/E_6$  das amostras de AH, nem em relação às coletas, nem em relação aos tratamentos. Para as amostras de HU, também não houve diferenças significativas entre os seis tratamentos, porém, entre as coletas ocorreram as seguintes diferenças, identificadas pelo teste DMS (Diferença mínima significativa):  $C1 \neq C3$ ,  $C4 \neq C2$  e  $C4 \neq C3$ .

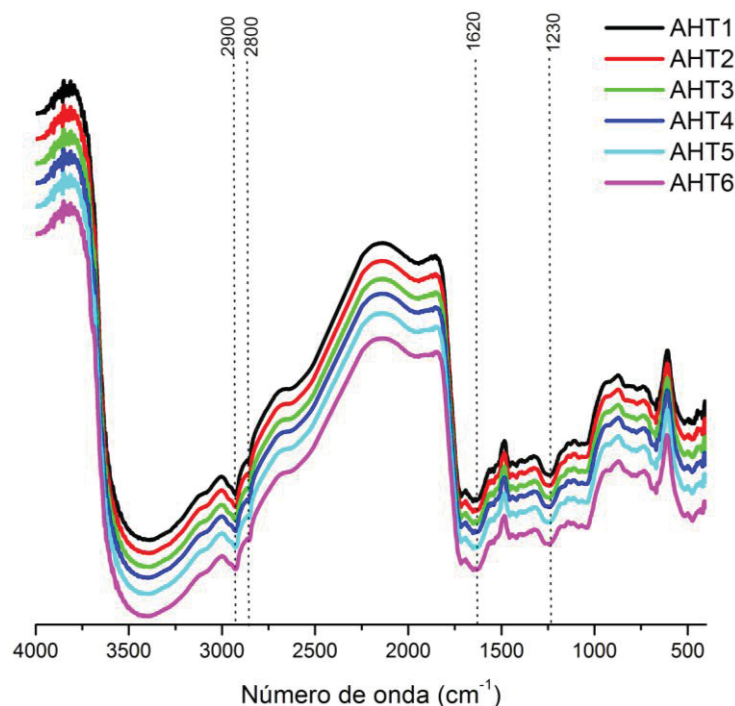
Como visto, nas amostras de HU houve decréscimo da razão  $E_4/E_6$  nas 2ª e 3ª coletas, indicando que estas apresentam maior massa molar, condensação entre carbonos aromáticos e menor quantidade de grupos alifáticos. Esta observação

contradiz os resultados obtidos por espectroscopia de infravermelho e de ressonância paramagnética eletrônica (apresentados adiante), que mostram que a matéria orgânica destas coletas foi menos aromática que das demais, o que pode ser explicado pela interferência dos minerais na medida de absorbância em 650 nm. É importante ressaltar, porém, que o uso de tal coeficiente óptico como medida de características estruturais de sistemas orgânicos complexos é limitado (CANELLAS *et al.*, 2000), sendo que outros estudos também relatam resultados contraditórios e sugerem que este seja correlacionado com parâmetros espectroscópicos mais precisos, como o teor de spin  $g^{-1}$  por EPR (COLNAGO *et al.*, 1997; SANTOS, 2006; NARIMOTO, 2006).

#### 4.2.3.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa (DRIFT)

Nas Figuras 27 e 28 estão apresentados os perfis dos espectros médios de DRIFT dos AH e HU representados pelas amostras extraídas de solos da 1ª coleta.

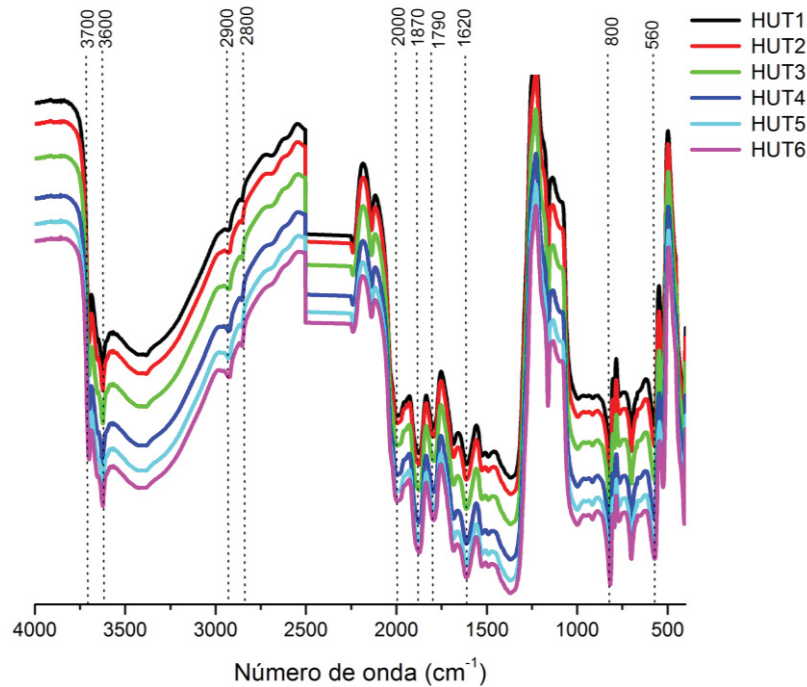
FIGURA 27 - ESPECTROS MÉDIOS DE DRIFT DOS AH PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS (1ª COLETA)



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: HU: humina. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR

FIGURA 28 – ESPECTROS MÉDIOS DE DRIFT DAS HU PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS (1ª COLETA)



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: HU: humina. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR

Tanto nos AH quanto nas HU podem ser observadas em 2900 e 2800  $\text{cm}^{-1}$  bandas relativas aos estiramentos de C-H alifático (MAO *et al.*, 2008) e bandas características da MO mais humificada, tais como: 1700 – 1680  $\text{cm}^{-1}$ , atribuída, principalmente, a  $\nu$  C=O de grupos COOH (FERRARI *et al.*, 2011; NOVOTNY, 2002) e 1620  $\text{cm}^{-1}$ , indicativa de  $\nu$  C=C de compostos aromáticos ou alifáticos insaturados,  $\nu$  C=O de carboxilatos ou amida primária (NUZZO *et al.*, 2013; FERRARESI *et al.*, 2012; FERRARI *et al.*, 2011) e, também,  $\delta$ OH de água higroscópica (NOVOTNY, 2002).

Os espectros da HU são semelhantes aos de solos e, conseqüentemente, apresentaram diversas bandas associadas a estruturas inorgânicas, como as regiões de 3700 a 3380  $\text{cm}^{-1}$  (grupos O-H de argilas e oxihidróxidos), 1100 e 1030  $\text{cm}^{-1}$  (Si-O e C-O de carboidratos, respectivamente), 800 a 750  $\text{cm}^{-1}$  (Si-O-Al e Si-O-Fe) e 527  $\text{cm}^{-1}$  (Si-O-Al), além de três bandas características de quartzo (Si-O) que podem ser vistas em 2000, 1870 e 1790  $\text{cm}^{-1}$  (FERRARESI *et al.*, 2012; WILSON, 1994).

Nas amostras de AH, em 1230  $\text{cm}^{-1}$ , são detectados sinais de  $\nu$  C-O e  $\delta$ O-H de ácidos carboxílicos e  $\nu$ C-O de éter aromático e em 1030  $\text{cm}^{-1}$   $\nu$  C-O de

polissacarídeos (FERRARI *et al.*, 2011) ou  $\nu$  Si-O (FERRARESI *et al.*, 2012; MAO *et al.*, 2008).

Para os AH, a região do espectro de infravermelho indicativa de matéria orgânica foi melhor explorada pelo cálculo do índice de aromaticidade, IA (TABELA 13). Tal índice é obtido pela razão entre a soma das bandas indicativas de estruturas aromáticas dividida pela soma das bandas de estruturas alifáticas.

TABELA13 - ÍNDICE DE AROMATICIDADE PARA AS AMOSTRAS DE AH DAS 1ª, 2ª, 3ª E 4ª COLETAS E DOS TRATAMENTOS T1 A T6

Tratamento	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	4ª coleta	Média dos Tratamentos
AHT1	0,6144 ± 0,0006	0,6104 ± 0,0004	0,6029 ± 0,0009	0,6143 ± 0,0008	0,6105
AHT2	0,6094 ± 0,0001	0,6098 ± 0,0003	0,6062 ± 0,0006	0,6105 ± 0,0005	0,6089
AHT3	0,6097 ± 0,0003	0,6080 ± 0,0002	0,6074 ± 0,0001	0,6098 ± 0,0006	0,6087
AHT4	0,6109 ± 0,0001	0,6081 ± 0,0008	0,6066 ± 0,0006	0,6112 ± 0,0005	0,6092
AHT5	0,6090 ± 0,0004	0,6097 ± 0,0002	0,6082 ± 0,0007	0,6118 ± 0,0004	0,6096
AHT6	0,6095 ± 0,0003		0,6059 ± 0,0004	0,6143 ± 0,0008	0,6099
Média das Coletas	0,6105	0,6092	0,6062	0,6119	

FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR.

Como visto na tabela 13 os valores de IA variaram entre 0,60 e 0,61. Estes, são menores que os valores observados por Cunha *et al.* (2007) para ácidos húmicos de fontes comerciais (entre 0,84 e 0,94). Pode-se verificar, ainda, que nas amostras da 4ª coleta os índices foram relativamente mais elevados que das coletas anteriores, sugerindo que estas amostras apresentam maior aromaticidade. Pelo teste de DMS observou-se diferença significativa entre as coletas C4 e C3. Não houve diferença entre os tratamentos aplicados considerando intervalo de confiança de 95 %.

Cardoso (2013) analisou AH extraídos de solos de diferentes regiões condicionados com baixas doses de XR. Os IA variaram entre 0,52 e 0,73 e foi evidenciada uma tendência de aumento da aromaticidade decorrente das adições de XR.

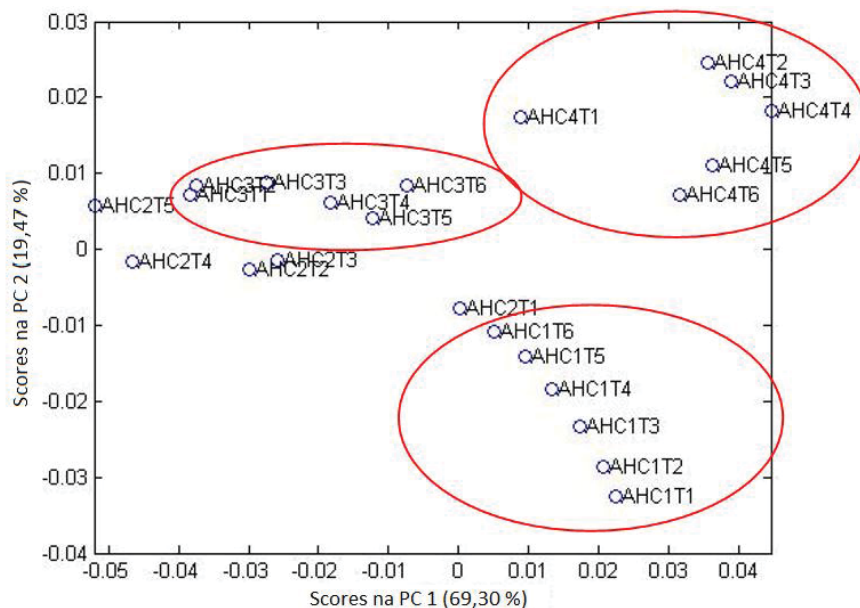


#### 4.2.3.2.1 Análise de Componentes Principais dos Espectros de Infravermelho

A análise de componentes principais foi empregada aos espectros de DRIFT das amostras de AH e HU seguindo a mesma metodologia aplicada ao PCA dos solos. Basicamente, assim como nas amostras de solos, também nos AH e HU foi observado que os *scores* das amostras da 1ª coleta foram mais próximos aos da 4ª, indicando que estas foram similares entre si, enquanto que os da 2ª coleta foram mais próximos aos da 3ª.

No PCA dos AH (FIGURA 29) a primeira componente principal, PC1, capturou 69,3 % da variância dos dados. Pela análise dos *loadings* (FIGURA 30) foi verificado que nesta PC as regiões dos espectros responsáveis pela diferenciação entre as amostras foram:  $3700\text{ cm}^{-1}$  (OH de argilas e oxidróxidos),  $1100\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{C-O}$  de polissacarídeos e  $\nu\text{Si-O}$ ) e  $476\text{ cm}^{-1}$  ( $\delta\text{Si-O}$ ) cujas maiores intensidades foram observadas nas amostras da 1ª e 4ª coleta, representadas na Figura 32 pelo espectro da amostra AHC4T4; Também foi possível observar a separação entre a 1ª e 4ª coleta pela segunda componente principal (PC2 19,4 % da variância) devido às vibrações de silicatos:  $750\text{ cm}^{-1}$  ( $\delta\text{OH}$ ),  $624\text{ cm}^{-1}$  ( $\delta\text{Si-O}$ ), mais intensas nas amostras da 4ª coleta.

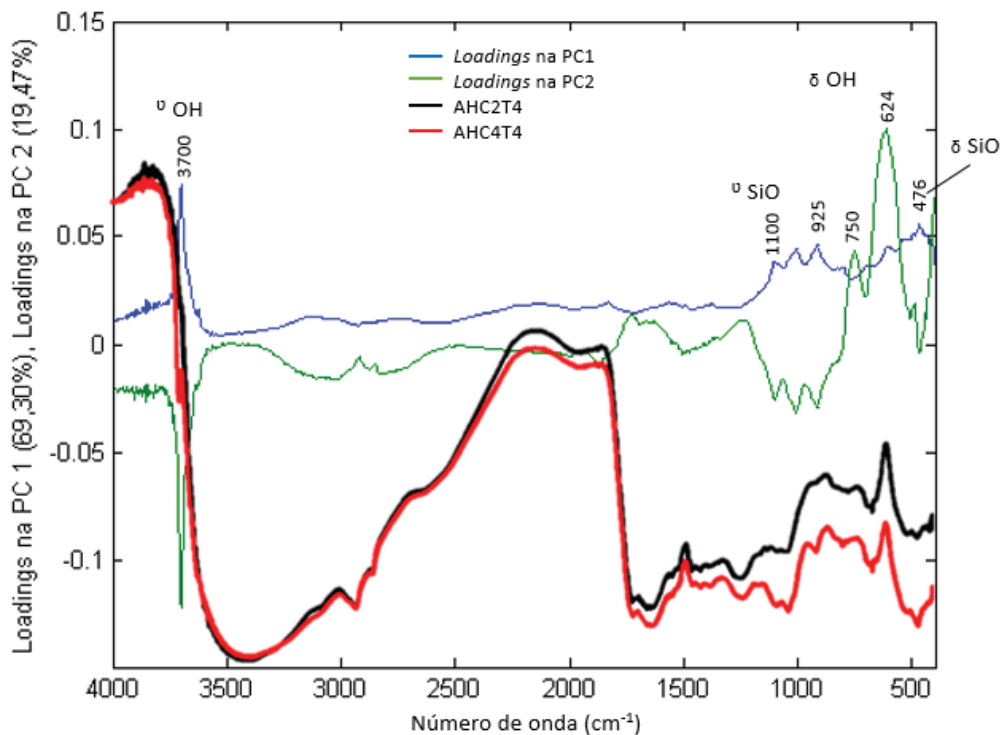
FIGURA 29 - GRÁFICO DE SCORES DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PC1 VS. PC2) OBTIDOS A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DOS ÁCIDOS HÚMICOS.



