

SOLANGE DE OLIVEIRA ARAUJO

**CARACTERIZAÇÃO DE ÁCIDOS HÚMICOS PRODUZIDOS A PARTIR DE
CARVÃO VEGETAL DE *Mimosa tenuiflora* E *Aspidosperma pyrifolium***

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2004

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

A663c Araujo, Solange de Oliveira, 1973-
2004 Caracterização de ácidos húmicos produzidos a partir de
carvão vegetal de *Mimosa tenuiflora* e *Aspidosperma
pyrifolium* / Solange de Oliveira Araújo. – Viçosa :
UFV, 2004.
xi, 60f. : il. ; 29cm.

Orientador: Alexandre Santos Pereira
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 53-60

1. Carvão vegetal. 2. Ácidos húmicos - Análise.
3. Carbonização. 4. *Mimosa tenuiflora*. 5. *Aspidosperma
pyrifolium*. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDO adapt. CDD 6.34.98675

SOLANGE DE OLIVEIRA ARAUJO

**CARACTERIZAÇÃO DE ÁCIDOS HÚMICOS PRODUZIDOS A PARTIR DE
CARVÃO VEGETAL DE *Mimosa tenuiflora* E *Aspidosperma pyrifolium***

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Aprovada: 17 de dezembro de 2004.

Pesq. Vinícius de Melo Benites
(Conselheiro)

Prof. Efraim Lázaro Reis
(Conselheiro)

Prof. Benedito Rocha Vital

Prof. José de Castro Silva

Prof. Alexandre Santos Pimenta
(Orientador)

A Deus, razão do meu existir,

Aos meus queridos pais,

Ao meu querido irmão Murilo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por terem me apoiado a continuar na carreira acadêmica, mesmo sabendo que, para isso, teriam que abrir mão de certas coisas para me ajudar; mesmo assim, não me faltou apoio financeiro e, principalmente, emocional; naquelas horas de cansaço e dificuldade, sempre surgiam com palavras de carinho e incentivo. E ao meu irmão e amigo, Murilo, que, mesmo sendo mais novo, sempre me deu conselhos de “gente grande”.

À Universidade Federal de Viçosa e à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciência Florestal, pela oportunidade de realizar o curso de mestrado.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro, através da bolsa concedida.

Ao professor Alexandre Santos Pimenta, pela confiança, pela orientação e pelos conhecimentos transmitidos nesses anos de convivência.

Aos conselheiros, Dr. Vinícius de Melo Benites e professor Efraim Lázaro Reis, pelos conselhos e sugestões, que foram fundamentais e essenciais para a realização deste trabalho. Em especial ao Vinícius pelo apoio, paciência, pela compreensão e principalmente por ter me ajudado nesses meses todos, pois sem sua ajuda essa tese não teria saído.

À EMBRAPA Solos do Rio de Janeiro, por permitir a realização de parte do experimento, em especial ao Rondinele, Lucas e Dr. Pedro, que me deram “a maior força”.

À Glória e ao Professor Raul, da PUC do Rio de Janeiro pelo apoio nas análises de fluorescência.

À minha segunda família, que me acolheu no Rio de Janeiro: Patrícia, Jorgina, Disnei e Andrea.

Aos amigos e funcionários do laboratório, Cassinha, Emerson, Aristeu, Sr. Hésio, Sr. “Maninho” (José Carlos) e Sr. Oswaldo.

Aos funcionários da secretaria de pós-graduação, Frederico (Fred) e Rita de Cássia (Ritinha), pela parte burocrática e pela boa vontade em resolver os problemas e pela paciência em ouvir nossas reclamações.

A minha amiga Fabiana, por esses anos de convivência, e que nas horas de tristeza e alegria esteve sempre comigo, dando-me muito apoio e palavras de conforto e sabedoria.

Aos meus “irmãos”, Rosalvo e Tatiana (que realmente se tornou uma irmã para mim).

Aos amigos, Miranda e “Marcinho” (Márcio), pelo apoio na estatística e, também, pela amizade.

Ao professor Hércio e ao Fernando pelos conselhos profissionais, pela amizade e pelo carinho.

