

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA**

NATHALIE MERLIN

**ESPECTROSCOPIA DE FTIR, ALIADA A FERRAMENTAS
QUIMIOMÉTRICAS, NA CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE
AMOSTRAS DE SOLO E ÁCIDO HÚMICO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PATO BRANCO

2014

NATHALIE MERLIN

**ESPECTROSCOPIA DE FTIR, ALIADA A FERRAMENTAS
QUIMIOMÉTRICAS, NA CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE
AMOSTRAS DE SOLO E ÁCIDO HÚMICO**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Larissa Macedo dos Santos.

Coorientador: Prof. Dr. Vanderlei Aparecido de Lima.

PATO BRANCO
2014

TERMO DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado **ESPECTROSCOPIA DE FTIR, ALIADA A FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS, NA CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE AMOSTRAS DE SOLO E ÁCIDO HÚMICO** foi considerado APROVADO de acordo com a ata da banca examinadora N° **3.1.2014-B** de 2014.

Fizeram parte da banca:

Larissa Macedo dos Santos

Vanderlei Aparecido de Lima

Daiana Marafão

Dedico à minha mãe, Marines, à minha avó, Nerci, e ao meu padrinho, Jacir. Não existem palavras que demonstrem o amor, a admiração e a gratidão que sinto por vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida, pela determinação para alcançar meus objetivos e pelas pessoas que conheci durante a graduação.

À minha mãe, pelo amor incondicional, pelo apoio em todos os momentos da minha vida, pelos conselhos, por acreditar em mim, pela educação, por todo o esforço dedicado à minha formação, por ser meu exemplo. À minha avó e ao meu padrinho, pelo amor e carinho a mim dedicados.

Aos meus familiares e amigos, por me manterem forte, pelo carinho e incentivo.

À minha amiga Thays, pelos anos de amizade e por, mesmo estando longe, sempre me apoiar e me dar forças para continuar.

À minha amiga Mariana, por sua amizade, companheirismo e incentivo, pelo apoio desde o início da graduação, pelos momentos de descontração, pelas conversas.

Às minhas amigas Jacqueline e Giulia, por alegrarem meus dias durante a graduação, pelas conversas, pelo apoio nos momentos de necessidade.

Aos meus amigos da Central de Análises, Mariéli e Matheus, pois sem sua ajuda tudo teria sido mais difícil.

À Fundação Araucária, à CAPES e ao CNPq, pelo apoio financeiro (processo: 484934/2011-2).

Ao IAPAR de Pato Branco, PR, e ao Renato Yagi pelas amostras de solo.

À mestranda Daiana Marafão, pela gentileza, disponibilidade e tempo dedicado para a correção deste trabalho, e por suas sugestões, que, sem dúvida alguma, o enriqueceram.

Ao professor Dr. Vanderlei Aparecido de Lima, pela dedicação em transmitir seus conhecimentos, pelo carinho com o qual sempre me tratou e por toda a ajuda, que foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

À professora Dra. Larissa Macedo dos Santos que, além de orientadora, é também uma grande amiga e incentivadora, pela confiança, paciência, dedicação e por todos os ensinamentos transmitidos durante os dois anos de orientação.

Aos meus professores do Departamento de Química, por transmitirem seus conhecimentos com tanta dedicação.

RESUMO

MERLIN, Nathalie. Espectroscopia de FTIR, aliada a ferramentas quimiométricas, na caracterização estrutural de amostras de solo e ácido húmico. 2014. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso – curso de Bacharelado em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2014.

A matéria orgânica apresenta fundamental importância para o solo, pois atua positivamente sobre várias de suas propriedades. Os minerais, que, juntamente com a matéria orgânica, formam a fase sólida do solo, têm influência sobre o fornecimento de nutrientes para as plantas e a estrutura do solo. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi aprofundar os estudos referentes à aplicação da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier na caracterização estrutural do solo e da matéria orgânica. Para tal propósito, foram utilizadas quatro amostras coletadas da camada superficial (0-10 cm) de um Latossolo Vermelho distroférrico típico, as quais passaram por fracionamento químico e tratamento com ácido fluorídrico 10%. Os resultados obtidos através dos diversos testes mostraram que: (1) a massa de brometo de potássio utilizada na pastilha do *background* interfere nas características dos espectros das amostras; (2) após o fracionamento químico algumas impurezas minerais ainda persistiram nas amostras de ácido húmico e interferiram nos espectros; (3) o tratamento com ácido fluorídrico 10%, da forma como foi realizado, não foi eficiente para promover a desmineralização das amostras de solo, uma vez que os espectros antes e após o tratamento foram bastante similares, além disso, também não foi capaz de eliminar as impurezas minerais das amostras de ácido húmico, entretanto, neste caso, permitiu a identificação de uma banda importante para o cálculo do índice de aromaticidade; (4) o ajuste da linha de base interfere significativamente nas intensidades das absorções e também no valor do índice de aromaticidade; (5) o emprego de ferramentas quimiométricas, como a análise de componentes principais e o teste *t* pareado, é de suma importância para dar consistência à avaliação qualitativa.

Palavras-chave: Análise de Componentes Principais. Teste *t*. Linha de Base. Matéria Orgânica.

ABSTRACT

MERLIN, Nathalie. FTIR spectroscopy, using chemometric tools, on structural characterization of soil and humic acid samples. 2014. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso – curso de Bacharelado em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2014.

Organic matter has fundamental importance for the soil, because it acts positively on several of soil properties. The minerals, along with the organic matter, form the solid phase of the soil, and have influence on the supply of nutrients for plants and soil structure. Therefore, the aim of the present work was to complement the studies about the application of Fourier transform infrared spectroscopy on structural characterization of soil and of organic matter. For this, four samples collected from the surface (0-10 cm) of a typical Oxisol passed by chemical fractionation and 10% hydrofluoric acid treatment to be used on the analysis. The results of the several tests showed that: (1) the amount of potassium bromide used on background pellet interfere on the characteristics of samples spectra; (2) after the chemical fractionation some of mineral impurities stayed on humic acid samples and interfere on the spectra; (3) the 10% hydrofluoric acid treatment, the way it was done, was not efficient to eliminate the minerals of soil samples, since the spectra before and after the treatment were very similar, it was not efficient to eliminate the mineral impurities of humic acid samples too, however, allowed the identification of a important band to calculate the aromaticity index; (4) the baseline adjustment interfere significantly on absorptions intensities and on aromaticity index value too; (5) the use of chemometric tools like the principal component analysis and the paired *t* test is very important to give consistence to the qualitative evaluation.

Keywords: Principal Component Analysis. *t* Test. Baseline. Organic Matter.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Modelo de estrutura das SH como um agregado de moléculas menores. Em vermelho são representados os cátions metálicos, em preto os polissacarídeos, em azul os polipeptídios, em verde as cadeias alifáticas e em marrom os fragmentos aromáticos.....	18
Figura 2 – Vibrações típicas de ligações químicas na região do infravermelho	20
Figura 3 – Espectros de FTIR obtidos a partir da pastilha com 1,5 mg de solo (amostra 77) e 150 mg de KBr, previamente corrigidos com os <i>backgrounds</i> de 50, 60, 80, 100, 120 e 150 mg de KBr.....	29
Figura 4 – Gráficos de ACP obtidos com os dados dos espectros de FTIR do teste de <i>background</i> nas regiões (a) 3720 a 3170 cm^{-1} e (b) 1270 a 872 cm^{-1}	30
Figura 5 – Espectros de FTIR obtidos para as amostras de solo coletadas na profundidade de 0-10 cm, onde ¹ e ² indicam que as medidas foram realizadas em duplicata.....	31
Figura 6 – Espectros de FTIR obtidos para as amostras de AH, onde ¹ e ² indicam que as medidas foram realizadas em duplicata	33
Figura 7 – Gráficos de ACP obtidos com os dados dos espectros de FTIR das amostras de solo e AH nas regiões (a) 3712 a 3413 cm^{-1} e (b) 3412 a 2800 cm^{-1} , onde S representa as amostras de solo.....	36
Figura 8 – Espectros de FTIR obtidos para as amostras de solo após tratamento com HF 10%, onde ¹ e ² indicam que as medidas foram realizadas em duplicata.	38
Figura 9 – Gráfico de ACP obtido com os dados dos espectros de FTIR das amostras de solo antes (S) e após tratamento com HF 10% (SHF) na região de 3712 a 3170 cm^{-1}	39
Figura 10 – Espectros de FTIR obtidos para as amostras de AH após o tratamento com HF 10%, onde ¹ e ² indicam que as medidas foram realizadas em duplicata	40
Figura 11 – Gráfico de ACP obtido com os dados dos espectros de FTIR das amostras de AH antes e após tratamento com HF 10% na região de 3712 a 3160 cm^{-1} , onde AHHF representa as amostras de AH que passaram pelo tratamento	41
Figura 12 – Gráficos de ACP obtidos com os dados dos espectros de FTIR das amostras de AH antes e após o tratamento com HF 10% nas regiões (a) 3000 a 2800 cm^{-1} e (b) 1790 a 1500 cm^{-1} , onde AHHF representa as amostras de AH que passaram pelo tratamento.....	42
Figura 13 – Comparação entre os espectros de solo da amostra 71 ² antes e após o ajuste da LB	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Índices de aromaticidade das amostras 71, 73, 77 e 78, calculados a partir dos dados dos espectros de AH após o tratamento com HF 10%, sendo $n = 2$	43
Tabela 2 – Índices de aromaticidade das amostras 71, 73, 77 e 78 calculados, antes e após o ajuste da LB, a partir dos dados dos espectros de AH depois do tratamento com HF 10%, sendo $n = 2$	45

LISTA DE ABREVIATURAS

AF	Ácido fúlvico
AH	Ácido húmico
FTIR	Infravermelho com transformada de Fourier
Hum	Humina
IAPAR	Instituto Agronômico do Paraná
IHSS	Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas
LB	Linha de base
MO	Matéria orgânica
ACP	Análise de componentes principais
rpm	Rotações por minuto
SH	Substâncias húmicas
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
¹³ C RMN CPMAS	Ressonância magnética nuclear de ¹³ C no estado sólido

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3 REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 SOLO	14
3.1.1 A Fase Sólida Mineral do Solo	14
3.1.2 A Fase Sólida Orgânica do Solo.....	15
3.1.2.1 O processo de humificação	16
3.1.2.2 Substâncias húmicas.....	17
3.1.2.2.1 Fracionamento químico das substâncias húmicas	18
3.2 TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS PARA ANÁLISE DO SOLO	19
3.2.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier	19
3.3 TRATAMENTO DO SOLO COM HF 10%	21
4 METODOLOGIA	23
4.1 ÁREA EXPERIMENTAL	23
4.2 COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS	23
4.2.1 Descrição das Amostras Avaliadas	23
4.3 FRACIONAMENTO QUÍMICO	24
4.4 TRATAMENTO COM HF 10%	25
4.5 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER	25
4.5.1 Teste de <i>Background</i>	25
4.5.2 Obtenção dos Espectros	26
4.5.3 Ajuste da Linha de Base.....	26
4.5.4 Interpretação dos Espectros.....	26
4.5.5 Índice de Aromaticidade	27
4.5.6 Influência do Ajuste da Linha de Base	27
4.6 FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS.....	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1 TESTE DE <i>BACKGROUND</i>	28
5.2 ESPECTROS DO SOLO	31
5.3 ESPECTROS DO ÁCIDO HÚMICO	33
5.4 TRATAMENTO COM HF 10%	37
5.4.1 Espectros do Solo Após Tratamento com HF 10%	37
5.4.2 Espectros do Ácido Húmico Após Tratamento com HF 10%	40
5.5 ÍNDICE DE AROMATICIDADE	43
5.6 A INFLUÊNCIA DO AJUSTE DA LINHA DE BASE	44
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

A matéria orgânica (MO) exerce papel fundamental para o solo. Devido a sua alta capacidade de interagir com outros componentes, interfere na disponibilidade de nutrientes, no desenvolvimento das plantas e na capacidade produtiva dos solos (ERNANI, 2008, p. 188; SILVA; CAMARGO; CERETTA, 2010, p. 59). Os minerais, por sua vez, são fundamentais para o fornecimento de nutrientes para as plantas (MARTINS, 2009b, p. 24), e a distribuição do tamanho das suas partículas está relacionada com a estrutura do solo (BRINATTI, 2001, p. 4). Juntos, MO e minerais formam a fase sólida do solo (GIASSON, 2010, p. 17).

Em decorrência de tamanha importância, a fase sólida do solo, principalmente sua parte orgânica, tem despertado o interesse de pesquisadores, e as técnicas espectroscópicas podem contribuir muito para estes estudos. Na caracterização mineralógica do solo, as técnicas espectroscópicas permitem a identificação dos minerais presentes nas amostras (GONÇALVES et al., 2008; MARTINS, 2009b) e, quando o foco do estudo é a MO, permitem a observação de mudanças na estrutura dos grupos funcionais que a constituem (CANELLAS et al., 2001, p. 1530). Uma técnica amplamente utilizada em ambos os casos é a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

No estudo da MO do solo, a FTIR proporciona a identificação dos grupos funcionais e, além disso, pode informar sobre a proporção entre os grupos aromáticos e alifáticos através do cálculo do índice de aromaticidade (DICK et al., 2008, p. 2295; ROSA et al., 2008, p. 1593), fornecendo informações sobre o grau de humificação da MO do solo. Todavia, para que seja possível avaliar a MO do solo por meio da FTIR, é necessário realizar o fracionamento químico das substâncias húmicas (SH) ou um tratamento que seja capaz de solubilizar e, assim, eliminar os minerais das amostras, como a desmineralização com ácido fluorídrico (HF) 10%.