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. C1: coleta 1, C2: coleta 2, C3: coleta 3, C4: coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR

FIGURA 30 - GRÁFICOS DE *LOADINGS* DAS COMPONENTES PRINCIPAIS PC1 E PC2 OBTIDOS A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DOS AH E ESPECTROS REPRESENTATIVOS DAS VARIAÇÕES (AHC2T4 E AHC4T4)

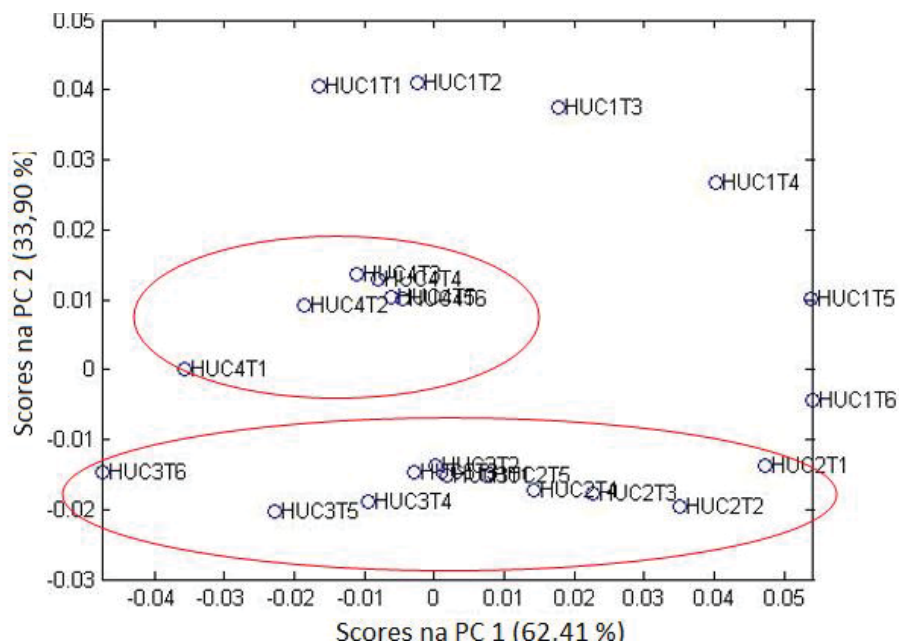


FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. C2: coleta 2, C4: coleta 4 T4: 3000XR + NPK.

No que se refere às huminas a PC2 (33,9 % da variância total) diferenciou a 1ª e 4ª coletas (quadrante positivo) da 2ª e 3ª (quadrante negativo), com exceção de uma amostra (HUC1T6) (FIGURA 31). As regiões espectrais de maiores carregamentos foram: 3700  $\text{cm}^{-1}$  (OH de argilas e oxidróxidos), 2900-2800  $\text{cm}^{-1}$  (C-H alifático), estas típicas de uma matéria orgânica menos humificada e mais intensas nas 2ª e 3ª coletas, além das regiões em 1.630  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu\text{C}=\text{C}$  de aromáticos e  $\nu\text{C}=\text{O}$  de amida I e carboxilatos), 1260-1100  $\text{cm}^{-1}$  ( $\delta\text{O}-\text{H}$  de ácidos carboxílicos,  $\nu\text{C}-\text{O}$  de éter aromático e polissacarídeos ou  $\nu\text{Si}-\text{O}$ ), 550-476  $\text{cm}^{-1}$  ( $\delta\text{Si}-\text{O}$ ). As demais componentes não diferenciaram as amostras (FIGURA 32).

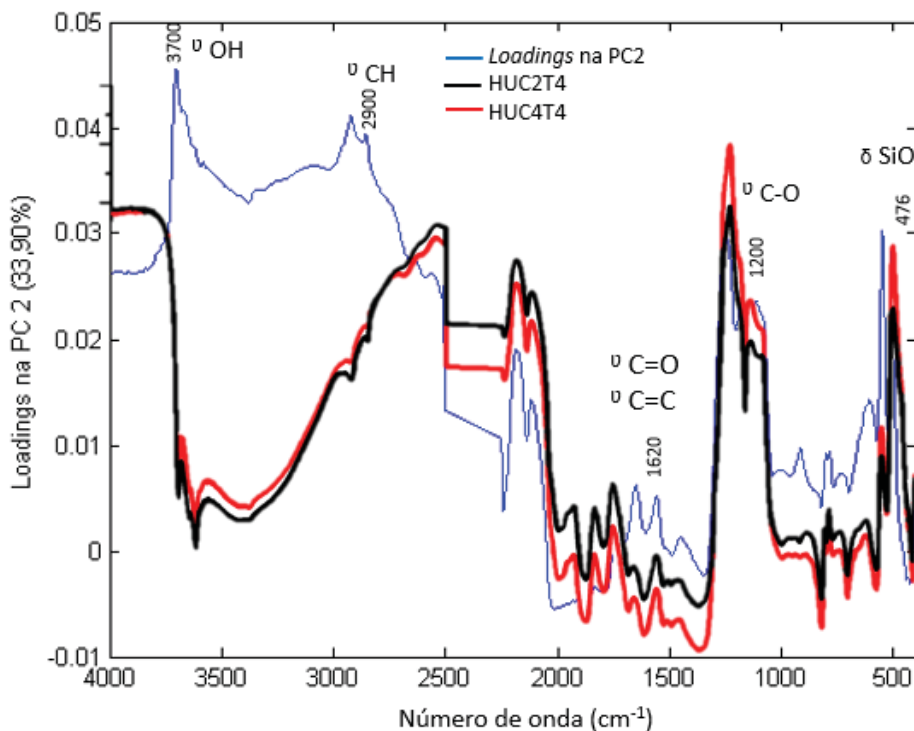
FIGURA 31 - GRÁFICO DE SCORES DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PC1 VS. PC2) OBTIDOS A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DAS HUMINAS



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: HU: humina. C1: coleta 1, C2: coleta 2, C3: coleta 3, C4: coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR

FIGURA 32 - GRÁFICOS DE *LOADINGS* DAS COMPONENTES PRINCIPAIS PC1 E PC2 OBTIDOS A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DAS HU E ESPECTROS REPRESENTATIVOS DAS VARIAÇÕES (HUC2T4 E HUC4T4)



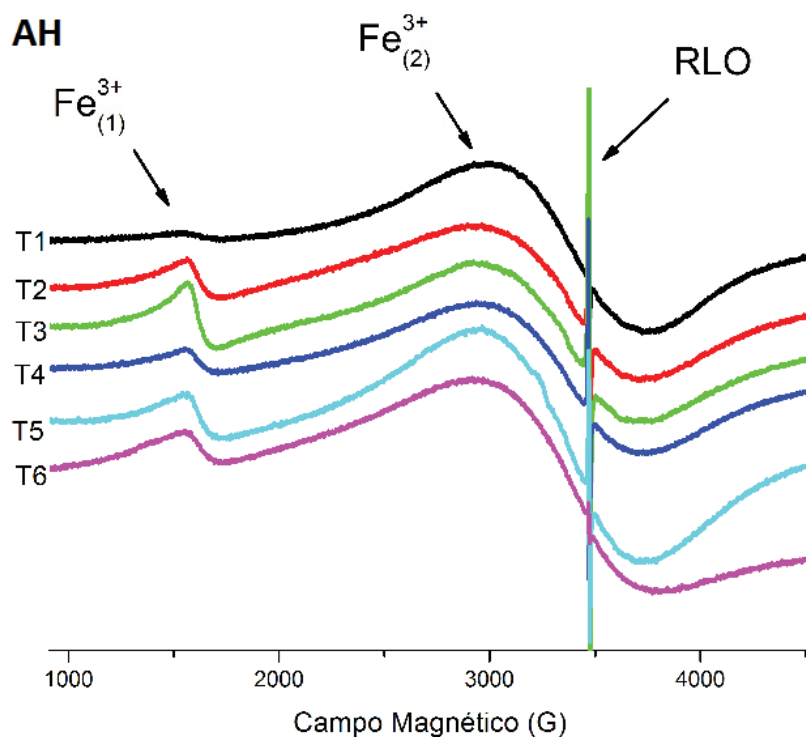
FONTE: O autor (2016)

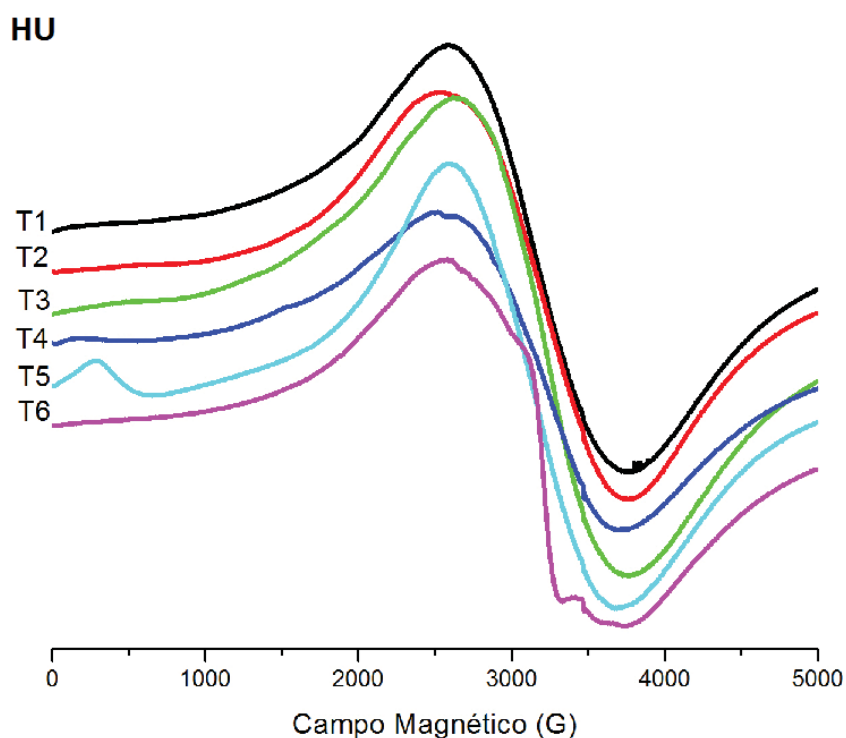
LEGENDA: HU: humina. C2: coleta 2, C4: coleta 4 T4: 3000XR + NPK.

#### 4.2.3.3 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica

O perfil dos espectros de EPR das amostras de ácidos húmicos e huminas em campo magnético de 5000 G está representado na FIGURA 33 por meio dos espectros das amostras da 4ª coleta (extração A).

FIGURA 33 – PERFIL DOS ESPECTROS DE EPR PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS DAS AMOSTRAS DE (A) ÁCIDOS HÚMICOS E (B) HUMINAS.





FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. HU: humina.  $Fe^{3+}_{(1)}$  refere-se aos íons  $Fe^{3+}$  em domínios diluídos e  $Fe^{3+}_{(2)}$  em domínios concentrados. RLO: radical livre orgânico.

Os espectros dos AH apresentaram linha fina em  $g \approx 2,003$  (valores exatos se encontram na TABELA 14) característico de radical livre orgânico (RLO) de semiquinona (BLOIS *et al.*, 1961), os quais, devido a sua alta reatividade, são responsáveis por diversos processos de transformação da MOS (JEZIERSKI *et al.*, 1998). Pode ser visto, ainda, sinal característico de  $Fe^{3+}$  em domínios diluídos ( $g = 4,3$ ), que se deve a interação de  $Fe^{3+}$  com grupos carboxílicos ou fenólicos dos AH em simetria tetraédrica ou octaédrica com alta distorção rômica (ALLARD *et al.*, 2004). Nas amostras de AH e HU, foram verificadas linhas largas em  $g \approx 2$  ( $Fe^{3+}$  em domínios concentrados), que resultam da interação de íons  $Fe^{3+}$  com minerais como óxidos e hidróxidos. Este sinal foi intensificado à medida que a fração inorgânica foi aumentada e pode-se apresentar como uma linha única suprimindo as demais informações espectrais, tal como é verificado nas huminas.

Pela espectroscopia de EPR podem ser obtidos parâmetros importantes na análise das SH, como a quantidade de spin  $g^{-1}$  dos RLO e o fator  $g$  (TABELA 14).

TABELA 14 - DENSIDADE DE SPIN E FATOR  $g$  DAS AMOSTRAS DE AH E HU

	TRATAMENTO	SPIN $g^{-1}$		FATOR $g$	
		AH	HU	AH	HU
1ª COLETA	C1T1	$3,68 \times 10^{16}$	$2,93 \times 10^{16}$	2,00351	2,00318
	C1T2	$3,61 \times 10^{16}$	$6,88 \times 10^{15}$	2,00349	2,00385
	C1T3	$4,87 \times 10^{16}$	$8,43 \times 10^{15}$	2,00347	2,00395
	C1T4	$1,46 \times 10^{17}$	$2,86 \times 10^{16}$	2,00342	2,00345
	C1T5	$1,07 \times 10^{17}$	$1,15 \times 10^{16}$	2,00325	2,00319
	C1T6	$3,65 \times 10^{17}$	$6,64 \times 10^{16}$	2,0034	2,00312
	C1 média	$6,85 \times 10^{16}$	$2,52 \times 10^{16}$		
2ª COLETA	C2T1	$3,83 \times 10^{16}$	$1,07 \times 10^{16}$	2,00335	2,00337
	C2T2	$3,71 \times 10^{16}$	$7,36 \times 10^{15}$	2,00343	2,00318
	C2T3	$3,42 \times 10^{16}$	$9,66 \times 10^{15}$	2,0035	2,00335
	C2T4	$9,20 \times 10^{16}$	$7,14 \times 10^{15}$	2,00341	2,00315
	C2T5	$1,78 \times 10^{16}$	$8,53 \times 10^{15}$	2,0034	2,00315
	C2 média	$2,73 \times 10^{16}$	$8,68 \times 10^{15}$		
3ª COLETA	C3T1	$8,60 \times 10^{15}$	$1,89 \times 10^{16}$	2,0034	2,00375
	C3T2	$1,74 \times 10^{16}$	$2,81 \times 10^{16}$	2,00339	2,00307
	C3T3	$4,30 \times 10^{16}$	$1,23 \times 10^{16}$	2,00349	2,00341
	C3T4	$7,44 \times 10^{15}$	$1,76 \times 10^{16}$	2,00342	2,00324
	C3T5		$1,27 \times 10^{16}$		2,00382
	C3T6		$1,89 \times 10^{16}$		
	C3 média	$1,91 \times 10^{16}$	$1,79 \times 10^{16}$		
4ª COLETA	C4T1A	$7,38 \times 10^{16}$	$1,94 \times 10^{15}$	2,00352	2,0038
	C4T2A	$8,94 \times 10^{16}$	$2,34 \times 10^{17}$	2,00352	2,00354
	C4T3A	$1,36 \times 10^{17}$	$1,49 \times 10^{15}$	2,00357	2,00391
	C4T4A	$8,07 \times 10^{16}$	$2,06 \times 10^{15}$	2,00353	2,00329
	C4T5A	$2,60 \times 10^{16}$	$2,08 \times 10^{15}$	2,00356	2,0038
	C4T6A	$1,20 \times 10^{16}$	$1,51 \times 10^{15}$	2,00344	2,00317
	C4A média	$6,96 \times 10^{16}$	$4,05 \times 10^{16}$		

FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. HU: húmica. C1: coleta 1, C2: solo coleta 2, C3: solo coleta 3, C4: solo coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR.

Como visto na TABELA 14, os ácidos húmicos (com exceção da 3ª coleta) apresentam valores de spin  $g^{-1}$  maiores que as húmicas o que se justifica pelo fato dos íons paramagnéticos presentes na fração mineral, na qual as HU estão associadas, provocarem a diminuição da concentração de RLO detectáveis por EPR (JEZIERSKI *et al.*, 1998; NOVOTNY, 2002).

Com base nos valores de spin  $g^{-1}$  de cada coleta verificou-se que as médias das 1ª e 4ª são mais altas que as médias das 2ª e 3ª coletas indicando que estas últimas possuem menor grau de humificação. Os valores de RLO para AH de solos são altos, variando, geralmente, de  $10^{17}$  a  $10^{18}$  spin  $g^{-1}$  (SENESI e SCHNITZER, 1997). Concentrações de spins  $g^{-1}$  mais baixas e próximas aos obtidos no presente trabalho ( $10^{16}$  spins  $g^{-1}$ ) foram encontrados em amostras de ácidos húmicos de solos desenvolvidos de rochas máficas, de  $0,117 \times 10^{16}$  a  $6,4 \times 10^{16}$  (MELO e SCHAEFER, 2009), AH extraídos de solo fertirrigado com fontes de fertilizantes orgânicas e minerais, de  $9,5 \times 10^{16}$  a  $2,66 \times 10^{17}$  spins  $g^{-1}$  (CUNHA *et al.*, 2009), e AH formados sob diferentes plantios florestais na região de Rio Negro/ PR, de  $6,8 \times 10^{16}$  a  $3,7 \times 10^{17}$  (BLUM *et al.*, 2013).

O fator  $g$  é uma constante de proporcionalidade característica de cada espécie paramagnética. Para o elétron livre, isto é, um único elétron no vácuo, o valor de  $g$  é de 2,0023 (WEIL *et al.*, 1994). Na tabela 14 pode ser observado o sinal de EPR com valor de  $g$  entre 2,003 e 2,004, o qual é característico do RLO, possivelmente conjugado com vários anéis aromáticos (SENESI, 1990). Valores de  $g$  próximos a 2,003 indicam que a densidade de spin se encontra sobre átomos de carbono, por outro lado, valores em torno de 2,004 indicam que os spins eletrônicos estão próximos a átomos de oxigênio. Não houve diferença significativa entre as coletas ou entre os tratamentos considerando este parâmetro pelo teste F com 95 % de confiança.

#### 4.2.4 Conclusões parciais para os AH extraídos de solos condicionados com XR

- De modo geral, os AH apresentaram alto grau de aromaticidade e baixa incorporação de N;
- Os AH de solos que receberam XR apresentaram maiores quantidade de C, H e N que os demais e a aplicação de XR e adubação de base, conjuntamente, resultou em aumento da razão C/N;
- O modelo de calibração para predição de carbono em amostras de AH apresentou maior coeficiente de determinação que os modelos realizados com as amostras de solo, podendo ser justificado pela maior concentração de carbono nos AH comparados aos solos e menores interferências dos minerais do solo;
- Com base no índice termogravimétrico (ITG), no índice de aromaticidade no infravermelho, PCA dos espectros de DRIFT e valores de spin  $g^{-1}$  obtidos por EPR foi constatado que as SH 1<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> coletas são mais humificadas que das 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> coletas;
- O decréscimo da razão  $E_4/E_6$  nas HU das 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> coletas possibilita uma interpretação contrária a esta, no entanto, este método é menos preciso que o infravermelho e EPR e recomenda-se que seja utilizado mediante à comparação com outras técnicas;



#### 4.3 INFLUÊNCIA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HUMICAS DE SOLOS COM APLICAÇÃO DE XR

A fim de verificar as possíveis alterações estruturais nas SH decorrente do processo de extração empregado, foram realizados estudos das SH de solos da 4ª coleta utilizando-se duas metodologias de extração adaptadas de Cozzolino *et al.* (2001). As modificações na metodologia de referência se deram nas concentrações das soluções extratoras, como descrito na seção de materiais e métodos. Assim, os métodos empregados foram:

“Método A” →  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  0,25 mol L<sup>-1</sup> e NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>

“Método B” →  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  0,25 mol L<sup>-1</sup> e NaOH 1 mol L<sup>-1</sup>

As amostras de AH e AF em solução foram caracterizadas por espectroscopia de fluorescência molecular. Os AH e HU no estado sólido foram caracterizadas por espectroscopia UV-Vis (razão  $E_4/E_6$ ), espectroscopia de infravermelho e espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica. Adicionalmente, caracterizou-se as amostras de AH por análise elementar CHN para obtenção das razões H/C e C/N.

##### 4.3.1 Influência da extração na aromaticidade de AH e HU

A seguir, são apresentados os valores de razão  $E_4/E_6$  e spin g<sup>-1</sup> dos AH e HU (TABELA 15), além do índice de aromaticidade no IV (IA) e razões atômicas H/C e C/N para os AH (TABELA 16).

TABELA15 - RAZÃO  $E_4/E_6$  E SPIN g<sup>-1</sup> DOS AH E HU EXTRAÍDOS PELOS MÉTODOS A E B

AMOSTRA	$E_4/E_6$		SPIN g <sup>-1</sup>	
	A	B	A	B
AHC4T1	1,32 ± 0,01	1,31 ± 0,03	7,38 x 10 <sup>16</sup>	3,04 x 10 <sup>16</sup>
AHC4T2	1,30 ± 0,01	1,38 ± 0,03	8,94 x 10 <sup>16</sup>	5,08 x 10 <sup>16</sup>
AHC4T3	1,77 ± 0,01	1,89 ± 0,05	1,36 x 10 <sup>17</sup>	3,65 x 10 <sup>16</sup>

(continua)

(conclusão)

AMOSTRA	E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub>		SPIN g <sup>-1</sup>	
	A	B	A	B
AHC4T4	1,46 ± 0,04	1,72 ± 0,04	8,07 x 10 <sup>16</sup>	2,41 x 10 <sup>16</sup>
AHC4T5	1,34 ± 0,03	1,44 ± 0,01	2,60 x 10 <sup>16</sup>	2,68 x 10 <sup>16</sup>
AHC4T6	1,16 ± 0,04	1,29 ± 0,02	1,20 x 10 <sup>16</sup>	7,90 x 10 <sup>15</sup>
AHC4 média	1,39	1,50	6,96 x 10 <sup>16</sup>	2,94 x 10 <sup>16</sup>
HUC4T1	6,06 ± 0,01	6,79 ± 0,04	1,94 x 10 <sup>15</sup>	1,68 x 10 <sup>15</sup>
HUC4T2	5,56 ± 0,02	6,19 ± 0,001	2,34 x 10 <sup>17</sup>	1,17 x 10 <sup>15</sup>
HUC4T3	6,41 ± 0,009	6,05 ± 0,004	1,49 x 10 <sup>15</sup>	1,25 x 10 <sup>15</sup>
HUC4T4	6,54 ± 0,005	5,83 ± 0,01	2,06 x 10 <sup>15</sup>	3,21 x 10 <sup>15</sup>
HUC4T5	6,76 ± 0,004	5,75 ± 0,01	2,08 x 10 <sup>15</sup>	2,36 x 10 <sup>15</sup>
HUC4T6	6,68 ± 0,007	6,32 ± 0,004	1,51 x 10 <sup>15</sup>	1,51 x 10 <sup>15</sup>
HUC4 média	6,33	6,15	4,05 x 10 <sup>16</sup>	1,86 x 10 <sup>15</sup>

FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. HU: humina. C1: coleta 1, C2: solo coleta 2, C3: solo coleta 3, C4: solo coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR.

TABELA16 - ÍNDICE DE AROMATICIDADE NO IV (IA) E RAZÕES ATÔMICAS H/C E C/N DOS AH EXTRAÍDOS PELOS MÉTODOS A E B

AMOSTRA	IA		H/C		C/N	
	A	B	A	B	A	B
AHC4T1	0,6143 ± 0,0008	0,6109 ± 0,0007	0,41	0,42	20,04	18,87
AHC4T2	0,6105 ± 0,0005	0,6107 ± 0,0004	0,38	0,40	20,86	20,38
AHC4T3	0,6098 ± 0,0006	0,6084 ± 0,0001	0,38	0,41	21,07	20,36
AHC4T4	0,6112 ± 0,0005	0,6135 ± 0,0004	0,48	0,40	18,78	21,07
AHC4T5	0,6118 ± 0,0004	0,6079 ± 0,0001	0,52	0,40	20,24	19,31
AHC4T6	0,6143 ± 0,0008	0,6103 ± 0,0005	0,41	0,61	20,04	19,85
AHC4 média	0,6119	0,6103	0,43	0,44	20,22	19,97

FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. HU: humina. C1: coleta 1, C2: solo coleta 2, C3: solo coleta 3, C4: solo coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR.

O teste *t* pareado (95 % de confiança) apontou diferença significativa entre as razões E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> dos métodos de extração A e B nas amostras de AH. Para as HU e demais parâmetros de aromaticidade dos AH não houve diferença significativa. No entanto, a análise conjunta dos resultados sugere que empregando menor concentração de NaOH (Método A) se extrai SH com maior número de núcleos

aromáticos condensados, visto que as amostras extraídas por este método apresentaram, em média, maiores valores de IA e spin  $g^{-1}$  e menores razões H/C e  $E_4/E_6$  (exceto as HU).

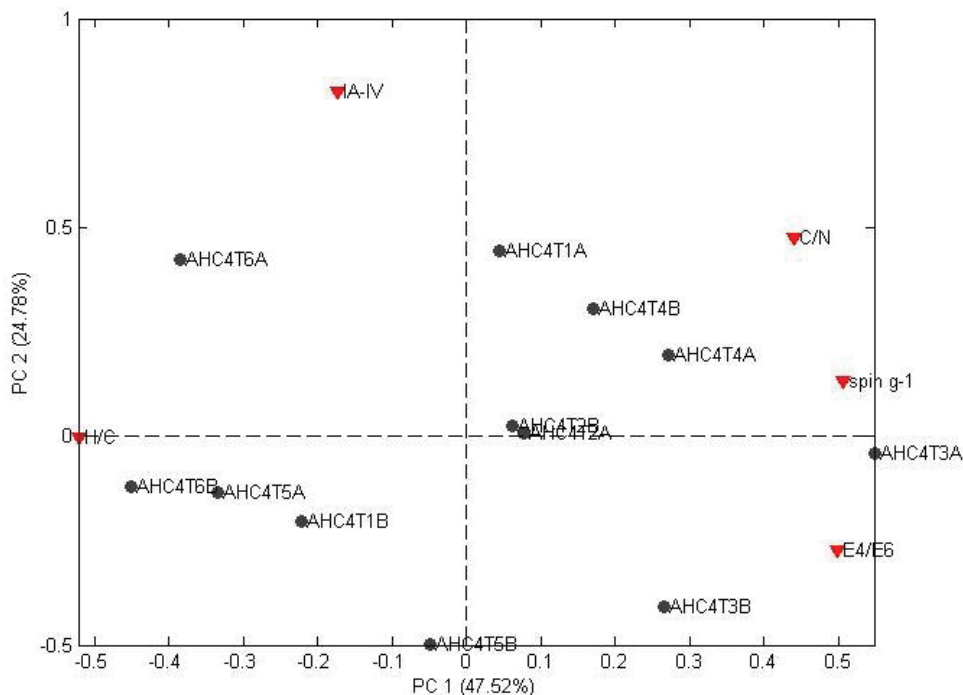
Foi evidenciado também que as amostras extraídas pelo método B apresentaram menor razão C/N sinalizando que este pode haver co-extraído moléculas de natureza não húmica com elevado teor de grupos funcionais contendo N, como proteínas e aminoácidos. Comportamento semelhante foi observado por Rosa et al (2000) utilizando KOH como extrator e por Dick et al (1998) empregando  $Na_4P_2O_7$ . Neste mesmo estudo, Dick e colaboradores (1998) verificaram que AH extraídos em condições brandas, apenas com pirofosfato de sódio, apresentaram estruturas mais condensada que os extraídos com NaOH.

De acordo com Saito e Seckler (2014) a eficiência da extração, em termos de quantidade de AH extraído, também aumenta com a diminuição da concentração de álcali devido a menor força iônica do meio que favorece a formação dos agregados húmicos.

Para estabelecer a relação entre os AH da 4ª coleta extraídos pelos Métodos A e B e entre as variáveis contidas nas tabelas 15 e 16 foi efetuada uma Análise de Componentes Principais (PCA) com os dados autoescalados.

Pelo gráfico *biplot* (FIGURA 34), a seguir, é observado que a PC1 (47,52 % da variância) diferencia as amostras de acordo com o grau de aromaticidade/alifaticidade, sendo que, carregamentos positivos são associados, principalmente, ao maior teor de spin  $g^{-1}$  e negativos à maiores razões H/C. Desta forma, verificou-se que as amostras testemunhas absoluta (AHC4T5A e AHC4T5B), testemunhas de Xisto (AHC4T6A e AHC4T6B) e uma testemunha de adubação (AHC4T1B) encontram-se deslocadas para o quadrante negativo da PC1 e, portanto, apresentam maior alifaticidade. Por outro lado, todas as amostras que receberam tanto adubação de base quanto aplicação de XR se encontram no quadrante positivo da PC1, indicando que o efeito sinérgico pode proporcionar maior aromaticidade aos AH. O aumento da razão C/N também pode ser atribuído a este efeito, como mencionado anteriormente (seção 4.2.2).

FIGURA 34 - GRÁFICO *BI*PLOT DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PC1 VS. PC2) OBTIDOS A PARTIR DOS PARÂMETROS DE AROMATICIDADE DOS AH



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. C1: coleta 1, C2: coleta 2, C3: coleta 3, C4: coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR A: método extração A. B: método de extração B.

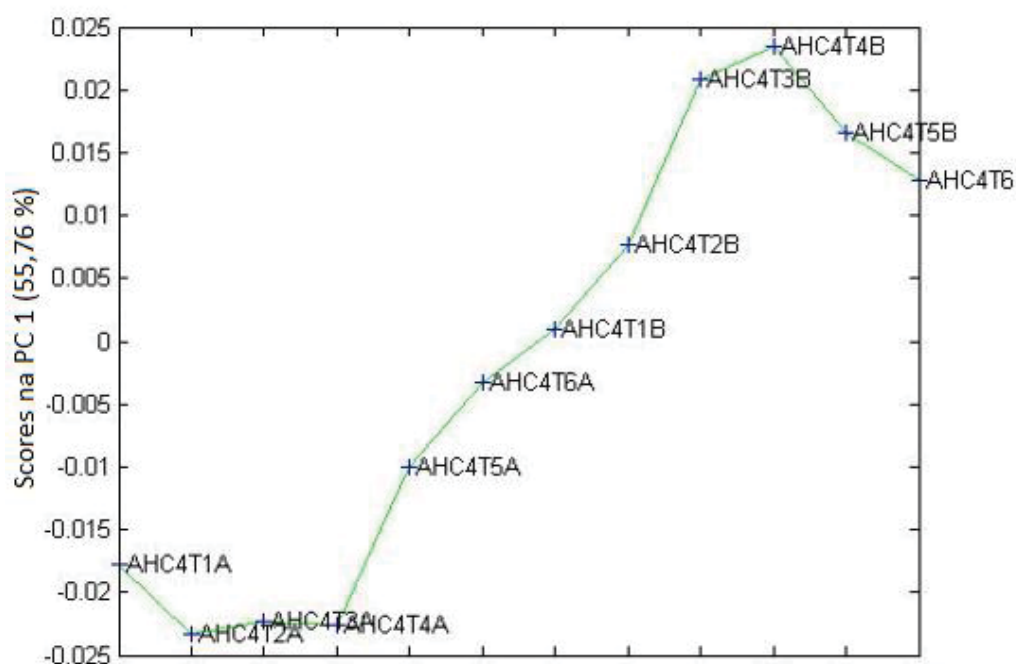
O aumento da razão  $E_4/E_6$  segundo alguns autores deve ser inversamente proporcional à aromaticidade (MARTIN-NETO e SAAB, 2007; PIMENTA *et al.*, 2009). No presente estudo, porém, este parâmetro apresentou resultados controversos, assim como observado por outros autores (COLNAGO *et al.*, 1997; SANTOS, 2006; NARIMOTO, 2006), portanto, é recomendado devido cuidado com a sua utilização.

A segunda componente principal, PC2, capturou 24,78% da variância e diferenciou a maior parte das amostras da extração A no quadrante positivo e da extração B no quadrante negativo (FIGURA 34). Embora a diferenciação tenha sido pouco clara, fica evidente que a variável de maior *loading* (peso) na PC2 foi o índice de aromaticidade no IV. Portanto, dois novos PCAs foram realizados utilizando os espectros de DRIFT completos das amostras de AH e HU a fim de averiguar de forma mais completa as diferenças decorrentes dos processos de extração por espectroscopia de infravermelho.

Como observado nas Figuras 35 e 37, respectivamente, a primeira componente principal foi suficiente para separar as amostras de AH (PC1 55,76% da

variância) e HU (PC1 85,89 % da variância) pelos dois métodos de extração. As principais fontes de variações nos AH se deram nas bandas  $3400\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{OH}$  de gibbsita) mais intensa nas amostras da extração B,  $750\text{ cm}^{-1}$  ( $\delta\text{O-H}$  de  $\text{SiAlO-H}$ ) e  $540\text{ cm}^{-1}$  ( $\delta\text{Si-O}$ ), estas ultimas mais intensas nas amostras da extração A (FIGURA 36). Nas huminas, as regiões espectrais que diferenciaram as extrações foram  $3700\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{OH}$  de caulinita) mais intensa em B,  $1200\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{C-O}$  polissacarídeos),  $476\text{ cm}^{-1}$  ( $\delta\text{Si-O}$ ), mais intensas na extração A (FIGURA 38).