Dentro deste contexto, o presente trabalho pretende contribuir com os estudos realizados até o momento acerca da aplicação da FTIR na caracterização estrutural do solo e da MO do solo. Para este propósito, quatro amostras de um Latossolo Vermelho distroférico típico, coletadas na camada de 0-10 cm, passaram por fracionamento químico e tratamento com HF 10%. As amostras de solo e de ácido húmico (AH), antes e após o tratamento, foram caracterizadas por meio da

espectroscopia de FTIR e as diferenças entre os espectros foram avaliadas qualitativamente e através do emprego de ferramentas quimiométricas. Em conjunto, estas avaliações também permitiram observar se o fracionamento químico e o tratamento com HF 10% foram eficientes. Também foi calculado o índice de aromaticidade através dos dados dos espectros de AH após o tratamento com HF 10%. Além disto, buscou-se inferir sobre a influência do ajuste da linha de base (LB) nos espectros de FTIR e no índice de aromaticidade, qualitativamente e por meio de ferramentas quimiométricas, bem como sobre a interferência do *background* nos espectros das amostras.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Aprofundar os estudos referentes à aplicação da espectroscopia de FTIR para a caracterização estrutural do solo e da MO do solo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o fracionamento químico das amostras de solo (Latosolo Vermelho distroférico típico) para a obtenção da fração AH.
- Realizar o tratamento químico com HF 10% nas amostras de solo e AH.
- Avaliar, por meio do teste de *background*, se a massa de brometo de potássio (KBr) utilizada na pastilha do *background* interfere nas características dos espectros de FTIR das amostras, e aplicar a análise de componentes principais (ACP) para avaliar os resultados.
- Analisar as amostras de solo e de AH por FTIR, antes e após o tratamento com HF 10%.
- Identificar, qualitativamente, as diferenças entre os espectros de solo e AH, bem como entre os mesmos obtidos antes e após o tratamento com HF 10%, e aplicar a ACP para avaliar tais diferenças.
- Calcular o índice de aromaticidade, antes e depois de ajustar a LB.
- Identificar, qualitativamente, as diferenças entre os espectros antes e depois do ajuste da LB.
- Aplicar o teste *t* pareado para avaliar as diferenças promovidas pelo ajuste da LB nos espectros e no índice de aromaticidade.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 SOLO

O solo consiste no corpo natural da superfície terrestre, capaz de sustentar plantas, reter água, armazenar e transformar resíduos. É constituído por minerais e materiais orgânicos que, através do tempo, vão sendo transformados pela ação de fatores como clima e organismos vivos. Também é formado por três fases diferentes: sólida, líquida e gasosa (GIASSON, 2010).

A fase líquida consiste na solução do solo e é formada por água e substâncias nela dissolvidas. O ar que preenche os poros do solo compõe a fase gasosa. A fase sólida, por sua vez, compõe cerca de 50% do solo. Sua importância está no seu estreito contato com a fase líquida: é a fase sólida que controla, em grande parte, a composição da solução do solo, e é desta solução que as plantas retiram os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento (GIASSON, 2010; INDA JUNIOR; KLAMT; NASCIMENTO, 2010, p. 29).

3.1.1 A Fase Sólida Mineral do Solo

Os minerais originalmente presentes nas rochas da crosta terrestre são transformados ao longo do tempo por meio de processos físicos, químicos e biológicos, dando origem a novos minerais e liberando íons. Estes últimos participam da formação do solo, interferem nas características da sua estrutura/textura, já que as partículas minerais formam agregados de tamanho e forma diferentes, e servem como nutrientes para as plantas (BRINATTI, 2001, p. 4; INDA JUNIOR; KLAMT; NASCIMENTO, 2010, p. 29).

Dentre os elementos químicos encontrados no solo, destacam-se oxigênio, silício, alumínio, ferro, cálcio, potássio, sódio e magnésio. Destes, os mais abundantes são oxigênio e silício, portanto os minerais mais comuns encontrados no

solo devem conter estes dois elementos na sua estrutura cristalina (INDA JUNIOR; KLAMT; NASCIMENTO, 2010).

3.1.1.1 Minerais primários

Dos minerais primários, o quartzo está entre os principais. Estão presentes em maior quantidade nos solos mais jovens e, principalmente, nas frações granulométricas de maior diâmetro (areia e silte). Muitos deles são de fácil intemperização, porém outros, como o quartzo, são muito resistentes ao intemperismo (ERNANI, 2008, p. 31).

3.1.1.2 Minerais secundários

Os minerais secundários são encontrados na fração argila do solo, com destaque para os argilominerais e os óxidos de ferro e alumínio (VAN RAIJ, 2011, p. 13). Dentre os argilominerais, a caulinita ocorre de forma predominante nos solos bem intemperizados das regiões tropicais e subtropicais do planeta, tais como os Latossolos (ERNANI, 2008, p. 37; INDA JUNIOR; KLAMT; NASCIMENTO, 2010, p. 41).

A caulinita é um argilomineral do tipo 1:1, ou seja, formado por uma lâmina de tetraedros de dióxido de silício e uma lâmina de octaedros de trióxido de alumínio (VAN RAIJ, 2011, p. 14). Nos solos com predomínio de argilominerais deste tipo, a capacidade de troca de cátions e a fertilidade são baixas, enquanto que a acidez é elevada, porém as propriedades físicas são boas (ERNANI, 2008, p. 34).

3.1.2 A Fase Sólida Orgânica do Solo

A MO tem origem no processo da fotossíntese, quando os vegetais clorofilados transformam gás carbônico, oxigênio e hidrogênio em compostos orgânicos (VAN RAIJ, 2011, p.15). De acordo com Silva, Camargo e Ceretta (2010, p. 60), o termo “MO do solo” se refere a todos os compostos presentes no solo que apresentam carbono orgânico, tais como microrganismos vivos e mortos, substâncias orgânicas microbiologicamente e/ou quimicamente alteradas, resíduos de plantas e animais em decomposição e os produtos desta decomposição.

Apesar de representar menos de 5% dos constituintes sólidos do solo, a MO possui alta capacidade de interagir com outros componentes e, por isso, apresenta grande influência sobre a disponibilidade de nutrientes, o desenvolvimento das plantas e a capacidade produtiva dos solos (ERNANI, 2008, p. 188; SILVA; CAMARGO; CERETTA, 2010, p. 59). Dentre as características do solo afetadas positivamente pela MO estão a capacidade de troca de cátions e de retenção de água, atividade microbiana, estrutura, aeração e temperatura. Além disto, a MO também minimiza o risco de erosão, pois reduz a compactação do solo e a formação de crostas (NYAKATAWA; REDDY; SISTANI, 2001, p. 69).

Em decorrência da sua natureza extremamente complexa, a MO do solo e de resíduos pode ser dividida, teoricamente, em dois grandes grupos: as substâncias não-húmicas, representadas por compostos orgânicos que apresentam composição e estrutura química conhecidas, tais como açúcares, proteínas, gorduras, ácidos orgânicos de baixo peso molecular e resinas, e as SH, que são os compostos presentes em maior quantidade na composição da MO do solo (CANELLAS et al., 2001, p. 1529; SILVA; CAMARGO; CERETTA, 2010). Assim como suas características, os efeitos destas duas frações sobre as propriedades e atributos do solo são bastante diferentes (ERNANI, 2008, p. 188).

3.1.2.1 O processo de humificação

De acordo com Tatzber et al. (2008, p. 266), o processo de humificação está relacionado, entre outros fatores, com incrementos no caráter aromático das moléculas, com a presença de maior quantidade de anéis aromáticos e/ou estruturas poliaromáticas condensadas e com o grau de substituição nos anéis aromáticos com

grupos funcionais polares. Para complementar, segundo Zech et al. (1997, p. 153), as principais transformações que ocorrem durante a humificação são a perda de polissacarídeos e radicais fenólicos, modificação de estruturas de lignina e o enriquecimento em estruturas aromáticas.

Desta forma, compreende-se que o processo de humificação da MO está intimamente ligado com a sua estabilização. Estruturas mais humificadas, portanto, permanecem no solo por mais tempo e tem influência mais duradoura sobre as propriedades do solo.

3.1.2.2 Substâncias húmicas

As SH representam quase a totalidade da MO do solo, são substâncias de coloração escura, alto peso molecular e extremamente complexas, constituídas por um grande número de anéis benzênicos que possuem inúmeros grupos funcionais em suas extremidades (aminas, cetonas e, principalmente, carboxilas e hidroxilas fenólicas). A presença desses grupos funcionais confere às SH uma alta capacidade de reagir com metais, argilominerais, óxidos e várias moléculas orgânicas, permitindo que estejam envolvidas na maioria das reações químicas do solo (ERNANI, 2008, p. 194; SILVA; CAMARGO; CERETTA, 2010, p. 63).

Em decorrência da alta complexidade química e estrutural das SH, elas não possuem uma fórmula molecular bem definida. Estudos recentes, tais como os de Conte et al. (2007), indicaram que as SH consistem em agregados supramoleculares de moléculas heterogêneas relativamente pequenas mantidas unidas por forças dispersivas. Para complementar, Simpson et al. (2002) mostraram que o alto peso molecular das SH deve ser decorrente do fato de formarem agregados, cuja formação e estabilidade se devem principalmente à presença de cátions metálicos de ocorrência natural, e propuseram um modelo para a estrutura das SH, mostrado na Figura 1.

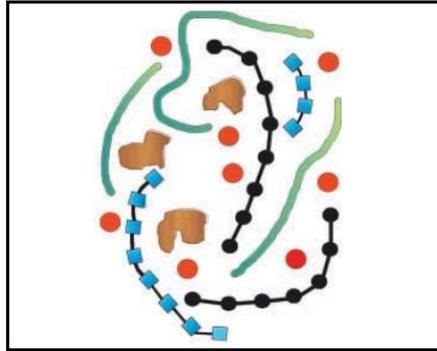


Figura 1 – Modelo de estrutura das SH como um agregado de moléculas menores. Em vermelho são representados os cátions metálicos, em preto os polissacarídeos, em azul os polipeptídios, em verde as cadeias alifáticas e em marrom os fragmentos aromáticos

Fonte: Simpson et al. (2002, p. 88).

Neste contexto, uma das contribuições das SH para o ambiente consiste na sua capacidade de complexar metais. De acordo com Zhou, Yan e Gu (2005, p. 1335) a presença das SH pode fornecer estratégias para minimizar o impacto ambiental causado por metais pesados e poluentes, tanto no solo como em águas subterrâneas, através da complexação e/ou mobilização dos íons destes metais.

3.1.2.2.1 Fracionamento químico das substâncias húmicas

Em meio à tamanha complexidade, as SH podem ser separadas em três frações, de acordo com a sua solubilidade em meio ácido e básico: as huminas (Hum), que representam a MO ligada à fração mineral do solo e são insolúveis em todo o intervalo de pH; os ácidos fúlvicos (AF), que apresentam grande quantidade de grupos funcionais oxigenados e são solúveis em todo o intervalo de pH; e os AH, que consistem na fração reativa mais estável das SH e são insolúveis em meio ácido (CANELLAS et al., 2001, p. 1530).

Esta segregação ocorre por meio do fracionamento químico, cujo procedimento consiste em tratar as amostras de solo, sequencialmente, com soluções de hidróxido de sódio (NaOH) e ácido clorídrico (HCl), conforme o método descrito pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) (SWIFT, 1996).

Vários trabalhos disponíveis na literatura utilizam o fracionamento químico para realizar diversos estudos em conjunto com técnicas espectroscópicas. Recentemente, Traversa et al. (2014) utilizaram o método para isolar os AH de vários horizontes de solos coletados em duas áreas climáticas diferentes e, assim, avaliar suas características químicas e espectroscópicas, tais como o grau de humificação.

3.2 TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS PARA ANÁLISE DO SOLO

Ter conhecimento sobre a composição da MO do solo e a estrutura dos seus componentes é fundamental para compreender o comportamento da MO perante as alterações provocadas pelos sistemas de manejo do solo (ROSA, 2010, p. 52). O uso de técnicas espectroscópicas pode auxiliar no entendimento destes processos, uma vez que permite a identificação dos grupos funcionais e estruturas moleculares que constituem a MO (GONZÁLEZ PÉREZ et al., 2004, p. 182).

Uma técnica amplamente utilizada neste sentido é a espectroscopia de FTIR. De acordo com Martins (2009b, p. 51), um dos objetivos do estudo das SH através da FTIR é determinar se não há contaminantes minerais nas amostras. Estudos como os de Senesi, D’Orazio e Ricca (2003) mostram que a interpretação das bandas de absorção dos espectros de FTIR de amostras de AH permite identificar os grupos funcionais presentes na sua estrutura.