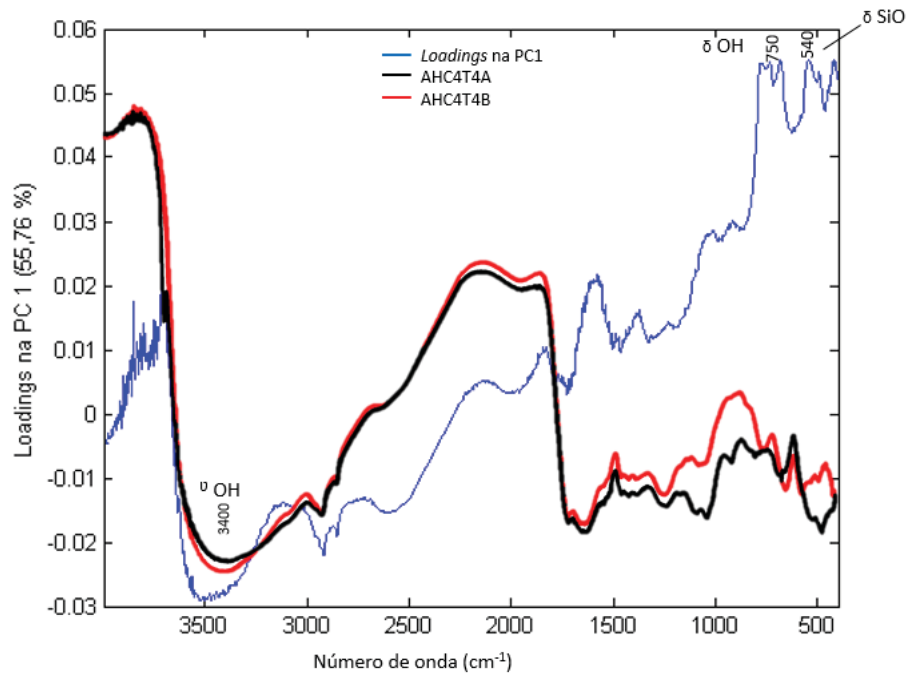
FIGURA 35 - GRÁFICO DE SCORES DA PRIMEIRA COMPONENTE PRINCIPAL (PC1) OBTIDO A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DOS AH EXTRAÍDOS PELOS MÉTODOS A E B



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico, C4: coleta 4. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR. A: método extração A. B: método de extração B.

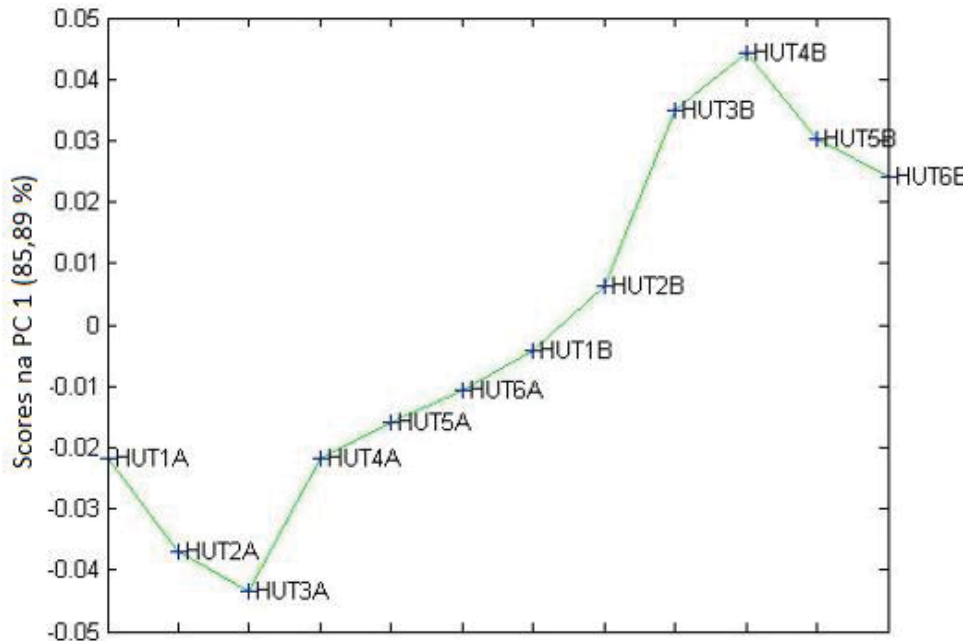
FIGURA 36 - GRÁFICO DE *LOADINGS* DA PRIMEIRA COMPONENTE PRINCIPAL, PC1, OBTIDO A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT AH EXTRAÍDOS PELOS MÉTODOS A E B E ESPECTROS REPRESENTATIVOS DAS VARIAÇÕES (AHC4T4A E AHC4T4B)



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. C4: coleta 4. T4: 3000XR + NPK. A: método extração A. B: método de extração B.

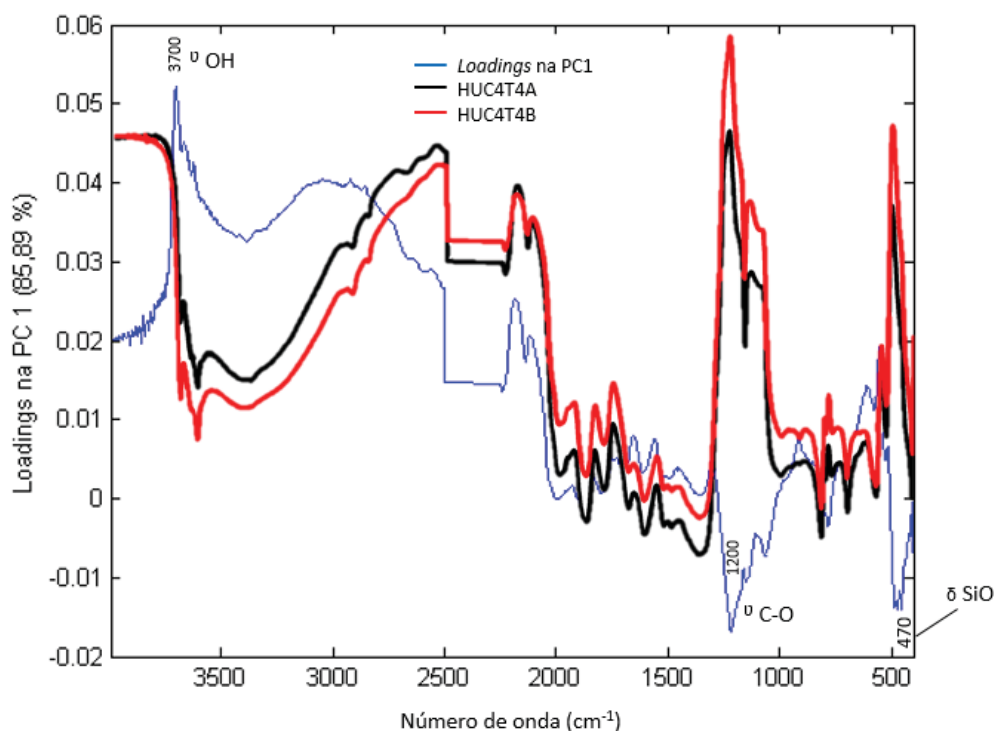
FIGURA 37 - GRÁFICO DE *SCORES* DA PRIMEIRA COMPONENTE PRINCIPAL (PC1) OBTIDO A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DAS HU EXTRAÍDAS PELOS MÉTODOS A E B



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: HU: humina. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR A: método extração A. B: método de extração B.

FIGURA 38 - GRÁFICO DE *LOADINGS* DA PRIMEIRA COMPONENTE PRINCIPAL, PC1, OBTIDO A PARTIR DOS ESPECTROS DE DRIFT DAS HU EXTRAÍDAS PELOS MÉTODOS A E B E ESPECTROS REPRESENTATIVOS DAS VARIAÇÕES (HUC4T4A E HUC4T4B)



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: HU: humina. C4: coleta 4. T4: 3000XR + NPK. A: método extração A. B: método de extração B.

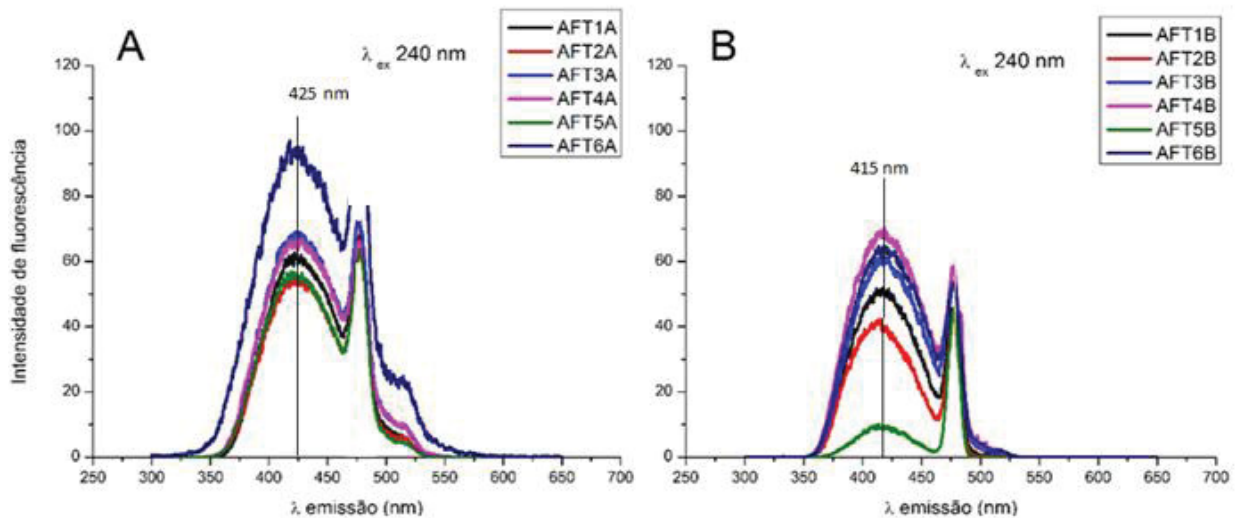
#### 4.3.2 Estudos por Espectroscopia de Fluorescência Molecular

Os espectros de fluorescência molecular das amostras de AH e AF da 4ª coleta foram obtidos por dois diferentes modos de aquisição discutidos a seguir: emissão e sincronizado.

##### 4.3.2.1 Modalidade Emissão

Nas FIGURAS 39 e 40 estão representados os espectros de fluorescência no modo emissão com excitação de 240 nm e 295 nm, respectivamente, dos AF extraídos pelos métodos A e B.

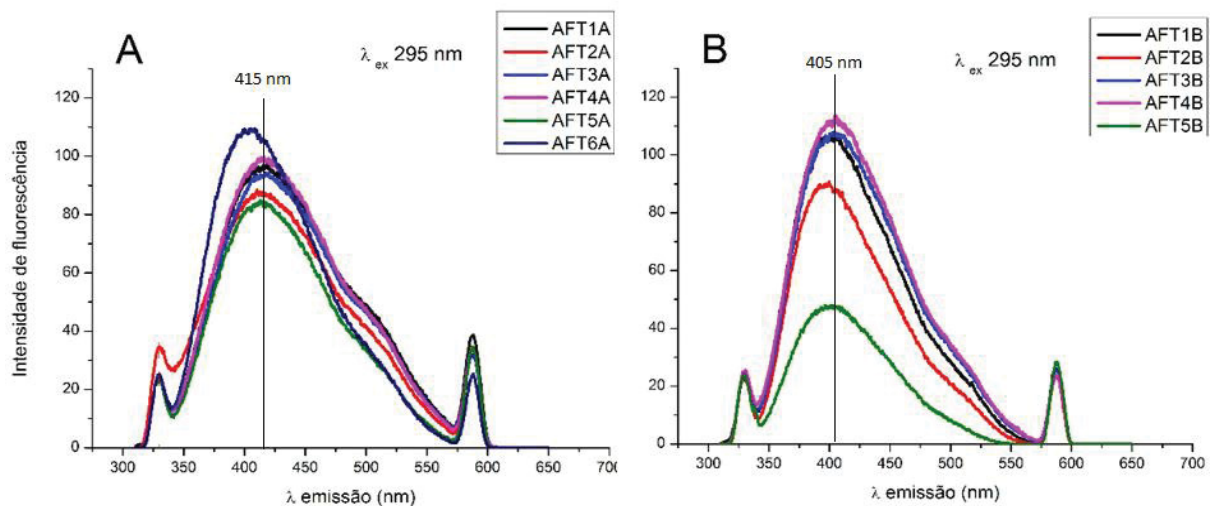
FIGURA 39 - ESPECTROS DE EMISSÃO DOS AF COM EXCITAÇÃO DE 240 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AF: ácido fúlvico T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR A: método extração A. B: método de extração B.

FIGURA 40 - ESPECTROS DE EMISSÃO DOS AF COM EXCITAÇÃO DE 295 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AF: ácido fúlvico T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR A: método extração A. B: método de extração B.

Os espectros de AF e AH das amostras de solos testemunhas T1 e T5 foram bastante semelhantes aos das SH extraídas de solos com XR (T2, T3, T4 e T6), indicando que a aplicação deste subproduto no solo não influenciou significativamente nas transformações das SH, isto pode ser observado, de modo geral.



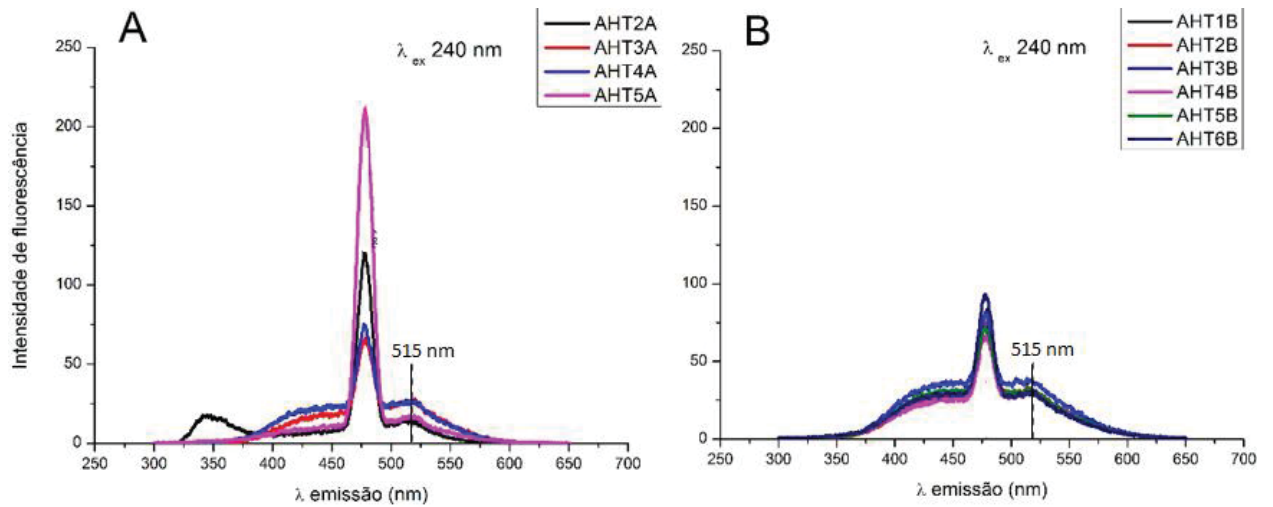
Como observado na Figura 39, quando excitados em comprimento de onda de 240 nm, os AF apresentaram uma banda larga com máximo de intensidade em torno de 425 nm para as amostras extraídas pelo método A (NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>) e 415 nm para as amostras extraídas pelo método B (NaOH 1 mol L<sup>-1</sup>). A mudança do comprimento de onda de excitação para 295 nm (FIGURA 40) provocou um ligeiro deslocamento na intensidade máxima de emissão para comprimentos de onda menores, ficando, em sua maioria, em torno de 415 nm para as amostras extraídas pelo método A e 405 nm para as amostras extraídas pelo método B.

Outra característica importante dos espectros dos ácidos fúlvicos AF-A em comparação aos espectros de AF-B, é a maior intensidade do ombro em torno de 515 nm, característico de ácidos húmicos, na maioria das amostras do método A. De acordo com Rosa *et al.* (2000) o aumento da concentração de álcali no processo de extração provoca maior rompimento das forças intermoleculares que ligam o AF ao AH, sendo assim, sugere-se que o processo realizado com maior concentração de NaOH (método B) separa as frações de forma mais eficiente e por isso a influência de AH nestes espectros é menor.

Nos espectros dos AH (FIGURAS 41 e 42) o máximo de emissão se dá em torno de 515 nm. Valores máximos de emissão próximos ao verificado para os AH (entre 500-520 nm) também foram obtidos por outros autores (CHEN *et al.*, 2002; AZEVEDO E NOZAKI, 2008; GOSTEVA *et al.*, 2012). Os AH emitem tipicamente em comprimento de onda maior que os AF, pois possuem estrutura mais complexa, com mais grupos aromáticos conjugados e substituintes retiradores de elétrons (CHEN *et al.*, 2002; AZEVEDO E NOZAKI, 2008).

A fração AH apresentou menor intensidade de fluorescência que a fração AF, fato que pode ser atribuído à maior massa molecular da primeira fração. Quando a amostra apresenta fluorescência com baixa intensidade em comprimento de onda mais longo, normalmente refere-se aos AH (SENESI *et al.*, 1991).

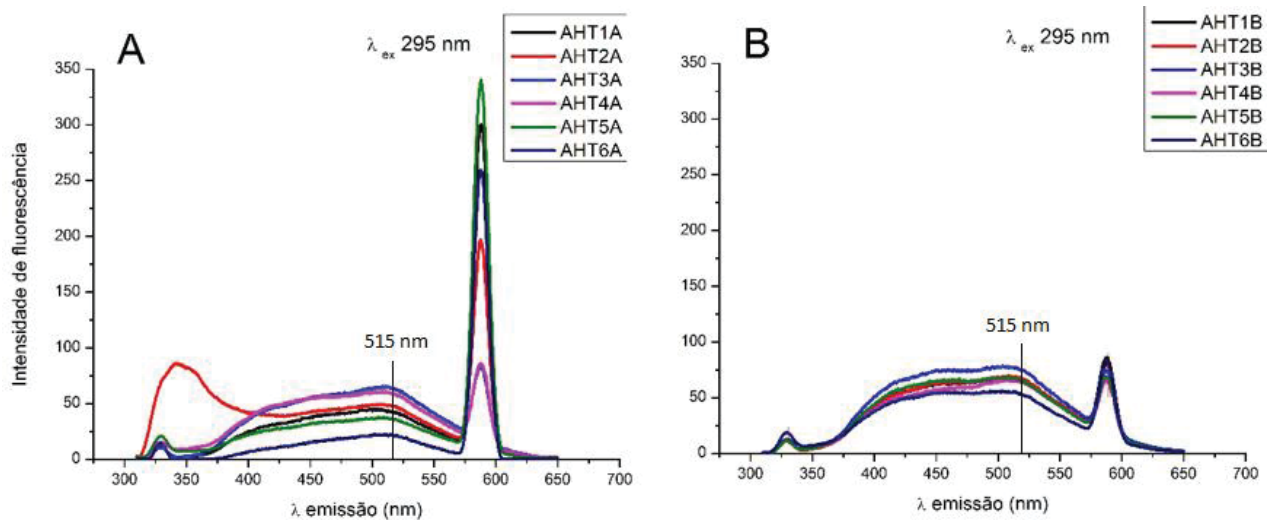
FIGURA 41 - ESPECTROS DE EMISSÃO DOS AH COM EXCITAÇÃO DE 240 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR A: método extração A. B: método de extração B.

FIGURA 42 - ESPECTROS DE EMISSÃO DOS AH COM EXCITAÇÃO DE 295 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR A: método extração A. B: método de extração B.

Os espectros exibem ainda efeitos de segunda ordem, como os picos referentes à radiação incidente, que aparecem em 480 nm (FIGURAS 39 e 41) e 590 nm (FIGURAS 40 e 42) e o pico atribuído ao espalhamento Raman em 330 nm (FIGURAS 40 e 42).

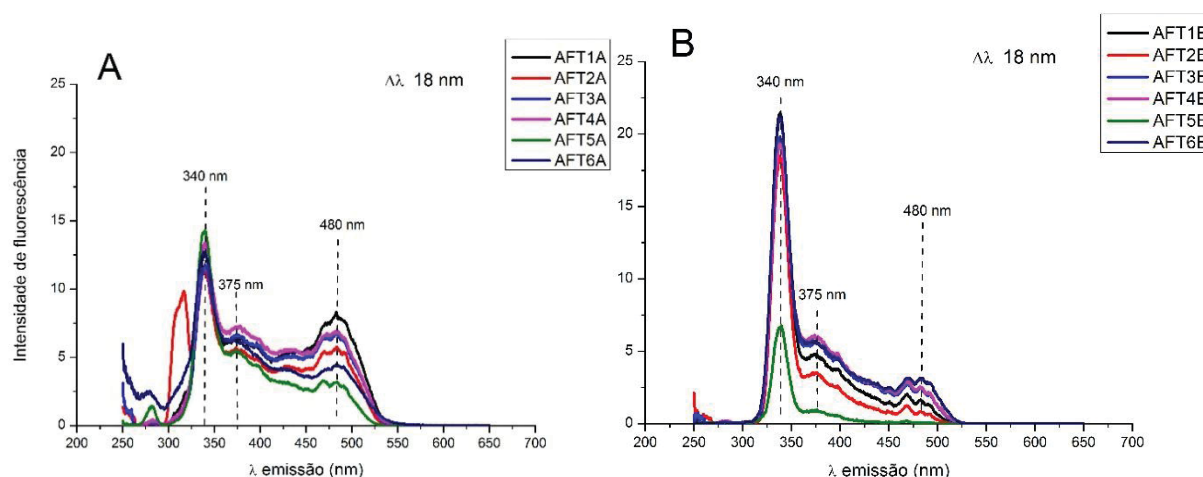
#### 4.3.2.2 Modalidade Sincronizada

Na modalidade de varredura síncrona os espectros apresentam maior resolução, com picos mais definidos, devido ao estreitamento das bandas, possibilitando a obtenção de espectros mais ricos em detalhes (CHEN *et al.* 2003; SIERRA *et al.* 2005; PRIMO *et al.*, 2011).

Apesar do deslocamento  $\Delta\lambda = 18$  nm ser o mais utilizado em estudos envolvendo substâncias húmicas (DROUSSI *et al.*, 2009; SANTIN *et al.*, 2009; RODRIGUEZ *et al.*, 2014), diferentes valores  $\Delta\lambda$ , tais como 45 nm (RODRIGUEZ *et al.* 2014), 55 nm (SANTOS, 2006; KALBITZ *et al.*, 2000; VAZ Jr., 2010) e 65 nm (RODRIGUEZ *et al.* 2014), também têm sido utilizados. Testes preliminares com algumas amostras foram realizados variando o  $\Delta\lambda$  em 45, 55 e 65 nm, no entanto, apenas os deslocamentos que geraram espectros com as maiores intensidades foram explorados em detalhes, estes foram: 65 nm para os AF e 45 nm para os AH.

Utilizando-se  $\Delta\lambda$  de 18 nm, foi possível verificar nos espectros dos AF (FIGURA 43) a ocorrência de três regiões bem definidas.

FIGURA 43 - ESPECTROS DE VARREDURA SINCRONIZADA DOS AF COM  $\Delta\lambda$  18 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B



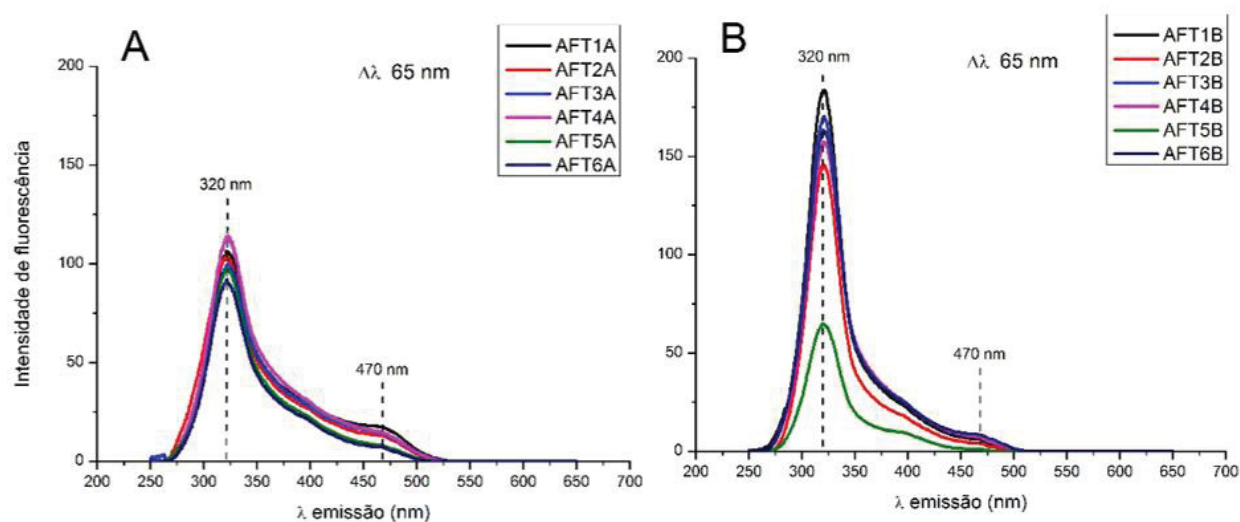
FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AF: ácido fúlvico. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR A: método extração A. B: método de extração B.

A 1ª região (~ 340 nm) foi a mais intensa em todos os AF e indica a predominância de fluoróforos de estrutura mais simples. Nos AF extraídos pelo

método B verificou-se que a 2ª região (~ 375nm), atribuída às estruturas aromáticas de três ou quatro anéis (PEURAVUORI *et al.*, 2002), foi ligeiramente mais intensa que a 3ª região (~ 480 nm), a qual pode ser associada à presença de policíclicos aromáticos com aproximadamente sete anéis (CHEN *et al.*, 2003; PEURAVUORI *et al.*, 2002), enquanto que o contrário foi evidenciado nas amostras extraídas pelo método A. Os espectros dos AF obtidos com  $\Delta\lambda = 65$  nm (FIGURA 44), exibiram um pico em 320 nm, mais intenso nas amostras B, e um ombro em 470 nm, mais evidentes nas amostras A. Tais resultados reiteram, portanto, a conclusão de que os AF extraídos na menor concentração de NaOH possuem maior grau de condensação.

FIGURA 44 - ESPECTROS DE VARREDURA SINCRONIZADA DOS AF COM  $\Delta\lambda = 65$  nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B

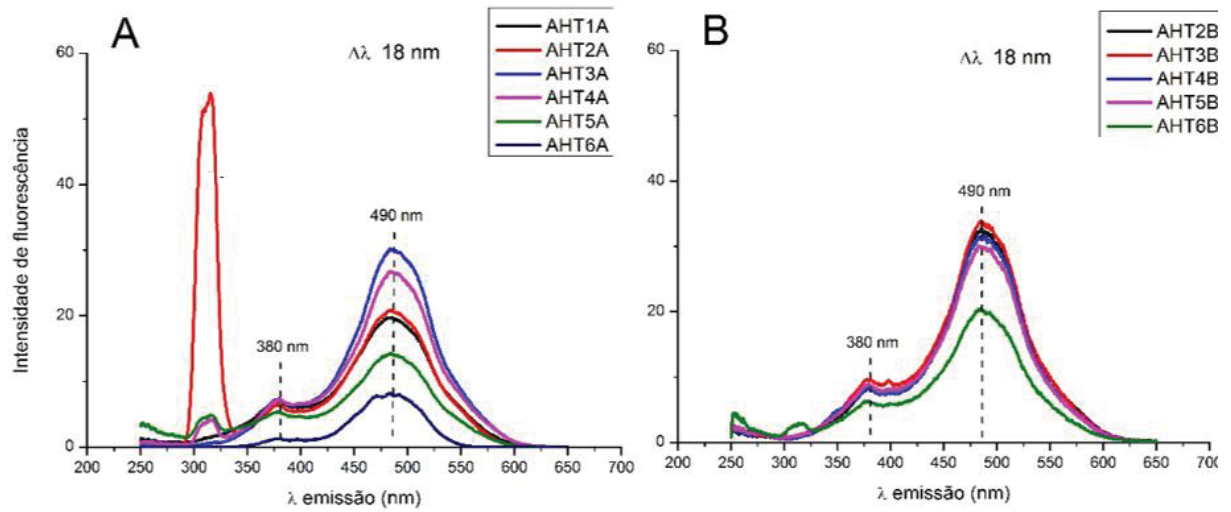


FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AF: ácido fúlvico. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR A: método extração A. B: método de extração B.

Para os ácidos húmicos, os espectros com  $\Delta\lambda = 18$  nm apresentaram um ombro em 380 nm seguido de uma banda larga com máximo centrado em torno de 490 nm (FIGURA 45). Os espectros com  $\Delta\lambda = 45$  nm (FIGURA 46) possuem forma bastante semelhante àqueles obtidos com  $\Delta\lambda = 18$  nm, porém o primeiro pico aparece em torno 340 nm e o segundo (mais intenso) em 470 nm. A maior intensidade dos segundos picos frente aos primeiros sugere que os AH contém maiores quantidades de sistemas de elétrons  $\pi$  aromáticos que os AF, portanto, a emissão de fluorescência é maior em comprimentos de onda mais longos (CHEN *et al.*, 2002).

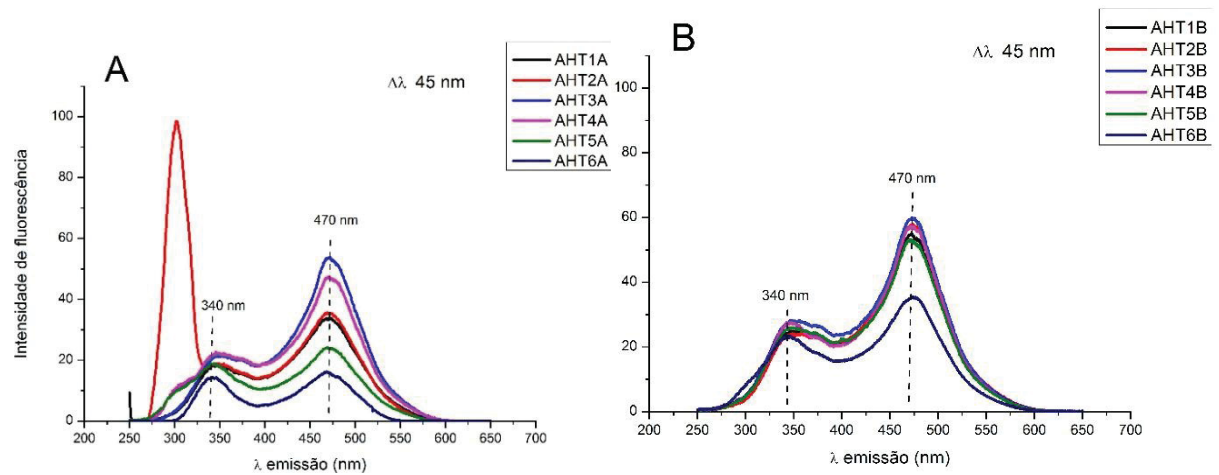
FIGURA 45 - ESPECTROS DE VARREDURA SINCRONIZADA DOS AH COM  $\Delta\lambda$  18 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR A: método extração A. B: método de extração B.

FIGURA 46 - ESPECTROS DE VARREDURA SINCRONIZADA DOS AF COM  $\Delta\lambda$  45 nm (A) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO A E (B) EXTRAÍDOS PELO MÉTODO B



FONTE: O autor (2016)

LEGENDA: AH: ácido húmico. T1: apenas NPK, T2: 750XR + NPK, T3: 1500XR + NPK, T4: 3000XR + NPK, T5: sem adições e T6: 1500XR A: método extração A. B: método de extração B.

#### 4.3.3 Conclusões parciais para a influência do método extração

- Novamente foi evidenciada a ocorrência de um efeito sinérgico da adubação de base e adição de XR, neste caso, devido aos maiores valores de spin  $g^{-1}$  e razão C/N e menores de razões H/C nas amostras T2, T3 e T4.
- A espectroscopia de fluorescência molecular não foi efetiva na diferenciação estrutural dos AH e AF em função da aplicação de XR no solo mas foi eficiente para verificar as diferenças provocadas pela extração e fracionamento químico.
- A razão  $E_4/E_6$  apresentou resultados controversos também com relação aos efeitos dos métodos de extração.
- A influência da concentração da solução de NaOH durante o processo de extração nas características das SH foi evidenciada pelas diferentes técnicas de análise, sendo possível concluir que a menor concentração de solução extratora favoreceu a formação de SH mais condensadas e com maior razão C/N.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados demonstram a eficiência das ferramentas quimiométricas, análises de agrupamento hierárquico e de componentes principais na diferenciação entre as amostras e adicionalmente, no caso do PCA, a relação das amostras com as variáveis envolvidas.

Os agrupamentos observados no PCA dos espectros de infravermelho limitaram-se às diferenças entre as coletas e não entre os tratamentos aplicados. De modo geral as amostras de solo, AH e HU da 1ª e 4ª coletas apresentaram maiores intensidades nas regiões da matéria orgânica aromática ( $1620\text{ cm}^{-1}$ ) e bastante oxidada ( $1260\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ ), enquanto que as amostras das 2ª e 3ª coletas apresentam uma matéria orgânica mais alifática ( $2900\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ ), estando de acordo com os resultados obtidos pela análise de EPR e índice termogravimétrico dos AH.