A FTIR também pode ser utilizada na análise mineralógica do solo. Gonçalves et al. (2008, p. 2649) identificaram, nos espectros de FTIR de amostras de um Latossolo submetido a diferentes sistemas de manejo, bandas de absorção que indicam a presença de vários minerais: gibbsita, caulinita, haloisita, montmorilonita e quartzo.

3.2.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

A região espectral do infravermelho compreende três regiões caracterizadas, dentre outros fatores, pela faixa de número de onda, sendo elas infravermelho próximo (12800 a 4000 cm^{-1}), médio (4000 a 200 cm^{-1}) e distante (200 a 10 cm^{-1}). Das três regiões, a mais utilizada em análise espectroscópica é a do infravermelho médio, uma vez que engloba a maioria dos grupos de absorção (MARTINS, 2009a).

A absorção na região do infravermelho é causada por vibrações de estiramento e dobramento (ou deformação) das ligações químicas das moléculas. Nas vibrações de estiramento, ocorre variação do comprimento das ligações entre os átomos, enquanto que nas vibrações de dobramento a posição dos átomos muda em relação ao plano de ligação original, como mostra a Figura 2. Neste processo, são absorvidas as frequências de radiação que equivalem às frequências vibracionais naturais da molécula, de modo que a energia absorvida aumenta a amplitude de vibração das ligações. Todavia, apenas ligações que apresentam momento de dipolo são capazes de absorver radiação no infravermelho (MARTINS, 2009a, p. 37; PAVIA et al., 2010, p. 17).

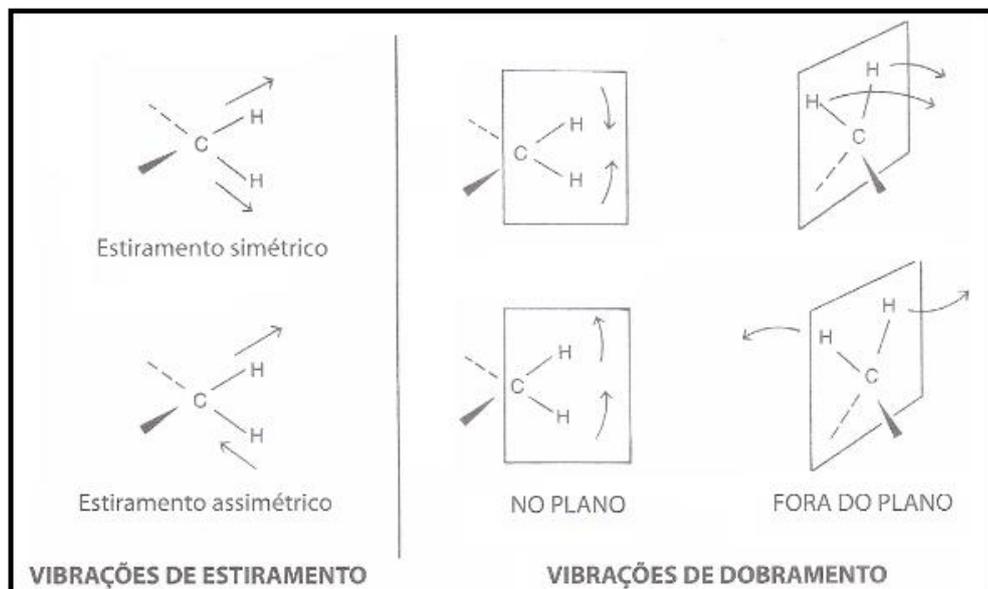


Figura 2 – Vibrações típicas de ligações químicas na região do infravermelho

Fonte: Adaptado de Pavia (2010, p. 19).

Neste contexto, a FTIR vem sendo amplamente utilizada como ferramenta na investigação dos grupos funcionais presentes na MO do solo, pois pode fornecer

importantes informações sobre a natureza, a reatividade e o arranjo estrutural dos seus grupamentos oxigenados, além de identificar a presença de proteínas, carboidratos e impurezas minerais. O resultado da aplicação desta técnica na caracterização da MO do solo consiste em um espectro complexo, que contém uma variedade de bandas correspondentes a ligações de carbono específicas (diferentes grupos funcionais) presentes na mistura complexa de moléculas que constitui a MO (ROSA, 2010, p. 26; STEVENSON, 1994).

Entretanto, para caracterizar a MO do solo a partir da FTIR e evitar a interferência de sinais de absorção de material inorgânico, é importante a realização de um fracionamento químico prévio, uma vez que a MO geralmente está presente no solo em pequena quantidade e associada aos seus demais constituintes (ROSA, 2010, p. 25). Desta forma, os espectros de FTIR de amostras de solo são comumente utilizados para avaliar a sua composição mineralógica e, quando o foco do estudo é a MO, faz-se a extração das SH.

Outra informação importante que pode ser obtida a partir dos espectros de FTIR das SH (AH ou AF) é o índice de aromaticidade (CASTILHOS et al., 2008; ROSA et al., 2008; POTES et al., 2010). O cálculo consiste na divisão da intensidade de absorção em 1630 cm^{-1} , que corresponde aos grupos aromáticos, pela intensidade de absorção em 2920 cm^{-1} , referente aos grupos alifáticos (CHEFTEZ et al., 1996). Desta forma, de acordo com Dick et al. (2008, p. 2295) e Rosa et al. (2008, p. 1593), o índice de aromaticidade informa sobre o grau de insaturação/saturação das amostras, tornando possível expressar a proporção entre tais grupos.

O motivo pelo qual o índice de aromaticidade é sempre calculado a partir dos espectros de AH ou HF, de acordo com Castilhos et al. (2008, p. 2672), consiste no fato de que os espectros das amostras que não passaram por fracionamento químico apresentam muitas bandas referentes à fração inorgânica, que, por sua vez, podem interferir no cálculo.

3.3 TRATAMENTO DO SOLO COM HF 10%

O tratamento do solo com HF 10% é um método que vem sendo utilizado para remover os minerais das amostras e, assim, caracterizar a MO através de técnicas espectroscópicas diversas, tal como mostram os trabalhos de Gonçalves et al. (2003), Dick et al. (2005), Dick et al. (2006) e Dick et al. (2008).

Algumas características interessantes com relação a este tratamento foram reveladas por Gonçalves et al. (2003). Seus resultados mostraram que, para amostras de horizontes diferentes de um mesmo tipo de solo, o número de extrações durante o procedimento interfere na eficiência do método. Outro fator importante levantado por Gonçalves et al. (2003, p. 378) é o fato de que as partículas de quartzo da fração areia tendem a ser resistentes ao tratamento com HF 10%, que solubiliza, principalmente, os minerais da fração argila. Para finalizar, as análises realizadas por estes autores mostraram também que o houve perdas de carbono durante o processo, mas estas perdas não ocorreram preferencialmente para grupos específicos de carbono e, por isso, não foram observadas alterações consistentes na distribuição dos grupos funcionais através dos espectros de ressonância magnética nuclear de ^{13}C no estado sólido (^{13}C RMN CPMAS).

4 METODOLOGIA

4.1 ÁREA EXPERIMENTAL

O experimento foi implantado em 2010 na Unidade Regional de Pesquisa Sudoeste, na Estação Experimental do Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), em Pato Branco, Paraná, em área cultivada sob sistema de plantio direto há 17 anos ininterruptos. As coordenadas geográficas da área são: latitude 26°07'16"S, longitude 52°39'37"W e altitude de 730 m. De acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 2009), o solo estudado é classificado como Latossolo Vermelho distroférico típico.

Os tratamentos avaliados no experimento foram: dois métodos de preparo do solo (plantio direto e convencional sobre plantio direto); a aplicação ou não de calcário; e a aplicação de doses de 0, 60, 120, 240 e 360 kg ha⁻¹ de N-uréia. O experimento foi conduzido em quatro blocos.

4.2 COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras de solo foram coletadas nas profundidades 0-10, 10-20 e 20-40 cm, após 18 meses do início do experimento. Depois de coletadas, foram secas em estufa a 40 °C, moídas em moinho de facas e peneiradas em peneira com malha de 2 mm.

4.2.1 Descrição das Amostras Avaliadas

Para fins deste trabalho, as amostras de solo selecionadas foram as seguintes:

- 71 – método de preparo do solo: plantio direto; sem calagem; sem adição de N-uréia; profundidade: 0-10 cm.
- 73 – método de preparo do solo: plantio direto; sem calagem; adição de 360 kg ha⁻¹ de N-uréia; profundidade: 0-10 cm.
- 77 – método de preparo do solo: plantio direto; com calagem; adição de 360 kg ha⁻¹ de N-uréia; profundidade: 0-10 cm.
- 78 – método de preparo do solo: plantio direto; com calagem; sem adição de N-uréia; profundidade: 0-10 cm.

Durante todo o desenvolvimento do trabalho, as amostras foram denominadas tal como no croqui experimental, ou seja: 71, 73, 77 e 78.

4.3 FRACIONAMENTO QUÍMICO

O fracionamento químico, para a obtenção da fração AH, foi baseado na metodologia proposta pela IHSS (SWIFT, 1996). Primeiramente, foram pesados 20 g de solo e adicionados 200 mL de solução de HCl 0,1 mol L⁻¹, a mistura foi submetida a agitação durante 1 hora e, em seguida, deixada em repouso por 4 horas para separar, por decantação, o sobrenadante do resíduo. O sobrenadante (primeira parcela de AF) foi retirado e armazenado. Ao precipitado foram adicionados 200 mL de solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹, a mistura ficou novamente sob agitação durante 4 horas e, posteriormente, em repouso por 16 horas. O resíduo (Hum) foi separado do sobrenadante (AF + AH) e descartado. O sobrenadante coletado foi centrifugado durante 10 minutos a 6000 rotações por minuto (rpm) para eliminação da argila e, posteriormente, acidificado com 8 mL de solução de HCl 6 mol L⁻¹ e deixado em repouso para decantação. Após 12 horas de repouso, o sobrenadante (segunda parcela de AF) foi retirado e armazenado. O precipitado consiste na fração de AH e foi transferido para frascos adequados, para ser congelado e posteriormente liofilizado.

O AH, previamente extraído e liofilizado, foi triturado com o auxílio de almofariz e pistilo. Apenas esta fração, que consiste na porção mais humificada da MO, será caracterizada neste trabalho. O resíduo de AF foi tratado por meio de filtração e neutralização com NaOH 0,1 mol L⁻¹.

4.4 TRATAMENTO COM HF 10%

A desmineralização com solução HF 10%, tanto do solo quanto do AH obtido após o fracionamento químico, foi baseada no método descrito por Gonçalves et al. (2003, p. 376). Primeiramente, foram pesados 2 g de cada amostra em tubos de polietileno de 15 mL. Depois da adição de 6 mL da solução HF 10% em cada um dos tubos, estes foram fechados e agitados por 2 horas. Em seguida, foram centrifugados por 10 minutos a 3000 rpm. O sobrenadante foi removido e armazenado, para posterior tratamento. Este procedimento foi repetido duas vezes, ou seja, foram realizadas duas extrações sucessivas. O resíduo sólido resultante do procedimento foi lavado com 5 mL de água destilada, por 3 vezes, para a remoção do HF residual. Finalmente, foi congelado e liofilizado.

4.5 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

As amostras de solo e AH, bem como de solo e AH tratados com HF 10%, foram mantidas em dessecador até a realização das medidas. O KBr foi colocado em estufa a 105 °C para secar por 48 horas antes do procedimento. O método para a obtenção dos espectros de FTIR das amostras foi baseado na metodologia proposta por Stevenson (1994).

4.5.1 Teste de *Background*

Este teste foi realizado com o intuito de avaliar se variações na massa de KBr utilizada para produzir a pastilha do *background* (prova em branco) podem interferir no espectro obtido para as amostras. Para isto, foram preparadas pastilhas

com 50, 60, 80, 100, 120 e 150 mg de KBr e uma com 1,5 mg de solo (amostra 77) e 150 mg de KBr. Sucessivos espectros, da mesma pastilha de amostra, foram obtidos utilizando-se os diferentes *backgrounds* para corrigi-los.

4.5.2 Obtenção dos Espectros

Após a avaliação dos resultados do teste de *background*, definiu-se que as pastilhas seriam produzidas a partir de 2,4 mg de amostra e 120 mg de KBr. O procedimento de pesagem foi realizado em balança analítica de precisão e, imediatamente, foram efetuadas a homogeneização com almofariz e pistilo e a prensagem (8 toneladas por 2 minutos). Os espectros foram obtidos a partir de 64 varreduras no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução espectral de 4 cm^{-1} , em duplicata, utilizando-se o espectrômetro Frontier da Perkin Elmer FT-IR da Central de Análises da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Pato Branco.

4.5.3 Ajuste da Linha de Base

O ajuste da LB dos espectros de FTIR das amostras foi realizado utilizando-se o programa do próprio equipamento.