Os modelos de predição do teor de carbono nos AH apresentaram maiores coeficientes de determinação que das amostras de solo, provavelmente, em virtude da maior concentração de carbono e menores interferências químicas na matriz húmica. Sendo assim, este resultado revela a utilidade da espectroscopia de infravermelho associada à Quimiometria na predição dos teores de carbono não apenas em solos, como vem sendo amplamente relatado na literatura, como também nos AH.

Com base nas análises de diferentes parâmetros de aromaticidade, espectroscopia DRIFT e Fluorescência Molecular foi verificado que houve influência da concentração da solução extratora na estrutura e composição elementar das SH. Fica evidenciado que a associação direta do grau de aromaticidade/condensação ao grau de humificação da MOS pode levar a conclusões equivocadas, uma vez que tais características podem ter sido geradas durante a obtenção da amostra e não nas condições naturais do solo. Deste modo, o presente estudo contribui para um melhor entendimento das transformações estruturais das SH durante a etapa de extração e ressalta a importância da sistematização desse processo, aspecto crucial para a melhor interpretação dos resultados.

Por fim, com relação às aplicações de XR, foi observado que seu emprego isolado no solo provocou aumento da acidez e da razão H/C (relacionada à alifaticidade), podendo ser considerado prejudicial à qualidade dos solos. No entanto, esta aplicação combinada à adubação de base (NPK) promoveu aumento nas

concentrações de cátions trocáveis do solo, na aromaticidade e na razão C/N das SH. É importante frisar que tais observações não podem ser atribuídos de forma isolada nem ao Xisto nem à adubação com NPK visto que as amostras testemunhas (T1, T5 e T6) apresentaram, em geral, valores menores que as amostras que receberam ambas aplicações. Portanto, de acordo com os resultados das análises químicas e espectroscópicas realizadas neste estudo acredita-se que o efeito sinérgico entre o XR e a adubação convencional influencia alguns atributos do solo e sua MO, como a retenção de nutrientes e humificação das SH.



## REFERÊNCIAS

- ALEXIS, M.A., RUMPEL, C., KNICKER, H., LEIFELD, J., RASSE, D., PÉCHOT, N., BARDOUX, G., MARIOTTI, and A., Thermal alteration of organic matter during shrub land fire: a field study. **Organic Geochemistry**. 41, 690–697, 2010.
- ALLARD, T., MENGUY, N., SALOMON, J., CALLIGARO, T., WEBER, T., CALAS, G., BENEDETTI, M.F. Revealing forms of iron in river-borne material from major tropical rivers of the amazon basin (Brazil). **Geochimistry et Cosmochimica Acta**, 68(14), 3079-3094, 2004.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. Standard Practices for Infrared Multivariate Quantitative Analysis. **NORMA: E1655 – 05, 2º Edição, EUA**, 2012.
- ANDA - ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS. **Anuário estatístico do setor de fertilizantes 2003**. São Paulo, 158, 2004.
- ANTUNES M.C.G , SILVA J.C.G.E. Multivariate curve resolution analysis excitation-emission matrices of fluorescence of humic substances. **Analytica Chimica Acta**, 546, 52–59, 2005.
- AZEVEDO, J.C.R., NOZAKI, J. Análise de fluorescência de substâncias húmicas extraídas da água, solo e sedimento da lagoa dos patos – MS. **Quimica Nova**, 31 (6), S1-S5, 2008.
- BAALOUSHA, M., MOTELICA-HEINO, M., LE COUSTOMER, P. Conformation and size of humic substances: Effects of major cation concentration and type, pH, salinity, and residence time. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 272, 48–55, 2006.
- BALDOTTO1, M.A., BALDOTTO, L.E.B. Ácidos Húmicos. **Revista Ceres**, Viçosa, 61, 856-881, 2014
- BARRIGA, S., MÉNDEZ, A., CAMARA, J., GUERRERO, F., GASCO, G. Agricultural valorization of de-inking paper sludge as organic amendment in different soils: thermal study. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 6, 99-981, 2010.
- BARROS, N., SALGADO, J., FEIJÓO, S. Calorimetry and soil. **Thermochemical Acta**, 458, 11–17, 2007.
- BARROS, N., SALGADO, J., VILLANUEVA, M., RODRIQUEZ-ANON, J., PROUPIN, J., FEIJOO, S., MARTINPASTOR, M. Application of DSC-TG and NMR to study the soil organic matter. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. 104, 53–60, 2011.

BAYER, C., MARTIN-NETO, L., SAAB, S.C. Diminuição da humificação da matéria orgânica de um cambissolo húmico em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 27, 537-544, 2003.

BENITES, V.M., MENDONÇA, E.E., SCHAEFER, C.E.R. E MARTIN NETO, L. Caracterização dos ácidos húmicos extraídos de um Latossolo vermelho-amarelo e de um podzol por análise termodiferencial e pela espectroscopia de absorção no infravermelho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 23, 543-551, 1999.

BENITES, V.M., MENDONÇA, E.E., SCHAEFER, C.E.R., NOVOTNY, E.H., REIS, E.L., KER, J.C. Properties of black soil humic acids from high altitude rocky complexes in Brazil. **Geoderma**, 127, 104–113, 2005.

BENITES, V.M.; MADARI, B.; MACHADO, P.L.O.A. Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo: um procedimento simplificado de baixo custo. **Embrapa Solos**, 2003

BLOIS, M.S.Jr., BROWN, H.W., MAILING, J.E. Precision g-value measurements of free radicals of biological interest. New York, Academic. 1961, p117-131.

BLUM, H. **Ácidos húmicos de solos em diferentes formações florestais na floresta nacional de Irati, PR.** (Dissertação de Mestrado) IRATÍ: Unicentro, 2010.

BLUM, H., FRANÇA, A.A., MARQUES, R., MANGRICH, A.S. Caracterizações espectroscópicas de ácidos húmicos extraídos de solos sob plantio de diferentes espécies florestais. **X Encontro Nacional de Substâncias Húmicas**. Santo Antônio de Goiás – GO, 2013 (ANAIS).

BOTERO W.G \*; SOUZA S.O<sup>1</sup>; SANTOS O.S; OLIVEIRA L.C; DO AMARANTE C.B. Influência das substâncias húmicas de sedimentos na biodisponibilidade de metais para o sistema aquático. **Química Nova**. Vol. 37, No. 6, 943-949, 2014.

BRAGA, F.V.A., REICHERT, J.M., MENTGES, M.I., VOGELMANN, E.S., PADRÓN, R.A.R. Propriedades Mecânicas e Permeabilidade ao Ar em Topossequência Argissolo-Gleissolo: Variação no Perfil e Efeito de Compressão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 39, 1025-1035, 2015.

BRAIDA, J.A., REICHERT, J.M., REINERT, D.J., SEQUINATTO, L. Elasticidade do solo em função da umidade e do teor de carbono orgânico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32, 477-485, 2008.

BRUNS, R.E. AND FAIGLE, J.F.G., Quimiometria. **Química Nova**, 4, 84-98, 1985.

BUDZIAK, C. R., **Grupos ácidos e capacidade de oxidação de ácidos húmicos como método de avaliação de processos de compostagem.** (Dissertação de Mestrado). Curitiba: UFPR, 2002.

CANELLAS, L. P., SANTOS, G.A. Humosfera : tratado preliminar sobre a química das substâncias Húmicas. **Campos dos Goytacazes**, 345p, 2005. Disponível em: <http://www.uenf.br/Uenf/Pages/CCTA/Lsol/>. Acesso em: dezembro de 2015.

CANELLAS, L. P., SANTOS, G.A., RUMJANEK, V.M., MORAES A. A. e GURIDI, F. Avaliação de características de ácidos húmicos de resíduos sólidos urbanos I. Métodos espectroscópicos (IV, UV e RMN <sup>13</sup>C) e microscopia eletrônica de varredura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 24, 741-750, 2000.

CARDOSO, E.M.C. **Caracterização espectroscópica de substâncias húmicas extraídas de solos condicionados com subprodutos do xisto**. (Dissertação de Mestrado). Curitiba: UFPR, 2013.

CARON V.C, GRAÇAS J.P, CAMARGO P.R E CASTRO. Condicionadores do solo: ácidos húmicos e fúlvicos. Piracicaba: **ESALQ - Divisão de Biblioteca**, 2015.

CASTILHOS, R.M.V., DICK, D.P., CASTILHOS, D.D., MORSELLI, T.B.A.G., COSTA, P.F.P., CASAGRANDE, W.B., ROSA, C.M. Distribuição e caracterização de substâncias húmicas em vermicompostos de origem animal e vegetal. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32, 2669-2675, 2008.

CATANI, R.A., BITTENCOURT, V.C., BARRICHELLO, L.E. Estado atual da determinação do carbono no solo: I. Em solos contendo de 0,2 a 4,0% de carbono. **Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, USP, Piracicaba, São Paulo, 1964.

CÉCILLON, L. ; BRUN, J.J. Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS): a practical tool for the assessment of soil carbon and nitrogen budget. In Jandl, R. ; Olsson, M. (ed.) COST Action 639 p. 103-110 (2007)

CHAVES, L. H. G., VASCONCELOS, A. C. F. Alterações de atributos químicos do solo e do crescimento de plantas de milho pela aplicação de xisto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 10 (1), 84-88, 2006.

CHEFTEZ, B., HATCHER, P., HADAR, Y., CHEN, Y. Chemical and biological characterization of organic matter during composting of municipal solid waste. **Journal of Environmental Quality**, 25, 776-785, 1996.

CHEN, J., BAOHUA, G., LEBOEUF, E.J., HONGJUN, P., DAI, S. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. **Chemosphere**, 48, 59-68, 2002.

CHEN, J., LEBOEUF, E.J., DAI, S., BAOHUA, G. Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions. **Chemosphere**, 50, 639-647, 2003.

CHEN, Y.; SCHNITZER, M. Scanning electron-microscopy of a humic acid and of a fulvic acid and its metal and clay complexes. **Soil Science Society of American Journal**, v. 40, p. 682-686, 1976.

COLIMO, A.G.S.C. **AVALIAÇÃO DO TEOR DE METAIS E AMINAS BIOGÊNICAS NOS VINHOS PRODUZIDOS A PARTIR DE UVAS CULTIVADAS EM SOLOS CONDICIONADOS COM SUBPRODUTOS DE XISTO**. (Dissertação de mestrado). Curitiba: UFPR, 2013.

COLNAGO, L. A.; MARTIN-NETO, L.; MIYAZAWA, E. M. V.; BONAGAMBA, T. J.; PANEPUCCI, H. Estudo da razão  $E_4/E_6$  e aromaticidade por RMN de  $^{13}C$  em estado sólido de AH de um Latossolo Roxo. **Encontro Brasileiro sobre substâncias húmicas**, 2, São Carlos. Anais. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, p.167, 1997.

COSER, T. R., FIGUEIREDO, C. C., RAMOS, M. L. G., JANNUZZI, H., MARCHÃO, R. L. Recuperação de carbono obtida por três métodos em frações da matéria orgânica de latossolo, sob consórcio milho-forrageiras, no cerrado. **Bioscience Journal**, 28 (1), 2012.

COZZOLINO, A., CONTE, P., PICCOLO, A. Conformational changes of humic substances induced by some hydroxy-, keto-, and sulfonic acids. **Soil Biology & Biochemistry**, 33, 563 – 571, 2001.

CQFS- COMISSAO DE QUIMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. Manual de adubação e de calagem. **Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo - Núcleo Regional Sul**. Porto Alegre (RS), 2004.

CUNHA, T. J. F., BASSOI, L.H., SIMÕES, M.L., NETO, L. M., PETRERE, V. G., RIBEIRO, P.R.A. Ácidos Húmicos em solo fertirrigado no Vale do São Francisco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 33 (6), 1583 - 1592, 2009.

CUNHA, T. J. F., MADARI, E.B.; BENITES, M.V.; CANELLAS, P.L.; NOVOTNY, H.E.; MOUTTA, O.R. TROMPOWSKY, M.P. E SANTOS, A.G. Fracionamento químico da matéria orgânica e características de ácidos húmicos de solos com horizonte a antrópico da Amazônia (Terra Preta). **Acta Amazônica**, 37(1), 91-98, 2007a.

CUNHA, T. J. F.; NOVOTNY, E. H.; MADARI, B. E.; NETO, L. M.; CANELLAS, L. P.; PETRERE, V. G. Estudo quimiométrico de características químicas e espectroscópicas de ácidos húmicos extraídos de solos com horizonte A antrópico. **XXXI Congresso Brasileiro de Ciências do solo: Conquistas e desafios da ciência do solo brasileira**, 2007b.

DE VOS, B.; LETTENS, S.; MUYS, B.; DECKERS, J. A. Walkley– Black analysis of forest soil organic carbon: recovery, limitations and uncertainty. **Soil Use and Management**, 23, 221–229, 2007.

DIAS, B.O, SILVA, C.A, SOARES, E.M.B., BETTIOL, W., GUERREIR, M.C., BELIZÁRIO, M.H. Infravermelho na caracterização de ácidos húmicos de latossolo sob efeito de uso contínuo de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 33 (4), 885 – 894, 2009.

DICK, D. P., SANTOS, J. H. Z., FERRANTI, E. M. Chemical characterization and infrared spectroscopy of soil organic matter from two southern Brazilian soils. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 27 (1), 29-39, 2003.

DICK, D.P., GOMES, J., ROSINHA P. B. Caracterização de substâncias húmicas extraídas de solos e de lodo orgânico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 22:603-611, 1998

DIECKOW, J., MIELNICZUK, J., KNICKER, H., BAYER, C., DICK, D.P., KÖGEL-KNABNER, I. Comparison of carbon and nitrogen determination methods for samples of a paleudult subjected to no-till cropping systems. **Scientia Agricola**. 64 (5), 532-540, 2007.

DING, G., NOVAK J. M., AMARASIRIWARDENA D., HUNT, P. G.; XING, B. Soil organic matter characteristics as affected by tillage management. **Soil Science Society of America Journal**, 66, 421-429, 2002.

DINIZ, J. S. **Teores de Glomalina e substâncias Húmicas em diferentes estágios sucessionais em floresta seca**. (Dissertação de Mestrado), Seropédica (RJ): UFRRJ, 2011.

DOBBSS, L. B., RUMJANECK, V. M., BALDOTTO, M. A., VELLOSO, A. C. X., CANELLAS, L. P. Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e fúlvicos isolados da camada superficial de latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 33, 51-63, 2009.

DOS SANTOS, C.H. **Estudo da matéria orgânica e composição elementar dos solos arenosos de regiões próximas a São Miguel da Cachoeira no Amazonas**. (Tese de Doutorado). São Carlos: USP, 2014.

DOS SANTOS, F.V. **Caracterização química e espectroscópica de solos de área recuperada após mineração de xisto**. (Dissertação de Mestrado). Curitiba: UFPR, 2009.

DOS SANTOS, J. V.; MANGRICH, A. S.; PEREIRA, B. F.; PILLON, C. N.; NOVOTNY, E. H.; BONAGAMBA, T. J.; ABBT- BRAUN, G.; FRIMMEL, F. H. <sup>13</sup>C and EPR Spectroscopic Evaluation of Oil Mined Soil Recuperation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 24, 1 – 7, 2013.

DOS SANTOS, J.V. **Dessorção de elementos em solos que receberam doses crescentes de xisto retornado**. (Tese de Doutorado). Curitiba: UFPR, 2015.

DOUMER, M.E.; GIACOMINI, S.J.; SILVEIRA, C.A.P.; WEILER, D.A.; BASTOS, L.M.; FREITAS, L.L. de. Atividade microbiana e enzimática em solo após a aplicação de xisto retornado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 46, 1538-1546, 2011.

DROUSSI, Z., D'ORAZIO, V., HAFIDI, M., OUATMANE, A. Elemental and spectroscopic characterization of humic-acid-like compounds during composting of olive mill by-products. **Journal of Hazardous Materials**, 163, 1289-1297, 2009.

DYNI, J. R. Geology and resources of some world oil-shale deposits. **Oil Shale Journal**, 20, 193-252, 2003.

EBELING, A. G., ANJOS, L. H. C., PEREIRA, M. G., VALLADARES, G. S., PÉREZ, D. V. Substâncias húmicas e suas relações com o grau de subsidência em Organossolos de diferentes ambientes de formação no Brasil. **Revista Ciência Agronômica**, 44 (2), 225-233, 2013.