4.5.4 Interpretação dos Espectros

A interpretação dos espectros de FTIR das amostras de solo e de AH foi feita com base em trabalhos disponíveis na literatura. A partir destes dados, foi possível avaliar as diferenças e semelhanças entre os espectros de solo e AH, antes e após o tratamento com HF 10%, bem como inferir sobre a eficiência deste tratamento e do fracionamento químico.

4.5.5 Índice de Aromaticidade

O índice de aromaticidade foi calculado a partir dos dados de FTIR das amostras de AH após o tratamento com HF 10%. O cálculo consiste na divisão entre a intensidade de absorção em torno de 1630 cm^{-1} , referente aos grupos aromáticos, e a intensidade em 2920 cm^{-1} , atribuída aos grupos alifáticos (CHEFTEZ et al., 1996). O valor das intensidades foi obtido utilizando-se o programa do próprio equipamento, antes e depois da realização do ajuste da LB.

4.5.6 Influência do Ajuste da Linha de Base

Para avaliar se há diferenças significativas entre os espectros de FTIR antes e após o ajuste da LB, uma das duplicatas da amostra 71 foi selecionada, aleatoriamente, e os espectros do solo, do solo após o tratamento com HF 10%, do AH e do AH após o tratamento foram comparados entre si, antes e depois do ajuste. Outro parâmetro utilizado com esta finalidade foi o índice de aromaticidade.

4.6 FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS

Para avaliar os resultados do teste de *background*, bem como as diferenças entre os espectros de solo e AH, antes e após o tratamento com HF 10%, foi utilizada a ACP. Para avaliar a influência do ajuste da LB nas características dos espectros e também no índice de aromaticidade foi utilizado o teste *t* pareado.

Ambas as ferramentas quimiométricas foram aplicadas empregando-se o programa STATISTICA 8.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TESTE DE *BACKGROUND*

A grande maioria dos trabalhos encontrados na literatura que empregam a FTIR para caracterizar amostras de solo ou AH (CANELLAS et al., 2001; COCOZZA et al., 2003; CASTILHOS et al., 2008; DICK et al., 2008; GONÇALVES et al., 2008; ROSA et al., 2008; BRINATTI et al., 2010; POTES et al., 2010; TIVET et al. 2013; TRAVERSA et al., 2014) utilizam o KBr para homogeneizar a amostra e fazer as pastilhas. Para evitar que os sinais provenientes do KBr interfiram nos espectros das amostras, é importante que os mesmos sejam corrigidos através da realização de um *background* com o próprio KBr.

Dentro deste contexto, o teste de *background* foi realizado com a finalidade de avaliar se a massa de KBr utilizada para fazer a pastilha do *background* interfere nas características dos espectros de FTIR das amostras. As pastilhas de *background* foram obtidas a partir de 50, 60, 80, 100, 120 e 150 mg de KBr. Para avaliar a possível influência, sucessivos espectros da amostra 77, cuja pastilha foi obtida com 1,5 mg de solo e 150 mg de KBr, foram corrigidos com cada um dos *backgrounds* descritos anteriormente. Os espectros obtidos são mostrados na Figura 3.

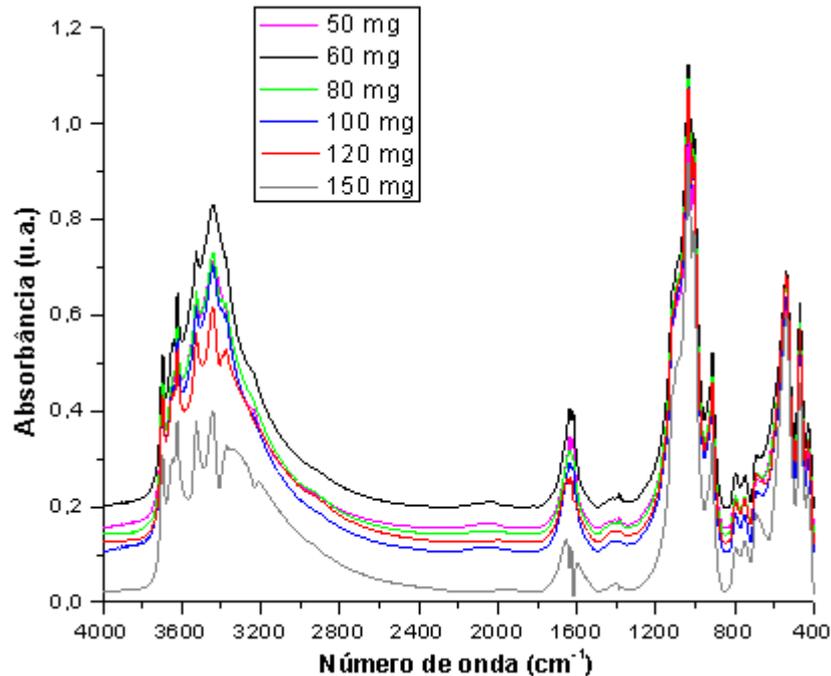


Figura 3 – Espectros de FTIR obtidos a partir da pastilha com 1,5 mg de solo (amostra 77) e 150 mg de KBr, previamente corrigidos com os *backgrounds* de 50, 60, 80, 100, 120 e 150 mg de KBr

Fonte: Dados da pesquisa.

Através da Figura 3, é possível perceber que todos os espectros de FTIR apresentaram uma discreta variação qualitativa entre si, porém, a diferença mais evidente ocorre quando o espectro obtido com o *background* de 150 mg de KBr é comparado com os demais. Para avaliar estes resultados, algumas regiões espectrais foram selecionadas para a realização da ACP. De acordo com os gráficos de ACP obtidos com os dados das regiões 3720-3170 cm^{-1} (Figura 4a), 1759-1509 cm^{-1} (dados não mostrados), 1270-872 cm^{-1} (Figura 4b) e 820-400 cm^{-1} (dados não mostrados), o espectro obtido com o *background* de 150 mg de KBr é realmente diferente, uma vez que ficou isolado dos demais em todos os gráficos.

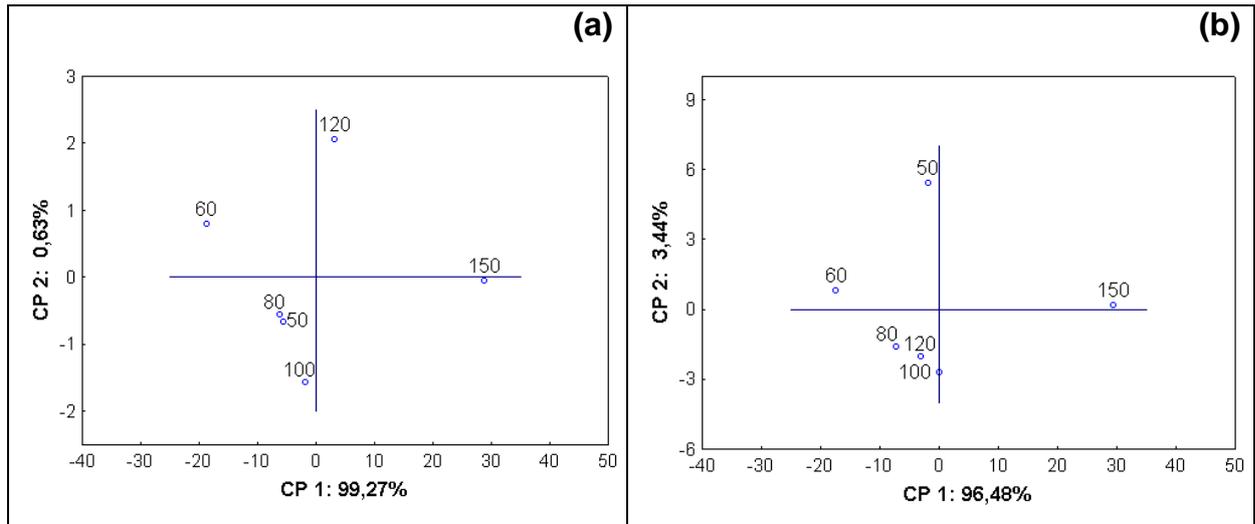


Figura 4 – Gráficos de ACP obtidos com os dados dos espectros de FTIR do teste de *background* nas regiões (a) 3720 a 3170 cm⁻¹ e (b) 1270 a 872 cm⁻¹

Fonte: Dados da pesquisa.

Uma das diferenças qualitativas mais evidentes entre o espectro obtido com o *background* de 150 mg de KBr e os demais está na região entre 3720 e 3170 cm⁻¹ (Figura 3). O gráfico de ACP desta região espectral (Figura 4a) comprova esta observação e mostra, ainda, que os espectros obtidos com os *backgrounds* de 80, 50 e 100 mg de KBr apresentam similaridade, pois, segundo a CP1 (99,27%) e a CP2 (0,63%), estes encontram-se no mesmo quadrante.

Por outro lado, na região entre 1270 e 872 cm⁻¹ os espectros parecem bastante semelhantes (Figura 3). Apesar disso, a ACP desta região espectral mostra que, segundo a CP1 (que explica 96,48% da variabilidade dos dados), há diferença entre o espectro corrigido com o *background* de 150 mg de KBr e os demais (Figura 4b).

Através do teste de *background* e do tratamento estatístico, portanto, observou-se que a massa de KBr utilizada na pastilha do *background* interfere nas características dos espectros das amostras. Utilizando-se *background* com até 120 mg de KBr, os sinais produzidos pelos 150 mg de KBr da pastilha da amostra 77 podem não ter sido totalmente descontados (Figura 3). Desta forma, sugere-se que a massa de KBr empregada para fazer as pastilhas das amostras deve a mesma da utilizada no *background*. Tendo em vista todos os resultados do teste e do tratamento estatístico, optou-se por utilizar 120 mg de KBr, tanto na pastilha do *background* como nas das amostras.

5.2 ESPECTROS DO SOLO

Os espectros de FTIR dos solos estudados apresentaram picos de absorvância bem característicos, como pode ser observado na Figura 5, muito semelhantes aos obtidos por Gonçalves (2008, p. 106), Martins (2009b, p. 98) e Tivet et al. (2013, p. 76).

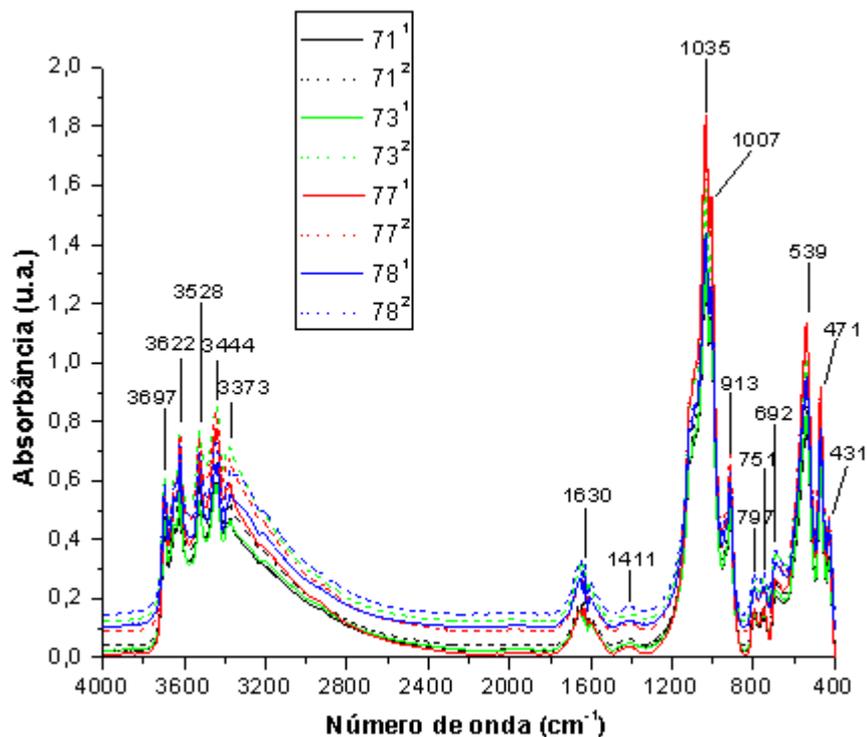


Figura 5 – Espectros de FTIR obtidos para as amostras de solo coletadas na profundidade de 0-10 cm, onde ¹ e ² indicam que as medidas foram realizadas em duplicata

Fonte: Dados da pesquisa.

Os espectros de FTIR das amostras de solo são bastante complexos (Figura 5) e, através da sua interpretação, é possível avaliar qualitativamente a composição estrutural do solo. As devidas atribuições para as bandas presentes foram realizadas de acordo com trabalhos da literatura.

Os picos observados em 3697 e 3622 cm^{-1} podem ser atribuídos a vibrações de grupos hidroxila em caulinita (CASTELLANO et al., 2010, p. 450), ou ainda, de acordo com Martins (2009b, p. 97), esta região corresponde ao grupo caulim, onde podem ser observadas bandas de vibração de caulinita e haloisita. As bandas na região entre 3528 e 3373 cm^{-1} correspondem ao estiramento de grupos OH em gibbsita (MARTINS, 2009b, p. 97; BRINATTI et al., 2010, p. 460; TIVET et al., 2013, p. 77). A absorção em 1630 cm^{-1} pode ser decorrente de vibrações de C=C em grupos aromáticos e vibrações C=O de grupos COO^- (COCOZZA et al., 2003, p. 55), mas também pode indicar a presença de haloisita, vermiculita e montmorilonita (MARTINS, 2009b, p. 97). Em 1411 cm^{-1} , ocorrem vibrações de dobramento de CH alifático, dobramento C–OH de grupos COOH ou estiramento simétrico de COO^- (TIVET et al., 2013, p. 77), todavia, esta absorção também pode ser decorrente da presença de vermiculita (GONÇALVES, 2008, p. 106; MARTINS, 2009b, p. 97). O pico intenso em 1035 e 1007 cm^{-1} corresponde ao estiramento de Si–O–Si e a absorção em 913 cm^{-1} pode ser atribuída à vibração de grupos hidroxila, ambos em caulinita (CASTELLANO et al., 2010, p. 450). As absorções observadas em 797, 751 e 692 cm^{-1} são característicos da presença de quartzo (BRINATTI et al., 2010, p. 460). Por fim, as bandas em 539, 471 e 431 cm^{-1} são decorrentes de vibrações envolvendo íons Al^{3+} e também de dobramentos Si–O–Si em caulinita (CASTELLANO et al., 2010, p. 450).

Ao todo, foram observadas quinze regiões de absorção, as quais sugerem a presença dos minerais: caulinita, haloisita, gibbsita, vermiculita, montmorilonita e quartzo, destacando-se a caulinita por ser indicada em várias destas regiões. Segundo Ernani (2008, p. 37) e Inda Júnior, Klamt e Nascimento (2010, p. 41), a caulinita é o argilomineral predominante nos solos bem intemperizados das regiões tropicais e subtropicais do planeta, incluindo os Latossolos.

Como pode ser observado através da interpretação dos espectros de FTIR do solo, as bandas referentes à fração mineral se destacam e sobrepõem as possíveis absorções oriundas de grupos funcionais da MO, impedindo sua identificação. De acordo com Ernani (2008, p. 188) e Giasson (2010, p. 18), a MO representa até 5% da fase sólida do solo, sendo o restante constituído por minerais. A predominância da fração inorgânica na composição da fase sólida do solo explica as bandas observadas nos espectros de FTIR mostrados na Figura 5.

5.3 ESPECTROS DO ÁCIDO HÚMICO

A fim de identificar os grupos funcionais da MO do solo através dos espectros de FTIR, portanto, foi necessário realizar o fracionamento químico das SH. Os espectros de FTIR obtidos para as amostras de AH apresentaram bandas bastante semelhantes quando comparados entre si, com diferença apenas intensidades, como pode ser observado através da Figura 6. Por outro lado, ao serem comparados com os espectros de AH de outros trabalhos, tais como Canellas et al. (2001, p. 1534), Senesi, D'Orazio e Ricca (2003, p. 331), González-Pérez et al. (2008, p. 431), Rosa et al. (2008, p. 1593), Tatzber et al. (2008, p. 259), Santos et al. (2010, p. 8) e Traversa et al. (2014, p. 188), nota-se algumas diferenças, principalmente na região espectral entre 3600 e 2800 cm^{-1} .

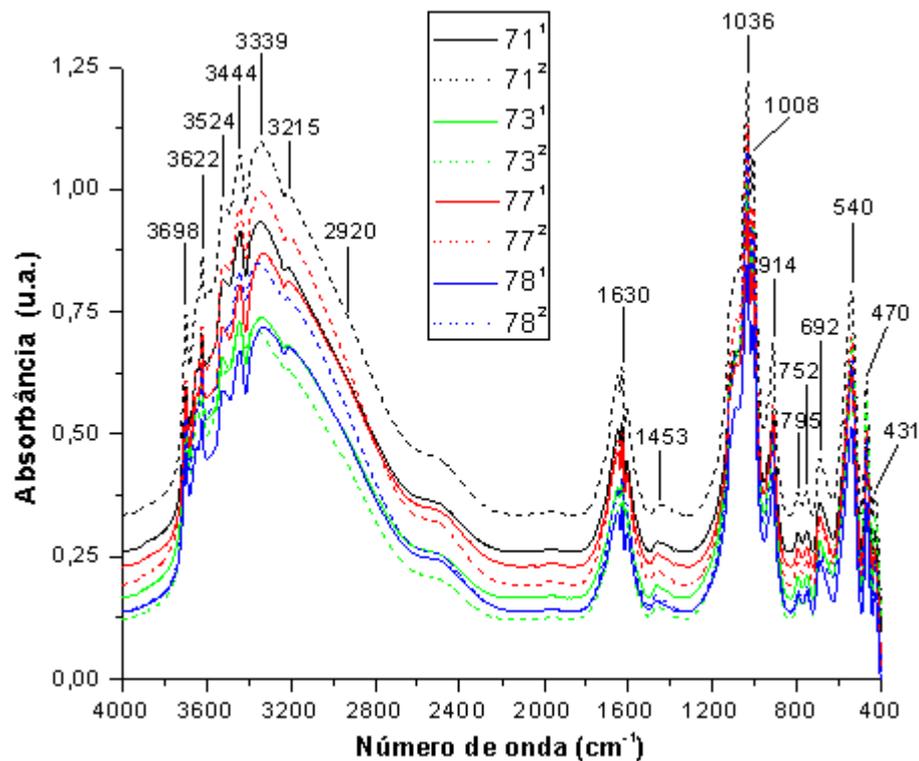


Figura 6 – Espectros de FTIR obtidos para as amostras de AH, onde ¹ e ² indicam que as medidas foram realizadas em duplicata

Fonte: Dados da pesquisa.

Uma das diferenças entre os espectros obtidos (Figura 6) e os espectros dos trabalhos citados acima consiste na permanência das bandas de absorção entre 3698 e 3444 cm^{-1} , que indicam a presença de impurezas minerais nas amostras de AH. Mais precisamente, são sinais de caulinita, haloisita e gibbsita (MARTINS, 2009b, p. 97; BRINATTI et al., 2010, p. 460; CASTELLANO et al., 2010, p. 450; TIVET et al., 2013, p. 77).

A banda com absorção máxima em 3339 cm^{-1} é decorrente do estiramento O–H de hidrogênio ligado a grupos OH de fenóis e alcoóis (SENESI et al, 1989, p. 148; STEVENSON, 1994; COCOZZA et al., 2003, p. 55; SOLOMON et al., 2007, p. 2292) e, ainda, do estiramento N–H (STEVENSON, 1994; SOLOMON et al., 2007, p. 2292).

Dois absorções características de material humificado ficam localizadas em 2920 e 2852 cm^{-1} , decorrentes de vibrações de estiramento assimétrico e simétrico de C–H alifático (CH_3 e CH_2) (SENESI; D'ORAZIO; RICCA, 2003, p. 332; SOLOMON et al., 2007, p. 2292; DICK et al., 2008, p. 2295; ROSA et al., 2008, p. 1593). Todavia, tais bandas não aparecem nos espectros de AH obtidos. A interferência das bandas de material inorgânico possivelmente é responsável por este fato.

A absorção com intensidade máxima em 1630 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento C=C de grupos aromáticos e C=O do íon carboxilato ($-\text{COO}^-$) (SENESI; D'ORAZIO; RICCA, 2003, p. 332; DICK et al., 2008, p. 2295; ROSA et al., 2008, p. 1593) e ao estiramento C=O de amidas e quinonas (SENESI; D'ORAZIO; RICCA, 2003, p. 332). As bandas de baixa intensidade em torno de 1453 cm^{-1} são referentes à deformação de C–H alifático (SENESI; D'ORAZIO; RICCA, 2003, p. 332; ROSA et al., 2008, p. 1593).

O pico intenso em 1036 cm^{-1} pode ser atribuído ao estiramento C–O de polissacarídeos (COCOZZA et al., 2003, p. 55; SENESI; D'ORAZIO; RICCA, 2003, p. 332). Porém, devido à sua grande intensidade, possivelmente há contribuição de vibrações de estiramento Si–O–Si em caulinita (CASTELLANO et al., 2010, p. 450). A absorção em 914 cm^{-1} é decorrente de vibrações de C–H aromático e de $-\text{CH}_2-$ alifático (SENESI et al, 1989, p. 148) e também da vibração de grupos hidroxila em caulinita (CASTELLANO et al., 2010, p. 450). Em virtude da presença de impurezas minerais nas amostras de AH, as bandas entre 1036 e 470 cm^{-1} dos espectros de FTIR obtidos no presente trabalho apresentaram maior intensidade quando

comparadas com trabalhos semelhantes (CANELLAS et al., 2001, p. 1534; SENESI; D'ORAZIO; RICCA, 2003, p. 331; ROSA et al., 2008, p. 1593; SANTOS et al., 2010, p. 8; TRAVERSA et al., 2014, p. 188).

Através da interpretação dos espectros do AH, foi possível perceber que, apesar da realização do fracionamento químico, muitas bandas referentes aos minerais presentes no solo persistiram. De acordo com Ernani (2008, p. 194), a existência de um grande número de sítios ionizáveis na estrutura das SH, aliada a sua alta área superficial específica, permitem uma alta capacidade de reagir com os argilominerais do solo. Segundo Silva, Camargo e Ceretta (2010, p. 76), esta interação entre os grupos funcionais da MO, principalmente das SH, e os presentes na superfície dos minerais pode ocorrer por diferentes mecanismos químicos que, por sua vez, apresentam energia diferente. Neste sentido, uma explicação para a permanência das bandas referentes aos constituintes inorgânicos do solo, mesmo após o fracionamento químico, talvez esteja relacionada com estas interações. O tratamento químico com NaOH e HCl pode não ter sido suficiente para romper as ligações entre os AH e a superfície dos minerais.

Apesar da presença de impurezas minerais nas amostras de AH, os espectros destas amostras apresentaram algumas características diferentes dos espectros de solo.

Através da Figura 6, é possível perceber que as amostras de AH apresentaram o mesmo perfil espectral do solo (Figura 5) na região entre 3700 e 3400 cm^{-1} . Contudo, no gráfico de ACP obtido a partir desta região, onde a CP1 explica 94,15% da variabilidade dos dados e a CP2 4,04%, ocorre a formação de dois grupos, um composto pelas amostras de solo e outro por AH (Figura 7a). Por isso, apesar da semelhança descrita na análise qualitativa, decorrente da permanência das bandas referentes à caulinita, haloisita e gibbsita nos espectros de AH, estatisticamente as amostras apresentam diferenças. Resultado similar foi encontrado na ACP da região espectral de 1280 a 880 cm^{-1} (dados não mostrados), onde a CP1 explica 65,94% da variabilidade dos dados e a CP2 33,78%.

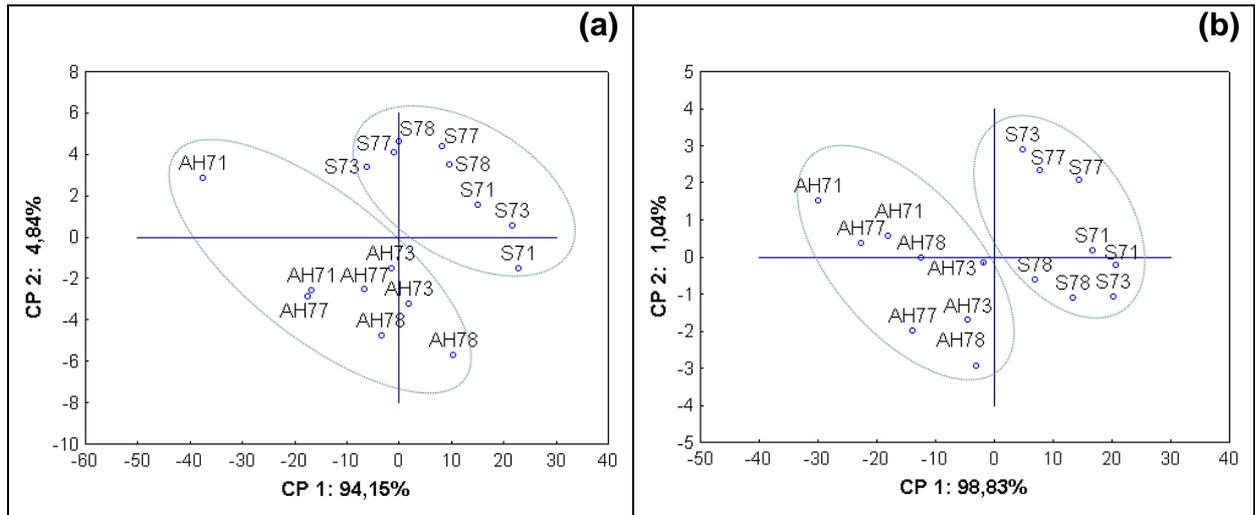


Figura 7 – Gráficos de ACP obtidos com os dados dos espectros de FTIR das amostras de solo e AH nas regiões (a) 3712 a 3413 cm⁻¹ e (b) 3412 a 2800 cm⁻¹, onde S representa as amostras de solo

Fonte: Dados da pesquisa.