EIA - U.S. Energy Information Administration, *EIA/ARI. Technically Recoverable Shale Gas and Shale Oil Resources Assessment*, 2015. Disponível em: <<http://www.eia.gov/analysis/studies/worldshalegas/>>. Acesso em: janeiro de 2016.

EMBRAPA SOLOS - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Sistema brasileiro de classificação de Solos, 3ª Edição 978-85-7035-198-2 Brasília, DF: **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Embrapa**, 2013  
FAHRAMAND, M., MORADI, H., NOORI, M., KOBHKHIZI, A., ADIBIAN, M., ABDOLLAHI, S, RIGI, K.. Influence of humic acid on increase yield of plants and soil properties. **International Journal of Farming and Allied Sciences**, 3 (3): 339-341, 2014

FERNANDES, A. N. **Caracterização química e reatividade de substâncias húmicas, solos e turfas**. (Tese de Doutorado). Florianópolis: UFSC, 2007.

FERNANDEZ, J.M., PLANTE, A.F., LEIFELD, J., RASMUSSEN, C. Methodological considerations for using thermal analysis in the characterization of soil organic matter. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. 104, 389–398, 2011.

FERNÁNDEZ, J.M., SENESI, N., PLAZA, C., BRUNETTI, G., POLO, A. Effects of composted and thermally dried sewage sludges on soil and soil humic acid properties. **Pedosphere**, 19(3), 281–291, 2009.

FERRARESI, T.M, SILVA, W.T.L, MARTIN-NETO, L., SILVEIRA, P.M e MADARI, B.E. Espectroscopia de infravermelho na determinação da textura do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 36:1769-1777, 2012.

FERRARI, E.; FRANCIOSO, O.; NARDI, S.; SALADINI, M.; DAL FERRO, N.; MORARI, F. DRIFT and HR MAS NMR characterization of humic substances from a soil treated with different organic and mineral fertilizers. **Journal of Molecular Structure**, 998, 216–224, 2011.

FERREIRA, A. B. **Avaliação do risco humano a poluentes atmosféricos por biomonitoramento passivo: Um estudo de caso em Sao Mateus do Sul, Paraná.** (Tese de Doutorado), Sao Paulo: USP, 2009.

FERREIRA, A.R. **CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESPECTROSCÓPICA DE ÁCIDOS HÚMICOS E SEDIMENTOS RETIRADOS DA BAÍA DE GUARATUBA-PR E AVALIAÇÃO DO NÍVEL DE POLUIÇÃO AMBIENTAL.** (Dissertação de Mestrado). UFPR, 2006

FERREIRA, F. P. **Caracterização das substancias húmicas extraídas do solo de manguezal de Pai Matos (Cananea, SP, BR) e de marismas da Espanha (Galícia e Valência).** (Tese de Doutorado), Piracicaba: USP, 2008.

FILEP, T., ZACHÁRY, D., BALOG, K., Assessment of soil quality of arable soils in Hungary using DRIFT spectroscopy and chemometrics. **Vibrational Spectroscopy**, In Press, Accepted Manuscript, 2016

FONTANA, A. **Fracionamento da matéria orgânica e caracterização dos ácidos húmicos e sua utilização no sistema brasileiro de classificação de solos.** (Tese de Doutorado). Seropédica (RJ): UFRRJ, 2009.

FRANCIOSO, O., CIAVATTA, C., MONTECCHIO, D. TUGNOLI, V., SANCHEZ-CORTES, S., GESSA, C. Quantitative estimation of peat, brown coal and lignite humic acids using chemical parameters, <sup>1</sup>H-NMR and DTA analyses. **Bioresource Technology**, 88, 189 - 195, 2003.

FRANCIOSO, O., MONTECCHIO, D., GIOACCHINI, P., CIAVATTA, C. Thermal analysis (TG-DTA) and isotopic characterization (<sup>13</sup>C–<sup>15</sup>N) of humic acids from different origins. **Applied Geochemistry**. 20, 537–544, 2005.

FRANCIOSO, O., MONTECCHIO, D., GIOACCHINI, P., CIAVATTA, C., TRUBETSKOJ, O., TRUBETSKAYA, O. Structural differences of Chernozem soil humic acids SEC–PAGE fractions revealed by thermal (TG–DTA) and spectroscopic (DRIFT) analyses, **Geoderma**, 152, 264–268, 2009.

GASCÓ, G., PAZ-FERREIRO, J., MÉNDEZ, A. Thermal analysis of soil amended with sewage sludge and biochar from sewage sludge pyrolysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 108, 769–775, 2012.

GATTO, A., BARROS, N.F., NOVAIS, R.F., SILVA, I.R., MENDONÇA, E.S., VILLANI, E.M.A. Comparação de métodos de determinação do carbono orgânico em solos cultivados com eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 33, 735-740, 2009.

GELADI, P., KOWALSK, B. R. Partial least-squares regression: a tutorial, **Analytica Chimica Acta**, v 185, p 1-117, 1986

GIACOMINI, D.A.; AITA, C.; DONEDA, A.; SANES, F. S. M.; ARENHARDT, M. H.; DESSBESELL, A.; LUDTKE, R.C.; ROSA, J.; SILVEIRA, C.S.A P Retorted shale addition in automated pig slurry composting to mitigate ammonia volatilization. **International Symposium on Emission of Gas and Dust from Livestock – Florianópolis, BR, 2015.**

GIOVANELA, M.; CRESPO, J. S.; ANTUNES, M.; ADAMATTI, D. S.; FERNANDES, A. N.; BARISON, A.; SILVA, C. W. P. da; GUEGAN, R.; MOTELICA-HEINO, M.; SIERRA, M. M. D. Chemical and spectroscopic characterization of humic acids extracted from the bottom sediments of a Brazilian subtropical microbasin. **Journal of Molecular Structure**, 981, 111-119, 2010.

GOSTEVA, O. YU., IZOSIMOV, A. A., PATSAEVA, S. V., YUZHAKOV, V. I., YAKIMENKO, O. S. Fluorescence of aqueous solutions of commercial humic products. **Journal of Applied Spectroscopy**, 78 (6), 884-891, 2012.

GREDELLA, A, VALLEJUELO, S.F.O., ELEJOSTE,N., DIEGO, A., MADARIAG, J.M., Non-destructive Spectroscopy combined with chemometrics as a tool for Green Chemical Analysis of environmental samples: A review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 76, 30-39, 2016.

HALIM, M., PICCOLO, A., SPACCINI, R., PARLANTI, E., AMEZGHAL, A. Differences in fluorescence properties between humic acid and its size fractions separated by preparative HPSEC. **Journal of Geochemical Exploration**, 129, 23- 27, 2013.

HAYES, M.H.B., SWIFT, R.S. The chemistry of soil organic colloids. In: GREENWOOD, D.J.; HAYES, M.H.B. (Ed.). *The Chemistry of Soil Constituents*. **Wiley, Inter-Science**, New York, 179-230, 1978.

HELAL, A. A., MURAD, G.A., HELAL, A.A. Characterization of different humic materials by various analytical techniques. **Arabian Journal of Chemistry**, 4, 51–54, 2011.

JABER, J. O., PROBERT, S. D. Environmental-impact assessment for the proposed oil-shale integrated tri-generation plant. **Applied Energy**, 62, 169-209, 1999.

JERKE, C. **Distribuição do carbono orgânico em solo sob plantio direto, em função de fontes e modos de aplicação de fertilizantes fosfatados**. (Dissertação de Mestrado). Brasília: UNB, 2011.

JEZIEWSKI, A., DROZD, J., JERZYKIEWICZ, M., CHEN, Y., KAYE, K. J. EPR in the environmental control: Copper complexes and free radicals in soil and municipal solid waste compost. **Applied Magnetic Resonance**, 14(2), 275-282, 1998.

KALBITZ, K., GEYER, S., GEYER, W. A comparative characterization of dissolved organic matter by means of original aqueous samples and isolated humic substances. **Chemosphere**, 40 (12), 1305–1312, 2000.



KHAYAMIM, F., WETTERLIND, J., KHADEMI, H., ROBERTSON, A.H.J., CANO, A.F., STENBERG, A.B. Using visible and near infrared spectroscopy to estimate carbonates and gypsum in soils in arid and subhumid regions of Isfahan, Iran. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, 23(3), 155–165, 2015.

KNOX, M.N., GRUNWALDC, S., MCDOWELLD, M.L., BRULANDD, G.L., MYERSC, D.B., HARRIS, W.G. Modelling soil carbon fractions with visible near-infrared (VNIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopy. **Geoderma**, 240, 229–239, 2015.

KONONOVA, M.M. Matéria orgânica del suelo: su naturaleza, propiedades y métodos de investigación. Barcelona, Oikos-Tou. 365.1982.

KRAY, C., ANDREAZZA, R., TEDESCO, M., BISSANI, C., BORTOLON, L., BORTOLON, E., GIANELLO, C. Decomposição de resíduo carbonífero e de curtume in vitro em argissolo vermelho distrófico típico. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, 35, 2, 2013.

LEÃO, R.E, GIACOMINI, S.J., REDIN, M., SOUZA, E.L., SILVEIRA, C.A.P. A adição de xisto retortado aumenta a retenção do carbono de resíduos vegetais no solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 49 (10), 818-822, 2014.

LEINWEBER, P., SCHULTEN, R., HORTE, C. Differential thermal analysis, thermogravimetry and in-source pyrolysis-mass spectrometry studies on the formation of soil organic matter. **Thermochimica Acta**, 200, 151-167, 1992.

LEITE, L.F.C, FERREIRA, J.S. , VELOSO, M.E.C , MOUSINHO, F.E.P. Variabilidade espacial das frações da matéria orgânica do solo em área degradada sob recuperação **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 19, 4, 394–401, 2015

LIMA, J.G.C, SCHULZE, S.M.B.B, RIBEIRO, M.R, BARRETO, S.B. Mineralogia de um Argissolo Vermelho-Amarelo da zona úmida costeira do Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32 (2), 2008

LIMA, A. M. N., SILVA, I. R., NEVES, J. C. L., NOVAIS, R. F., BARROS, N. F., MENDONÇA, E. S., DEMOLINARI, M. S. M., LEITE, F.P. Frações da matéria orgânica do solo após três décadas de cultivo de eucalipto no Vale do Rio Doce-MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32 (3), 1053-1063, 2008.

LOPES, A. S. Reservas de minerais potássicos e produção de fertilizantes potássicos no Brasil. In: POTÁSSIO NA AGRICULTURA BRASILEIRA, Piracicaba: **Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato**, 21-32, 2005.

LOPEZ-CAPEL, E., SOHI, S.P., GAUNT, J.L., MANNING, D.A.C. Use of thermogravimetry–Differential Scanning Calorimetry to characterize modelable soil organic matter fractions. **Soil Sci Soc Am J**, 69, 136–40, 2005.

LUPINACCI, F. **Estudo sobre a sazonalidade nas importações de fertilizantes no Brasil e dos valores de frete na rota Santos a Araçatuba**. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz": USP. Piracicaba, 2012.

LYRA, W.S., SILVA, E.C., ARAÚJO, M.C.U., FRAGOSO, W.D. Classificação periódica: um exemplo didático para ensinar análise de componentes principais. **Quim. Nova**, 33(7), 1594-1597, 2010.

Ma H, Gao M, Hua L, Chao H, Xu J. The stabilization of tannery sludge and the character of humic acid-like during low temperature pyrolysis. **Environ Sci Pollut Res**. v.22, n.21, p.791-802, 2015

MAILLARD, L.C. Genèse des Matières portéiques et des matière humiques: action de la glycérine et des sucres sur les acides  $\alpha$ -amines. **C.R. Acad. Sci.**, 156/148, 1913.

MANGRICH, A. S., SILVA, L., PEREIRA, B. F., MESSERCHMIDT, I. Proposal of EPR based method for pollution level monitoring in mangrove sediments. **J. Braz. Chem. Soc**, 20, 294-298, 2001.

MAO, J.D., OLK, D.C., FANG, X.W., HE, Z.Q., SCHMIDT-ROHR, K. Influence of animal manure application on the chemical structures of soil organic matter as investigated by advanced solid-state NMR and FT-IR spectroscopy. **Geoderma**, 146(1-2), 353-362, 2008.

MARASCHIN, A. J.; RAMOS, A.S. Breve abordagem histórica sobre o potencial energético dos folhelhos da formação Irati (Bacia do Paraná) no Estado do Rio Grande do Sul. **Boletim Geográfico do Rio Grande do Sul**. n.25, p.174-183, 2015.

MARCHÃO R.L., BRUNET D., BECQUER T. Predição dos teores de carbono e nitrogênio do solo utilizando espectroscopia de infravermelho próximo. (**Boletim de pesquisa e desenvolvimento**), Planaltina, DF : **Embrapa Cerrados**, 2011.

MARTENS, H.; NAES, T.; *Multivariate Calibration*; **John Wiley & Sons**; Chichester, 1991

MARTIN-NETO, L., NASCIMENTO, O.R., TALAMONI, J., POPPI, N.R. EPR of micronutrients-humic substances complexes extracted from a Brazilian soil. **Soil Science**, 51, 369-376. 1991.

MARTIN-NETO, L., SAAB, S. C. Anéis aromáticos condensados e relação E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub>: estudo de ácidos húmicos de gleissolos por RMN de <sup>13</sup>C no estado sólido utilizando a técnica CP/MAS desacoplamento defasado. **Química Nova**, 30, 260-263, 2007.

McCARTY, G.W., REEVE, J.B., YOST, R., DORAISWAMY, P.C., DOUMBIA, M. Evaluation of methods for measuring soil organic carbon in West African soils. **African Journal of Agricultural Research**, 5(16), 2169-2177, 2010.

MELO, V.F., GONÇALVES, C.E., SCHAEFER, R. Matéria Orgânica em Solos Desenvolvidos de Rochas Máficas no Nordeste de Roraima. **Acta Amazonia**, 39(1), 53 – 60, 2009.

MERDY, P., GUILLON, E., FRAPART, Y.M., APLINCOURT, M. Iron and manganese surface complex formation with extracted lignin. Part 2: characterisation of magnetic interaction between transition metal and quinonic radical by EPR microwave power saturation experiments. **New Journal of Chemistry**, 27 (3), 577-582, 2003.

MINEROPAR. Petróleo e Xisto pirobetuminoso. Disponível em: <http://www.mineropar.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=602010>> Acesso em: janeiro de 2016

NAGATA N., BUENO M.I.M.S., PERALTA-ZAMORA P.G. Métodos matemáticos para correção de interferências espectrais e efeitos interelementos na análise quantitativa por fluorescência de raios-X. **Química Nova**, Vol. 24, No. 4, 531-539, 2001.

NARIMOTO, K.M. **Técnicas espectroscópicas aplicadas à análise da matéria orgânica do solo em pomares de citros sob adição de lodo de esgoto. Dissertação** (Mestrado em Ciências – Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo. São Carlos. 2006.

NETO, B. B., SCARMINIO, I. S. E BRUNS, R. E., Como fazer experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria. **Campinas, SP. Editora da UNICAMP**. 413. 2001.

NETO, J. M., MOITA, G. C. Uma Introdução à Análise Exploratória de Dados Multivariados. **Química Nova**, v. 21, n. 4, p. 467-469. 1998.

NICOLINI, J., PEREIRA, B. F., PILLON, C. N., MACHADO, V. G., LOPES, W. A., ANDRADE, J. B., MANGRICH, A. S. Characterization of Brazilian oil shale byproducts planned for use as soil conditioner for food and agro-energy production. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, 90, 112-117, 2011.

NOVOTNY, E.H. Estudos espectroscópicos e cromatográficos de substâncias húmicas de solos sob diferentes sistemas de preparo. **(Tese de Doutorado). São Carlos: USP**, 2002.

NUZZO, A.; SÁNCHEZ, A.; FONTAINE, B.; PICCOLO, A. Conformational changes of dissolved humic and fulvic superstructures with progressive iron complexation. **Journal of Geochemical Exploration**, 129, 1–5, 2013.

OLENDZKI, R. N. **Caracterização das interações de substâncias húmicas com a matéria inorgânica em solos de cultivo de arroz irrigado: contribuição à aquisição de dados essenciais para avaliação global do seqüestro de carbono no solo.** (Tese de Doutorado). Curitiba: UFPR, 2006.

OLIVEIRA E.A.B. **Avaliação de método alternativo para extração e fracionamento de substâncias húmicas em fertilizantes orgânicos.** (Dissertação de Mestrado). Campinas (SP): Instituto Agrônômico, 2011.

PAINTER, P.; STARSINIC, M.; COLEMAN, M.; Determination of Functional Groups in Coal by Fourier Transform Interferometry, In: J. R. Ferraro e L.J. Basile, .Fourier Transform Spectroscopy., **Application to Chemical Systems, Academic Press**, London, 4, 169-241, 1985.

PATERNIANI, E. Agricultura sustentável nos trópicos. **Estudos Avançados**, 15 (43), 303-326, 2001.

PAVINATO(2) P.S, MERLIN(3) A. & ROSOLEM C.A. DISPONIBILIDADE DE CÁTIONS NO SOLO ALTERADA PELO SISTEMA DE MANEJO. R. Bras. Ci. Solo, 33:1031-1040, 2009

PEREIRA, B. F., SILVEIRA, C. A. P., PILLON, C. N., FERREIRA, L. H. G., Relatório técnico de atividades de pesquisa e desenvolvimento do projeto xisto agrícola. Caracterização Química – Avaliação de risco dos sólidos de xisto. **Projeto Xisto Agrícola**, 2009.

PEREIRA, H. S., VITTI, G. C. Efeito do uso do xisto em características químicas do solo e nutrição do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, 22 (2). 2004.

PESSOA, P. M. A., DUDA, G. P., BARROS, P. B., FREIRE, M. B. G. S., NASCIMENTO, C. W. A., CORREA, M. M. Frações de carbono orgânico de um latossolo húmico sob diferentes usos no agreste brasileiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 36 (1), 97-104, 2012.

PETROBRAS.SIX: **Unidade de Negócio da Industrialização do Xisto.** Disponível em: <<http://www.petrobras.com.br>>. Acesso em: abril de 2014

PEURAVUORI, J.; KOIVIKKO, R.; PHLAJA, K. Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy. **Water Research**, 36, 4552- 4562, 2002.

PICCOLO A The supramolecular structure of humic substances. **Soil Science**, 166:810-832, 2001.

PILLON, C.N., MIELNICZUK, J., MARTIN-NETO, L. Métodos de Fracionamento e Caracterização da Matéria Orgânica do Solo. **Embrapa Clima Temperado (Documentos 106)**, 19-25, 2002.

PIMENTA, A.S., SANTANA, J.A.S., ANJOS, R.M., BENITES, V.M., ARAÚJO, S.O. Caracterização de ácidos húmicos produzidos a partir de carvão vegetal de duas espécies florestais do semi-árido: jurema preta (mimosa tenuiflora) e pereiro (aspidosperma pyrifolium). **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**. v.4, n.4, p. 01 – 11, 2009

PIMENTEL, P.M.; OLIVEIRA, R. M. P. B.; MELO, D. M. A.; ANJOS, M. J.; GONZÁLEZ, G. Characterization of retorted shale for use in heavy metal removal. **Applied Clay Science**, 48, 375-378, 2010.

PIMENTEL, P.M.; SILVA JUNIOR, C.N.; MELO, D.M.A.; MELO, M.A.F.; MALDONADO, G.; HENRIQUE, D.M. Caracterização e uso de xisto para adsorção de chumbo (II) em solução. **Cerâmica**, 52, 194-199, 2006.

PIRES, A. M. M., MATTIAZZO, M. E. Avaliação da Viabilidade do Uso de Resíduos na Agricultura. **Circular técnica 19: Embrapa**, Jaguariúna-SP, 2008.

PRIMO, D. C., MENEZES, R. S. C., DA SILVA, T. O. Substâncias húmicas da matéria orgânica do solo: uma revisão de técnicas analíticas e estudos no nordeste brasileiro. **Scientia Plena**, 7 (5) , 2011.

R. O. SOUSA(2), H. BOHNEN(3) & E. J. MEURER(4) COMPOSIÇÃO DA SOLUÇÃO DE UM SOLO ALAGADO CONFORME A PROFUNDIDADE E O TEMPO DE ALAGAMENTO, UTILIZANDO NOVO MÉTODO DE COLETA. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 26:343-348, 2002

RIAL M., CORTIZAS A.M., RODRÍGUEZ-LADO L. Mapping soil organic carbon content using spectroscopic and environmental data. **Science of the Total Environment** , 539, 26–35, 2016.

RIFFALDI, R.; SCHNITZER, M. Electron spin resonance spectrometry of humic substances. **Soil Science Society of America Journal**, v. 36, p. 301-305, 1972.

ROCHA, J.C.; ROSA, A.H.; FURLAN, M. An Alternative methodology for extraction on humic substances from soils. **J. Braz. Chem. Soc**, 9 (1), 51-56, 1998.

RODRIGUEZ, F,J., SCHLENGER, P., GARCÍA-VALVERDE, M. A comprehensive structural evaluation of humic substances using several fluorescence techniques before and after ozonation. Part I: Structural characterization of humic substances. **Science of the Total Environment**, 718–730, 2014.

ROSA, A.H., ROCHA, J.C., FURLAN, M. Substâncias húmicas de turfa: Estudo dos parâmetros que influenciam no processo de extração alcalina. **Quím. Nova**, 23 (4), 472-476, 2000.

SAAB S.C., MARTIN-NETO L. Studies of semiquinone free radicals by ESR in the whole soil, HA, FA and humin substances. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 15 (1), 34-37, 2004.

SAITO; B., SECKLER, M. M. Alkaline extraction of humic substances from peat applied to organic-mineral fertilizer production. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v 31, n.3, 2014

SANCHES, S. M., CAMPOS, S.X., VIEIRA, E.M. Caracterização das frações das substâncias húmicas de diferentes tamanhos moleculares. **Eclética Química**, 32(1), 49-56, 2007.

SANTANA, S. G., DICK, D. P., JACQUES, A. V. A., CHITARRA, G. S. Substâncias húmicas e suas interações com Fe e Al em latossolo subtropical sob diferentes sistemas de manejo de pastagem. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 35, 461-472, 2011.

SANTIN, C., GONZALEZ-PEREZ, M., OTERO, X.L., ALVAREZ, M.A., MACIAS, F. Humic substances in estuarine soils colonized by *Spartina maritima*. **Estuarine Coastal and Shelf Science**, 81(4), 481-490, 2009.

SANTOS, A., WANDER, G.B., BELLIN, I.C., OLIVEIRA, L.C., ROCHA, J.C., MENDONÇA, A.G.R., GODINHO, A.F. Interaction between Humic Substances and Metallic Ions: a Selectivity Study of Humic Substances and their Possible Therapeutic Application. **J. Braz. Chem. Soc.**, 18(4), 824-830, 2007.

SANTOS, F. A. S.; MARIANO, R. S. R.; PIERANGELI, M. A. P.; SOUZA, C. A.; BAMPI, A. C. Atributos químicos e físicos de solos das margens do Rio Paraguai. **Ambi-Agua, Taubaté**, v. 8, n. 1, p. 239-249, 2013.

SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A O. Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais. **Ed. Genesis**, Porto Alegre, Brasil, 1999

SANTOS, L.M. **Dinâmica da matéria orgânica e destino de metais pesados em dois solos submetidos à adição de lodo de esgoto.** (Dissertação de Mestrado). Sao Carlos: USP, 2006.

SATO, J.H. **Métodos para determinação do carbono orgânico em solos do cerrado.** (Dissertação de Mestrado) – Brasília: UNB, 2013.

SCHNITZER M & KHAN SU Humic substances in the environment. **New York, Marcel Dekker**. 327p., 1972.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. A state of art structural concept for humic substances. **Natur wissen schaften**, v. 80, p. 29-30, 1993.

SENA M.M, POPPI R.J, FRIGHETTO R.T.S, VALARINI P.J. Avaliação do uso de métodos quimiométricos em análise de solos. **Química Nova**, 23(4), 547-556, 2000.

SENESI N.; MIANO, T.M.; PROVENZANO, M.R. & BRUNETTI, G. Characterization, differentiation and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**, v. 152, p. 259-271, 1991.

SENESI, N., D'ORAZIO, V., RICCA, G. Humic acids in the first generation of EUROSOILS. **Geoderma**, 116(3-4), 325-344, 2003.

SENESI, N., SCHNITZER, M. Effects of pH, reaction-time, chemical reduction and irradiation on ESR spectra of fulvic acid. **Soil Science**, 123 (4), 224-234, 1997.

SIERRA, M.M.D., GIOVANELA, M., PARLANTI, E., SORIANO-SIERRA, E.J. Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques. **Chemosphere**, 58, 715–733, 2005.

SILVA, E.E. da, AZEVEDO, P.H.S., DE-POLLI, H. Determinação da biomassa microbiana do solo (BMS-C). **Seropédica: Embrapa Agrobiologia (Comunicado técnico 98)**, 6 p, 2007.

SIMPSON, A. J. Determining the molecular weight, aggregation, structures and interactions of natural organic matter using diffusion ordered spectroscopy. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 40, p. 72-80, 2002

SIRTOLI, A. E., SERRAT, B. M., WISNIEWSKI, C. Manual de Diagnóstico da Fertilidade e Manejo dos Solos Agrícolas. 2ª edição Revisada e Ampliada. Ed. **UFPR/Departamento de Solos e Engenharia Agrícola**, 2006.

SKOOG, D. A, WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R. Fundamentos de Química Analítica, Editora Thomson, tradução da 8ª edição, 2006.

SOUZA A.M E POPPI R.J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte i. **Química Nova**, v 35, n.1, p.223-229, 2012

SOUZA, A.M., BREITKREITZ, M.C., FILGUEIRAS, P.R., ROHWEDDER, J.J.R., POPPI, R.J. Experimento didático de quimiometria para calibração multivariada na determinação de paracetamol em comprimidos comerciais utilizando espectroscopia no infravermelho próximo: um tutorial, parte II. **Química Nova**, 36 (7), 1057-1065, 2013.

SOUZA, A.M., COELHO, M.R., FIGUEIRAS, P., CUNHA, T.A.F., DART, R.O., PARÉS, J.G., SIMON, L.P., CRUZ, B.G. POPPI, R.J., SANTOS, M.L.M., BERBARA, R.L.L., Proposta de tutorial de Quimiometria utilizando técnicas modernas para a análise de solos. Resumos Expandidos- **VI Simpósio Brasileiro de Educação em Solos**, Sobral, CE, Brasil, 2012.

SOUZA, D.M., MADARI, B.E., GUIMARÃES, F.F. Aplicação de técnicas multivariadas e inteligência artificial na análise de espectros de infravermelho para determinação de matéria orgânica em amostras de solos. **Química Nova**, 35 (9), 1738-1745, 2012.

SPARKS, D.L. Environmental Soil Chemistry. 2nd Ed. Academic Press – **Elsevier Science, USA**. 2003.

STEVENSON, F.J., Humus chemistry: genesis, composition, reaction. 2<sup>nd</sup> Ed. **John Wiley & Sons, New York**. 1994.

SUTTON, R., SPOSITO, G. Molecular structure in soil humic substances: the new view. **Environmental Science & Technology**, 39:9009-9015., 2005.

TAJEDDINE, L., MOUNTACER, H., SARRAKHA, M. Effect of iron and humic acid on photodegradation of some pesticides adsorbed on clay surfaces. **Arabian Journal of Chemistry**, 3, 73–78, 2010.

TAN, K.H. Humic Matter in Soil and the Environment: Principles and Controversies. **CRC Press**, 2<sup>a</sup> edição, EUA, 2014.

TAO ZHANG A,B, JINFENG LU A, JUN MAA,\* , ZHIMIN QUIANG. Fluorescence spectroscopic characterization of DOM fractions isolated from a filtered river water after ozonation and catalytic ozonation. **Chemosphere**, 71 (2008) 911–921

TERRA, F.S. **Espectroscopia de reflectância do visível ao infravermelho médio aplicada aos estudos qualitativos e quantitativos de solos**. (Tese de Doutorado), Piracicaba (SP): USP, 2011.

TOMÉ, J. B. Manual para interpretação de análise de solo. **Guaíba: Agropecuária**, 1997.

VAN RAIJ, B.; Análise química do solo para fins de fertilidade, **Fundação Cargil, Campinas, Brasil**, 1987.

VAZ Jr., S. **Estudo da Sorção do antibiótico oxitetraciclina a solos e ácidos húmicos e avaliação dos mecanismos de interação envolvidos**. (Tese de Doutorado). Sao Carlos: USP, 2010.

VOHLAND, M., BESOLD, J., HILL, J., FRÜND, H.C. Comparing different multivariate calibration methods for the determination of soil organic carbon pools with visible to near infrared spectroscopy. **Geoderma**, 166 (1), 198–205, 2011.

VON LÜTZOW, M.; KOGEL-KNABNER, I.; WKSCMITT, K.; FLESSA, H.; GUGGENBERGER, G.; MATZNER, E.; MARSCHNER, B. SOM fractionation methods: Relevance to functional pools and to stabilization mechanisms. **Soil Biology Biochemistry**, 39, 2183-2207, 2007.

WALKLEY, A.; BLACK, I. A. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Science**, 37, 29-38, 1934.

WANDER, M.M.; TRAINA, S.J. Organic fractions from organically and conventionally managed soils: II Characterization. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, 60, 1087-1094, 1996.



WANG, X., WANG, J., ZHANG, J. Comparisons of Three Methods for Organic and Inorganic Carbon in Calcareous Soils of Northwestern China. **PloS One**, 7 (8), 2012.

WEIL, J. A, BOLTON, J. R., WERTZ, J. E, Electron paramagnetic resonance: Elementary theory and practical applications. **Nova york: Wiley**, 568, 1994.

WERSHAW, R.L. Model for humus in soils and sediments. **Environmental Science Technology**, 27:814-816, 1993.

WERSHAW, R.L., AIKEN, G.R. (Molecular size and weight measurements of humic substances. Humic substances in soil, sediment and water. **New York, Wiley**. p.477-492, 1985.

WILSON, M. J. ED. CLAY MINERALOGY: Spectroscopic and chemical determinative methods. London, **Chapman and Hall**, p. 173-225, 1994.

YEN, T. F., CHILINGARIAN, G. V. Oil shale. **Amsterdan: Elsevier**, 1976.

YOUNG, J.L., WISE, S.S., XIE, H., FUKUDA, C., WISE, J.P. Comparative cytotoxicity and genotoxicity of soluble and particulate hexavalent chromium in human and hawksbill sea turtle (*Eretmochelys imbricata*) skin cells. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C,178, 145–155, 2015.

ZANDONADI DB; SANTOS MP; MEDICI LO; SILVA J. 2014. Ação da matéria orgânica e suas frações sobre a fisiologia de hortaliças. **Horticultura Brasileira**. 32 (1), 14-20, 2014.

ZHOU, Y, ZHOU, C, ZHILONG, W., LIFENG, Z., XISHENG, H., HANXIAN, CHEN, J., Effects of Cutting Intensity on Soil Physical and Chemical Properties in a Mixed Natural Forest in Southeastern China. **Forests**, 6, 4495–4509, 2015.

ZSOLNAY, A.; BAIGAR, E.; JIMENEZ, M.; STEINWEG, B.; SACCOMANDI, F. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. **Chemosphere**, v. 38, p. 45-50, 1999.

## APÊNDICE 1 – VALORES DE REFERÊNCIA PARA INTERPRETAÇÃO DE ANÁLISES QUÍMICAS DO SOLO

Valores de referência para interpretação de análises químicas do solo expressos no Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (CQFS – RS/SC, 2004).

TABELA A: INTERPRETAÇÃO DE VALORES DE pH EM ÁGUA

Muito baixo	≤ 5,0
Baixo	5,1 – 5,4
Médio	5,5 – 6,0
Alto	> 6,0

Fonte: Adaptado de CQFS – RS/SC, 2004

TABELA B: INTERPRETAÇÃO PARA OS TEORES DE FÓSFORO E POTÁSSIO DO SOLO (mg/dm<sup>3</sup>)

	P	K
Muito baixo	≤ 5,0	≤ 30
Baixo	5,1 - 10,0	31-60
Médio	10,1 - 20,0	61-90
Alto	20,1 - 40,0	91-180
Muito alto	> 40,0	> 180

Fonte: Adaptado de CQFS – RS/SC, 2004

Observação: mg de K/dm<sup>3</sup> = cmol<sub>d</sub>/dm<sup>3</sup> x 391

TABELA C: INTERPRETAÇÃO PARA OS TEORES DE CÁLCIO E MAGNÉSIO DO SOLO (cmol<sub>d</sub>/dm<sup>3</sup>)

	Cálcio	Magnésio
Baixo	≤ 2,0	≤ 0,5
Médio	2,1 - 4,0	0,6 - 1,0
Alto	> 4,0	> 1,0

Fonte: Adaptado de CQFS – RS/SC, 2004