A diferença qualitativa mais evidente entre os espectros de FTIR das amostras de solo e AH é observada na região entre 3412 e 2800 cm⁻¹ (Figuras 5 e 6) onde ocorre uma banda mais arredondada e de maior intensidade nos espectros de AH. O gráfico de ACP obtido com os dados desta região espectral (Figura 7b) mostra que a CP1, que explica 98,83% da variabilidade dos dados, separa as amostras em dois grupos, um constituído por AH e outro por solo. O fracionamento químico, portanto, revelou a presença dos grupamentos O-H e N-H da MO, que não esteve aparente nos espectros do solo. Resultado similar foi observado para a ACP na região de 1760 a 1500 cm⁻¹, onde a CP1 explica 99,18% da variabilidade dos dados (dados não mostrados).

A semelhança no formato das absorções entre 800 e 470 cm⁻¹ dos espectros de solo e AH confirma a permanência de impurezas minerais no AH, porém a pequena diminuição das intensidades em função do fracionamento químico (Figura 6) indica que ao menos uma parte da fração mineral foi eliminada. De acordo com a ACP desta região (dados não mostrados), a CP2 (18,38%) é capaz de separar as amostras de AH das amostras de solo, indicando a existência de diferenças que devem ter relação com estas intensidades.

5.4 TRATAMENTO COM HF 10%

Como o fracionamento químico acabou não eliminando por completo as impurezas minerais, o tratamento com HF 10% foi utilizado para tentar solubilizar a fração mineral e, assim, removê-la das amostras. Desta maneira, o tratamento foi efetuado tanto nas amostras de solo, quanto nas de AH.

5.4.1 Espectros do Solo Após Tratamento com HF 10%

Os resultados obtidos por Gonçalves et al. (2003), Dick et al. (2005) e Dick et al. (2008) mostraram que, após várias repetições do procedimento de tratamento com HF 10% diretamente nas amostras de solo (entre quatro e oito), a desmineralização ocorre com sucesso.

Dentre as técnicas utilizadas por Dick et al. (2008) para avaliar a MO obtida através do tratamento do solo com HF 10% está a FTIR. O procedimento de desmineralização foi realizado a partir de sete extrações sucessivas, em oito amostras de solo de diferentes tipos. Os espectros de FTIR obtidos por Dick et al. (2008, p. 2295), após o tratamento, foram bastante semelhantes entre si e, como descrito pelos autores, característicos de MO humificada.

Todavia, os espectros de FTIR obtidos após o tratamento com HF 10% do presente trabalho, mostrados na Figura 8, apresentaram formato diferente daqueles determinados por Dick et al. (2008, p. 2295) e, por outro lado, mostraram muita semelhança com os espectros das amostras de solo antes da desmineralização.

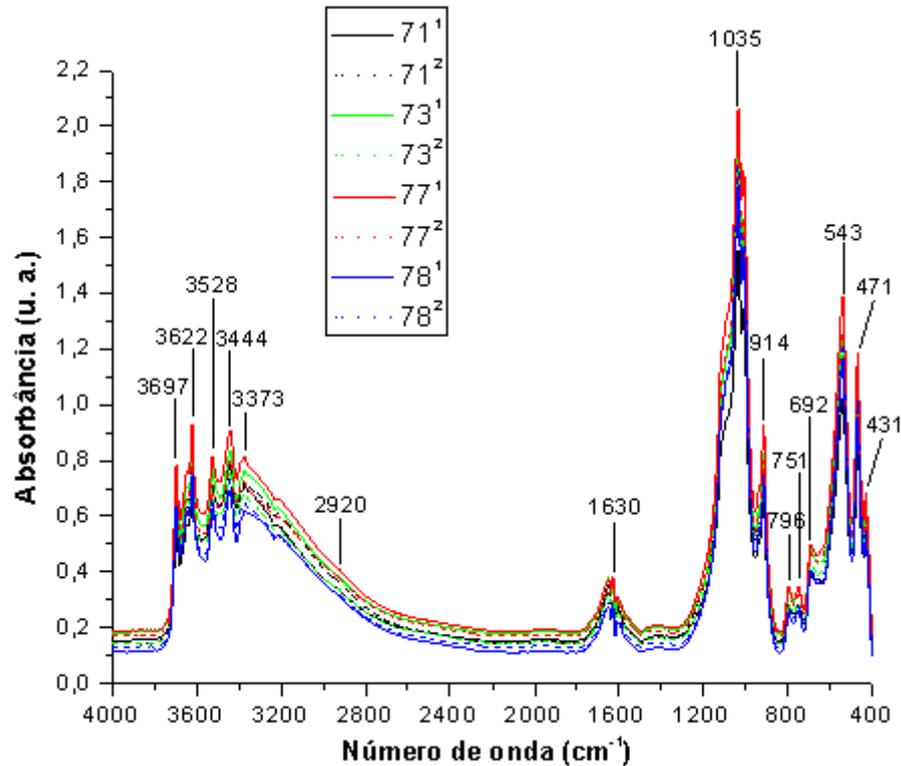


Figura 8 – Espectros de FTIR obtidos para as amostras de solo após tratamento com HF 10%, onde ¹ e ² indicam que as medidas foram realizadas em duplicata.

Fonte: Dados da pesquisa.

A semelhança entre os espectros do solo, antes e após o tratamento com HF 10%, mostra que o mesmo não foi eficiente para promover a solubilização dos minerais, uma vez que todas as bandas referentes à fração mineral ainda podem ser observadas (Figura 8). Para complementar a avaliação qualitativa, foi realizada a ACP. Assim como no caso dos espectros de FTIR de amostras de solo e AH, uma das principais diferenças entre espectros do solo antes e após o tratamento com HF 10% deve compreender a região entre 3700 e 3200 cm^{-1} . Por isso, a Figura 9 mostra a ACP realizada com estes dados. Segundo a CP1 (95,06%) e a CP2 (3,90%), não há separação entre as amostras de solo e de solo após o tratamento, evidenciando que, realmente, os minerais característicos desta região espectral não foram eliminados pelo tratamento.

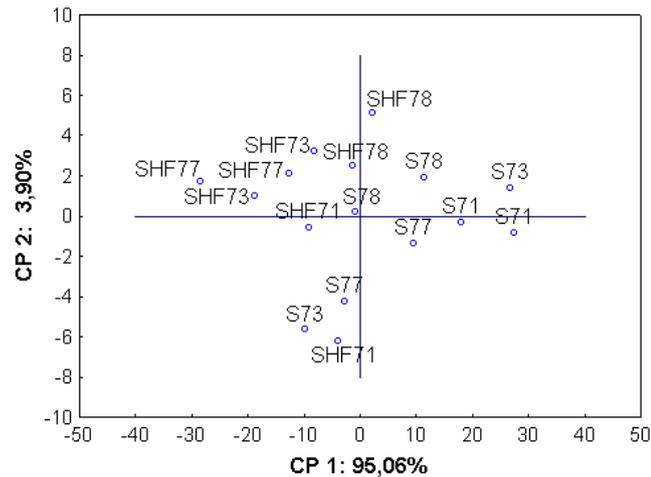


Figura 9 – Gráfico de ACP obtido com os dados dos espectros de FTIR das amostras de solo antes (S) e após tratamento com HF 10% (SHF) na região de 3712 a 3170 cm^{-1}

Fonte: Dados da pesquisa.

Possivelmente, este fato seja resultado das poucas extrações realizadas durante o procedimento, apenas duas. De acordo com Gonçalves et al. (2003, p. 373), a eficiência do tratamento com HF 10% é mais controlada pelo número de extrações do que por sua duração.

O trabalho de Gonçalves et al. (2003) consistiu em avaliar a composição química da MO dos horizontes A e B de quatro diferentes classes de Latossolos a partir do tratamento com HF 10% e do emprego da técnica ^{13}C RMN CPMAS. De acordo com Giasson (2010, p. 16), os horizontes A e B diferem quanto à sua composição, sendo que o primeiro é resultante da concentração de material decomposto misturado com material mineral e o segundo é caracterizado pelo acúmulo de argila, ferro, alumínio e apresenta pouca matéria orgânica. Em função das características do solo de cada um dos horizontes, Gonçalves et al. (2003) observaram que, para o horizonte A, quatro sucessivas extrações com HF 10% foram suficientes para produzir espectros bem definidos, enquanto que para o horizonte B foram necessárias oito extrações. A partir dos seus resultados, Gonçalves et al. (2003) também observaram que depois do segundo tratamento a resolução espectral já melhorou.

Dentro deste contexto, e levando em consideração que as amostras do presente trabalho foram coletadas na camada 0-10 cm, ou seja, do horizonte superficial do solo, composto principalmente por MO fresca ou em decomposição,

acreditava-se que duas sucessivas extrações com HF 10% seriam suficientes para eliminar a maioria dos sinais de material inorgânico dos espectros. Como isto não ocorreu, sugere-se a necessidade da realização de tratamento com mais extrações, tal como evidenciado nos trabalhos consultados (GONÇALVES et al., 2003; DICK et al., 2005; DICK et al., 2008).

5.4.2 Espectros do Ácido Húmico Após Tratamento com HF 10%

A permanência de bandas referentes à fração mineral nos espectros de FTIR das amostras de AH indica que apenas o fracionamento químico não foi capaz de remover completamente os interferentes inorgânicos presentes no solo. Por este motivo, o tratamento com HF 10% também foi realizado nas amostras de AH. Os espectros obtidos após o tratamento são mostrados na Figura 10.

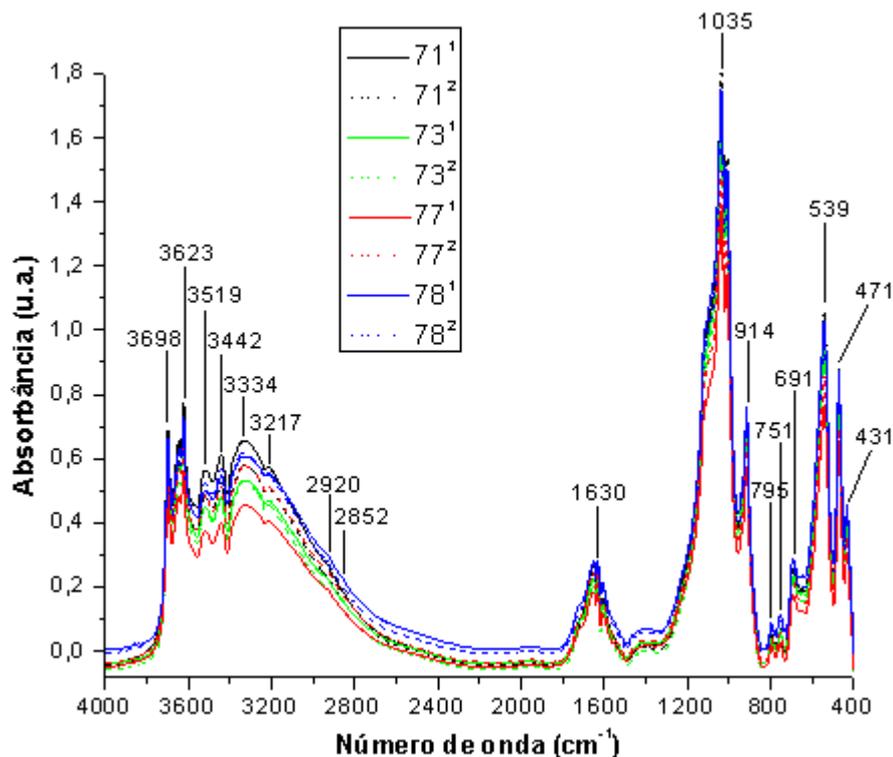


Figura 10 – Espectros de FTIR obtidos para as amostras de AH após o tratamento com HF 10%, onde ¹ e ² indicam que as medidas foram realizadas em duplicata

Fonte: Dados da pesquisa.

Após o tratamento, era esperado que as bandas referentes aos minerais desaparecessem ou, ao menos, perdessem intensidade. Todavia, através da Figura 10, é possível perceber que as bandas entre 3698 e 3444 cm^{-1} continuam presentes e aquelas na região de 1035 a 470 cm^{-1} ainda apresentam alta intensidade, indicando que o tratamento não foi eficiente para remover a fração mineral das amostras.

Apesar da permanência das bandas entre 3698 e 3444 cm^{-1} nos espectros de AH após o tratamento com HF 10%, a ACP realizada com os dados da região entre 3712 e 3160 cm^{-1} (Figura 11), que inclui tais bandas, mostra a formação de dois grupos, indicando que há diferença entre as amostras de AH antes e após o tratamento.

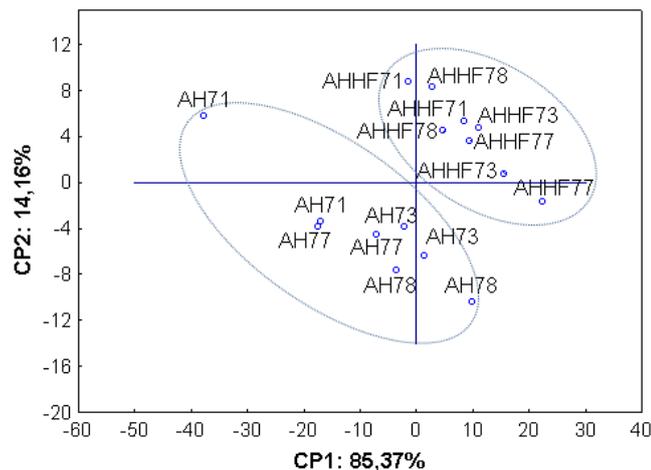


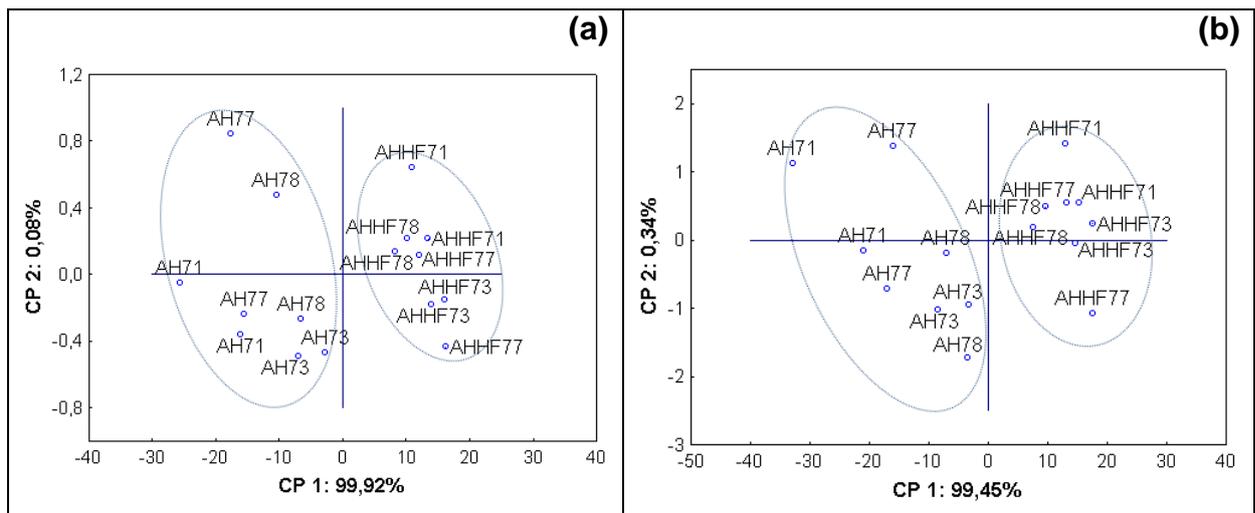
Figura 11 – Gráfico de ACP obtido com os dados dos espectros de FTIR das amostras de AH antes e após tratamento com HF 10% na região de 3712 a 3160 cm^{-1} , onde AHHF representa as amostras de AH que passaram pelo tratamento

Fonte: Dados da pesquisa.

De acordo com Gonçalves et al. (2003, p. 378), as partículas de quartzo presentes na fração areia do solo possuem uma alta resistência ao tratamento com HF 10%, que solubiliza, principalmente, os minerais da fração argila. Como visto na interpretação dos espectros de solo, a presença de quartzo nas amostras é

comprovada pelas absorções em 795, 751 e 691 cm^{-1} (BRINATTI et al., 2010, p. 460). Os demais minerais detectados foram caulinita, haloisita, gibbsita, vermiculita e montmorilonita, todos constituintes da fração argila do solo (INDA JUNIOR; KLAMT; NASCIMENTO, 2010). Como todas as bandas ainda podem ser identificadas nos espectros do AH após o tratamento com HF 10% (Figura 10), sugere-se que, neste caso, nem mesmo os argilominerais foram solubilizados. Provavelmente, e assim como no caso do tratamento realizado diretamente no solo, apenas duas sucessivas extrações podem ter sido insuficientes para promover a completa desmineralização das amostras.

Apesar disso, as absorções em 2920 e 2852 cm^{-1} , decorrentes de vibrações de estiramento assimétrico e simétrico de C–H alifático (CH_3 e CH_2) (SENESI; D'ORAZIO; RICCA, 2003, p. 332; SOLOMON et al., 2007, p. 2292; DICK et al., 2008, p. 2295; ROSA et al., 2008, p. 1593), que são bastante características de material humificado e não foram identificadas nos espectros das amostras de AH antes do tratamento, agora podem ser observadas, ainda que discretamente. A ACP realizada com dados dos espectros entre 3000 e 2800 cm^{-1} mostra que a CP1 (99,92%) separa as amostras de AH antes e após o tratamento com HF 10%, confirmando a diferença observada nos espectros (Figura 12a).



Na Figura 12b é mostrado o gráfico da ACP realizada com os dados dos espectros de AH antes e após o tratamento com HF 10% na região de 1790 a 1500 cm^{-1} . Esta região inclui a banda de absorção em 1630 cm^{-1} , que pode ser atribuída ao estiramento C=C de grupos aromáticos (SENESI; D'ORAZIO; RICCA, 2003, p. 332; DICK et al., 2008, p. 2295; ROSA et al., 2008, p. 1593) cuja intensidade é utilizada, juntamente com a intensidade em 2920 cm^{-1} , para calcular o índice de aromaticidade (CHEFTEZ et al., 1996). Como pode ser observado através da Figura 12b, a CP1 (99,45%) separa as amostras de AH antes e após o tratamento, evidenciando que há diferença entre as mesmas.

5.5 ÍNDICE DE AROMATICIDADE

O índice de aromaticidade pôde ser calculado com os dados dos espectros de AH somente após o tratamento com HF 10%, uma vez que a absorção em 2920 cm^{-1} , cuja intensidade é utilizada no cálculo, não foi observada nos espectros de AH antes do tratamento. Tal decisão também foi apoiada pelos gráficos de ACP (Figuras 12a e 12b), que mostraram diferença entre os espectros de AH antes e após o tratamento com HF 10%. Como os espectros foram obtidos em duplicata, a Tabela 1 mostra a média dos índices de aromaticidade para cada amostra, bem como o desvio padrão, calculados após o ajuste da linha base.

Tabela 1 – Índices de aromaticidade das amostras 71, 73, 77 e 78, calculados a partir dos dados dos espectros de AH após o tratamento com HF 10%, sendo $n = 2$

	71	73	77	78
Média do índice de aromaticidade	1,001 ± 0,002	1,046 ± 0,049	0,982 ± 0,003	0,991 ± 0,028

Fonte: dados da pesquisa.

O índice de aromaticidade é outra informação importante que pode ser extraída dos espectros de FTIR das amostras de AH, além da análise qualitativa dos

grupos funcionais. Como seu cálculo é realizado a partir da divisão entre a intensidade das vibrações de grupos aromáticos (1630 cm^{-1}) e de grupos alifáticos (2920 cm^{-1}), o índice de aromaticidade torna possível expressar a proporção presente nas amostras entre tais grupos. Através da Tabela 1 é possível perceber que o menor valor de índice de aromaticidade foi encontrado para a amostra 77, fato que pode ser indicativo da existência de uma maior proporção de grupos alifáticos nesta amostra e, conseqüentemente, de um menor grau de humificação quando comparada com as demais.

5.6 A INFLUÊNCIA DO AJUSTE DA LINHA DE BASE

Para avaliar a influência do ajuste da LB nos espectros de FTIR, uma das duplicatas da amostra 71 (nomeada como 71^2) foi selecionada, de maneira aleatória, e os espectros do solo, do solo após o tratamento com HF 10%, do AH e do AH após o tratamento foram comparados entre si, antes e depois do ajuste, porém apenas os espectros de solo são mostrados na Figura 13.

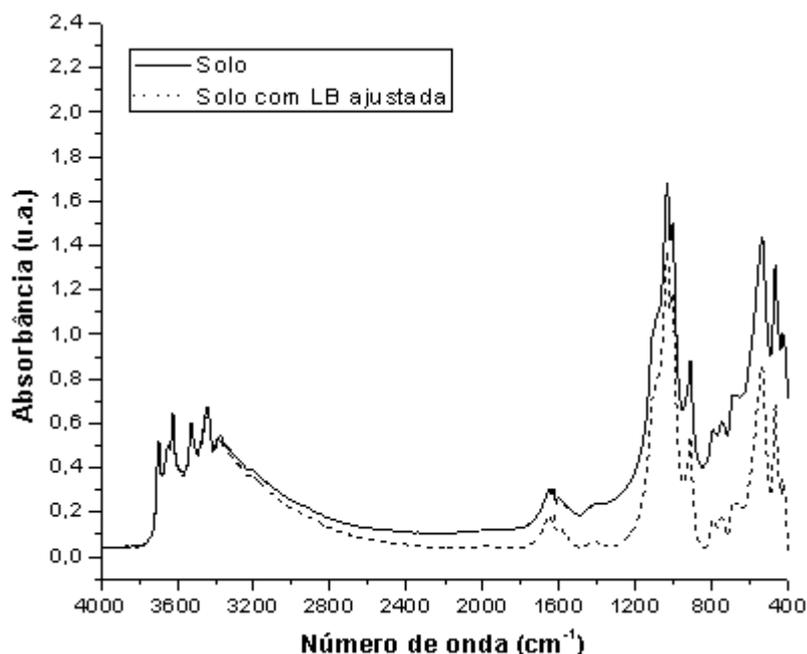


Figura 13 – Comparação entre os espectros de solo da amostra 71^2 antes e após o ajuste da LB

Fonte: Dados da pesquisa.

Qualitativamente, o que pode ser observado é que o ajuste da LB interfere na intensidade das absorções, subestimando-as, e, por isso, modifica os espectros, sendo que a diferença fica mais evidente entre 1200 e 400 cm^{-1} (Figura 13). Apesar de somente os espectros do solo antes e após o ajuste da LB estarem sendo mostrados, tal fato também ocorreu para o solo após o tratamento com HF 10%, o AH e o AH após o tratamento.

Para determinar se estas diferenças são significativas, o teste *t* pareado foi aplicado, uma vez que se trata das mesmas amostras em dois momentos distintos (antes e após o ajuste da LB). Através do teste, observou-se que, a um nível de significância de 1%, as intensidades dos espectros de todas as amostras (solo, solo após tratamento com HF 10%, AH e AH após tratamento) apresentaram diferença significativa após o ajuste da LB. A aplicação do teste *t*, portanto, confirmou-se a avaliação qualitativa de que o ajuste da LB interfere nos valores das intensidades das absorções.

Sabendo que o ajuste da LB tem influência sobre a intensidade dos sinais de absorção dos espectros, pode-se esperar que o valor do índice de aromaticidade também sofra modificação, uma vez que seu cálculo utiliza as intensidades em duas regiões espectrais específicas. Para avaliar esta hipótese, os índices obtidos após o ajuste (Tabela 1) foram comparados com os mesmos calculados antes do ajuste. A Tabela 2 mostra esta comparação.

Tabela 2 – Índices de aromaticidade das amostras 71, 73, 77 e 78 calculados, antes e após o ajuste da LB, a partir dos dados dos espectros de AH depois do tratamento com HF 10%, sendo $n = 2$

	71	73	77	78
Média do índice de aromaticidade antes do ajuste da LB	1,498 ± 0,029	1,582 ± 0,064	1,506 ± 0,072	1,437 ± 0,040
Média do índice de aromaticidade após o ajuste da LB	1,001 ± 0,002	1,046 ± 0,049	0,982 ± 0,003	0,991 ± 0,028

Fonte: dados da pesquisa.

A influência sobre a intensidade dos sinais de absorção dos espectros faz com que o índice de aromaticidade também seja modificado pelo ajuste da LB. Através da Tabela 2 é possível perceber que, após o ajuste, os índices ficaram menores, entre 65,21 a 68,96% abaixo de seus valores iniciais.

Outra informação relevante consiste no fato de que, se as amostras forem organizadas em ordem crescente de índice, antes do ajuste a sequência é $78 < 71 < 77 < 73$, enquanto que após o ajuste é $77 < 78 < 71 < 73$. A amostra 73 apresentou o maior índice quando comparada às demais em ambos os casos. Por outro lado, a ordem das outras três amostras sofreu variação.

Novamente o teste t foi aplicado, agora para avaliar as diferenças entre os índices de aromaticidade calculados antes e após o ajuste da LB. Os resultados mostraram que, a um nível de significância de 5%, os índices de aromaticidade de todas as amostras apresentaram diferença significativa quando calculados antes e após o ajuste da LB, exceto para a amostra 77.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do teste de *background* mostraram que, realmente, a massa de KBr utilizada para corrigir os espectros de FTIR das amostras interfere nas características dos mesmos. Quando a massa de KBr utilizada na pastilha do *background* não é a mesma da pastilha contendo amostra, os sinais produzidos pelo KBr não são totalmente descontados, resultando em diferenças nos espectros. A aplicação da ACP confirmou esta avaliação qualitativa.

Os espectros de FTIR das amostras de solo permitiram a identificação dos minerais caulinita, haloisita, gibbsita, vermiculita, montmorilonita e quartzo. Observou-se também que não é possível identificar absorções referentes a grupos funcionais da MO nos espectros de FTIR do solo, provavelmente em decorrência da pequena quantidade de MO que faz parte da fase sólida do solo em comparação com a fração mineral.

A partir dos espectros de FTIR das amostras de AH foi possível perceber que o fracionamento químico não eliminou por completo a fração mineral do solo, uma vez que as bandas de absorção referentes aos minerais ainda puderam ser observadas. Apesar disso, a banda correspondente a grupamentos O-H e N-H, bastante característica em espectros de AH, apareceu após o fracionamento químico, constituindo uma das diferenças mais evidentes entre estes e os espectros de solo. Para complementar, a ACP realizada em regiões específicas mostrou que houve diferença entre os espectros de solo e AH, confirmando a avaliação qualitativa de que parte dos minerais foi removida.

O tratamento com HF 10% realizado nas amostras de solo não foi eficiente na remoção dos minerais, uma vez que os espectros de FTIR, antes e após o tratamento, foram bastante similares. Fato este comprovado pela ACP, que não mostrou separação entre as amostras de solo antes e após o tratamento. A provável explicação para este resultado consiste no fato de que o procedimento foi realizado com apenas duas sucessivas extrações, que não foram suficientes para promover a desmineralização das amostras e, conseqüentemente, mudanças significativas nos espectros de FTIR.

No caso das amostras de AH, o tratamento com HF 10% também não foi capaz de eliminar os minerais que permaneceram após o fracionamento químico.

Apesar disso, algumas mudanças puderam ser observadas nos espectros e confirmadas pela ACP. Após o tratamento, a absorção em 2920 cm^{-1} foi identificada nos espectros de AH, permitindo, assim, o cálculo do índice de aromaticidade. Os valores de índice de aromaticidade, por sua vez, mostraram que, de todas as amostras, a 77 apresentou maior proporção de grupos alifáticos em relação aos aromáticos, que é indicativo de um menor grau de humificação.

Finalmente, a avaliação qualitativa dos espectros de FTIR antes e após o ajuste da LB evidenciou que este procedimento interfere nas intensidades das absorções, fato que também reflete no valor do índice de aromaticidade. A aplicação do teste *t* pareado mostrou que as diferenças promovidas pelo ajuste da LB foram significativas.

Avaliados como um todo, os resultados do presente trabalho foram relevantes e podem apoiar futuros estudos que empreguem a FTIR para caracterizar amostras de solo e de MO. Sobre o procedimento de desmineralização com HF 10%, sugere-se a realização de mais de duas extrações, uma vez que, desta forma, os minerais do solo não foram eliminados das amostras. Também foi proposto que a massa de KBr utilizada na pastilha do *background* deve ser a mesma da utilizada nas pastilhas das amostras, para que os sinais do KBr sejam eliminados por completo dos espectros. As diferenças observadas entre os espectros de FTIR, bem como entre os índices de aromaticidade, antes e após o ajuste da LB evidencia a importância de se padronizar a forma como estes espectros são apresentados em artigos científicos. Por fim, cabe enfatizar a importância da aplicação de ferramentas quimiométricas em estudos similares a este, para que os resultados tenham consistência e confiabilidade.

REFERÊNCIAS

BRINATTI, André M. **Uso de espectroscopias e difração de raios X aplicadas à caracterização mineralógica de solos**. 2001. 212 f. Tese (Doutorado em Ciências: Física Aplicada) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/76/76132/tde-17012008-154518/pt-br.php>>. Acesso em: 10 dez. 2013.

BRINATTI, André M. et al. Mineralogical characterization of a highly-weathered soil by the Rietveld Method. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v. 67, n. 4, p. 454-464, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162010000400013>. Acesso em: 6 dez. 2013.

CANELLAS, Luciano P. et al. Distribuição da matéria orgânica e características de ácidos húmicos em solos com adição de resíduos de origem urbana. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1529-1538, dez. 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v36n12/7495.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2013.

CASTELLANO, Maila et al. Bulk and surface properties of commercial kaolins. **Appl. Clay Sci.**, v. 48, n. 3, p. 446–454, 2010. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169131710000359>>. Acesso em: 28 mai. 2014.

CASTILHOS, Rosa M. V. et al. Distribuição e caracterização de substâncias húmicas em vermicompostos de origem animal e vegetal. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 32, p. 2669-2675, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832008000700009>. Acesso em: 21 nov. 2013.

CHEFETZ, Benny et al. Chemical and biological characterization of organic matter during composting of municipal solid waste. **J. Environ. Qual.**, v. 25, p. 776-785, 1996. DOI: 10.2134/jeq1996.00472425002500040018x.

COCOZZA, Claudio. et al. Characterization of solid and aqueous phases of a peat bog profile using molecular fluorescence spectroscopy, ESR and FT-IR, and comparison with physical properties. **Organic Geochemistry**, v. 34, p. 49–60, 2003. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0146638002002085>>. Acesso em: 20 dez. 2013.

CONTE, Pellegrino et al. Spectroscopic and conformational properties of size-fractions separated from a lignite humic acid. **Chemosphere**, v. 69, p. 1032-1039, 2007. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004565350700567X>>.

Acesso em: 06 jan. 2014.

DICK, Deborah P. et al. Characteristics of soil organic matter of different Brazilian Ferralsols under native vegetation as a function of soil depth. **Geoderma**, v. 124, n. 3-4, p. 319–333, 2005. Disponível em:

<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016706104001259>>. Acesso em: 06 jun. 2014.

DICK, Deborah P. et al. Organic matter in constructed soils from a coal mining area in southern Brazil. **Organic Geochemistry**, v. 37, p. 1537–1545, 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0146638006001434>>. Acesso em: 20 mar. 2014.

DICK, Deborah P. et al. Estudo comparativo da matéria orgânica de diferentes classes de solos de altitude do sul do Brasil por técnicas convencionais e espectroscópicas. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 32, p. 2289-2296, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v32n6/v32n6a08>>. Acesso em: 17 mar. 2014.

Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Rio de Janeiro, 2009. 412p.

ERNANI, Paulo R. **Química do solo e disponibilidade de nutrientes**. Lages: O Autor, 2008.

GIASSON, Elvio. Introdução ao estudo dos solos. In: MEURER, Egon J. (Ed.). **Fundamentos de química do solo**. 4. ed. Porto Alegre: Evangraf, 2010. p. 11-27.

GONÇALVES, Cristiano N. et al. The effect of 10% HF treatment on the resolution of CPMAS ¹³C NMR spectra and on the quality of organic matter in Ferralsols. **Geoderma**, v. 116, n. 3-4, p. 373–392, 2003. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016706103001198>>. Acesso em: 16 abr. 2014.

GONÇALVES, Daniele. **Caracterização mineralógica por difração de raios X e o método de Rietveld da fração argila de um Latossolo Vermelho distrófico em três manejos diferentes**. 2008. 176 f. Dissertação (Mestrado em Química Aplicada) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2008. Disponível em:

<http://bicen-tede.uepg.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=187>. Acesso em: 04 jun. 2014.

GONÇALVES, Daniele et al. Mineralogia de um Latossolo vermelho distrófico submetido a diferentes manejos por 24 anos. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 32, n. 1, p. 2647–2652, 2008. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832008000700006>. Acesso em: 03 jun. 2014.

GONZÁLEZ PÉREZ, Martha et al. Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, ¹³C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy. **Geoderma**, v. 118, p. 181-190, 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016706103001927>>. Acesso em: 02 abr. 2014.

GONZÁLEZ PÉREZ, Martha et al. ¹³C NMR and FTIR spectroscopy characterization of humic acids in spodosols under tropical rain forest in southeastern Brazil. **Geoderma**, v. 146, n. 3-4, p. 425–433, 2008. Disponível em:

<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016706108001766>>. Acesso em: 08 jul. 2014.

INDA JUNIOR, Alberto V.; KLAMT, Egon; NASCIMENTO, Paulo C. do. Composição da fase sólida mineral do solo. In: MEURER, Egon J. (Ed.). **Fundamentos de química do solo**. 4. ed. Porto Alegre: Evangraf, 2010. p. 29-57.

MARTINS, Bruno H. **Estudos espectroscópicos de matéria orgânica e ácidos húmicos de solos sob adição de efluente de esgoto tratado**. 2009. 122 f. Dissertação (Mestrado em Ciências: Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009a. Disponível em:

<<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75132/tde-12112009-110044/pt-br.php>>. Acesso em: 09 dez. 2013.

MARTINS, Talita. **Caracterização mineralógica e da matéria orgânica do solo por técnicas espectroscópicas e DRX**. 2009. 179 f. Dissertação (Mestrado em Química Aplicada) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2009b. Disponível em: <http://bicen-tede.uepg.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=386>. Acesso em: 18 nov. 2013.

NYAKATAWA, E. Z.; REDDY, K. C.; SISTANI, K. R. Tillage, cover cropping, and poultry litter effects on selected soil chemical properties. **Soil Tillage Res.**, v. 58, p. 69-79, 2001. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167198700001835>>. Acesso em: 02 dez. 2013.

PAVIA, Donald L. et al. **Introdução à espectroscopia**. Tradução da 4. ed. norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

POTES, Mariana da L. et al. Matéria orgânica em Neossolo de altitude: influência do manejo da pastagem na sua composição e teor. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 34, p. 23-32, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-06832010000100003&script=sci_arttext>. Acesso em: 09 jan. 2014.

ROSA, Carla. M. da. et al. Teor e qualidade de substâncias húmicas de planossolo sob diferentes sistemas de cultivo. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1589–1595, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v38n6/a15v38n6.pdf>>. Acesso em: 27 mar. 2014.

ROSA, Carla M. da. **Matéria orgânica em Planossolo Háplico sob sistemas de manejo no cultivo do arroz irrigado no Sul do Brasil**. 2010. 94 f. Tese (Doutorado em Ciências: Solos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010. Disponível em: <http://www2.ufpel.edu.br/tede/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=697>. Acesso em: 13 jan. 2014.

SANTOS, Larissa. M. et al. Characterization by Fluorescence of Organic Matter from Oxisols under Sewage Sludge Applications. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 74, n. 1, p. 1-10, 2010. DOI: 10.2136/sssaj2008.0176.

SENESI, N.; D'ORAZIO, V.; RICCA, G. Humic acids in the first generation of EUROSOLS. **Geoderma**, v. 116, n. 3-4, p. 325–344, 2003. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016706103001071>>. Acesso em: 30 jun. 2014.

SENESI, N. et al. Spectroscopic and compositional comparative characterization of I.H.S.S. reference and standard fulvic and humic acids of various origin. **Sci. Total Environ.**, v. 81-82, p. 143–156, 1989. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0048969789901204>>. Acesso em: 30 jun. 2014.

SILVA, Leandro S.; CAMARGO, Flávio A. de O.; CERETTA, Carlos A. Composição da fase sólida orgânica do solo. In: MEURER, Egon J. (Ed.). **Fundamentos de química do solo**. 4. ed. Porto Alegre: Evangraf, 2010. p. 59-83.

SIMPSON, André J. et al. Molecular structures and associations of humic substances

in the terrestrial environment. **Naturwissenschaften**, v. 89, p. 84-88, 2002. DOI: 10.1007/s00114-001-0293-8.

SOLOMON, Dawit et al. Molecular signature and sources of biochemical recalcitrance of organic C in Amazonian Dark Earths. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 71, n. 9, p. 2285–2298, 2007. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016703707001007>>. Acesso em: 12 jun. 2014.

STEVENSON, F. J. **Humus Chemistry: genesis, composition, reactions**. 2. ed. New York: John Wiley, 1994.

SWIFT, Roger S. Organic matter characterization. In: SPARKS, Donald L. (Ed.). **Methods of soil analysis: Chemical methods**. part 3. Madison: Soil Science Society America, 1996. p. 1011-1070.

TATZBER, Michael et al. Impact of different tillage practices on molecular characteristics of humic acids in a long-term field experiment - An application of three different spectroscopic methods. **Sci. Total Environ.**, v. 406, n. 1-2, p. 256–68, 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969708007924>>. Acesso em: 22 jun. 2014.

TIVET, Florent et al. Assessing humification and organic C compounds by laser-induced fluorescence and FTIR spectroscopies under conventional and no-till management in Brazilian Oxisols. **Geoderma**, v. 207–208, p. 71–81, 2013. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016706113001559>>. Acesso em: 16 dez. 2013.

TRAVERSA, Andreina et al. Chemical and spectroscopic characteristics of humic acids and dissolved organic matter along two Alfisol profiles. **Chemosphere**, v. 111, p. 184–194, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653514004123>>. Acesso em: 28 mai. 2014.

VAN RAIJ, Bernardo. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, 2011.

ZECH, Wolfgang. et al. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. **Geoderma**, v. 79, n. 1-4, p. 117–161, 1997. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016706197000402>>. Acesso em: 02 jun. 2014.

ZHOU, Ping; YAN, Hui; GU, Baohua. Competitive complexation of metal ions with humic substances. **Chemosphere**, v. 58, p. 1327-1337, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653504009713>>. Acesso em: 15 jan. 2014.