E, também, as grandes amigas e irmãs Quêidimar e Alécia, pela amizade incondicional em todos esses anos.

A todos que, de maneira direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e para meu o crescimento pessoal e profissional.

BIOGRAFIA

SOLANGE DE OLIVEIRA ARAÚJO, filha de Durval Campos de Araújo e de Noeme de Oliveira Araújo, nasceu em Santos, São Paulo, em 17 de dezembro de 1973.

No ano de 2000, graduou-se em Engenharia Florestal pela Universidade Federal de Viçosa. Em agosto de 2002, iniciou, nessa instituição, o curso de mestrado em Ciência Florestal.

Em dezembro de 2004, submeteu-se aos exames de defesa de dissertação, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Matéria Orgânica do Solo e Carbono pirogênico	3
2.2. Análises físico-químicas dos ácidos húmicos.....	9
2.2.1. Termogravimetria.....	9
2.2.2. Análise elementar (CHN).....	10
2.2.3. Titulação Potenciométrica.....	11
2.2.4. Espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Visível).....	12
2.2.5. Fluorescência.....	13
2.2.6. Espectroscopia na região do infravermelho (IV).....	14
3. MATERIAL E METÓDOS	17
3.1. Produção do carvão.....	17
3.2. Produção, extração e purificação dos ácidos húmicos.....	18
3.3. Análises físico-químicas dos ácidos húmicos.....	19
3.3.1. Determinação do teor de carbono orgânico total nas frações do carvão.....	19
3.3.2. Termogravimetria.....	20

3.3.3. Análise Elementar (CHN).....	21
3.3.4. Titulação Potenciométrica.....	21
3.3.5. Análise Espectrofotométrica no UV-Visível.....	23
3.3.6. Análise por Fluorescência espectroscópica.....	23
3.3.7. Análise Espectrofotométrica no Infravermelho	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1. Análise elementar (CHN)	25
4.2. Termogravimetria.....	28
4.3. Infravermelho.....	30
4.4. Análise Espectrofotométrica no UV-Visível.....	36
4.5. Fluorescência	37
4.6. Titulação Potenciométrica.....	42
5. CONCLUSÕES	51
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

RESUMO

ARAÚJO, Solange de Oliveira, M. S., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2004. **Caracterização de ácidos húmicos produzidos a partir de carvão vegetal de *Mimosa tenuiflora* e *Aspidosperma pyrifolium***. Orientador: Alexandre Santos Pimenta. Conselheiros: Vinícius de Melo Benites e Efraim Lázaro Reis.

O presente trabalho teve como objetivo produzir e caracterizar ácidos húmicos, produzidos a partir de carvão vegetal de *Mimosa tenuiflora* e *Aspidosperma pyrifolium*. Para isto, foram produzidos carvões em diferentes temperaturas finais de carbonização (250, 300, 350, 400, 450, 500 e 550 °C). Os carvões produzidos foram moídos e peneirados (peneira de 200 mesh). Essas amostras de carvão foram tratadas com HNO₃ 25% (p/p) durante 4 horas sob refluxo. Os ácidos húmicos foram extraídos a partir dos produtos de reação, segundo a técnica padrão adotada pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS), com algumas modificações. Os ácidos húmicos produzidos pelos diferentes tratamentos foram caracterizados por análise elementar, termogravimetria, espectrofotometria no infra-vermelho, espectrofotometria no UV-Visível e fluorescência. Estas técnicas permitiram a identificação e a classificação das estruturas químicas e grupos funcionais que constituem a complexa molécula dos ácidos húmicos, além da quantificação elementar, grau de aromaticidade das moléculas e grau de humificação. Através da análise elementar foram encontrados valores de hidrogênio inferiores aos valores encontrados na literatura, esse baixos valores de

hidrogênio indicam alta aromaticidade das moléculas. A maior parte do nitrogênio das moléculas foi adicionado pelo tratamento em ácido nítrico, uma vez que o carvão vegetal é muito pobre em nitrogênio. As variáveis, extraídas da análise elementar, carbono e nitrogênio, apresentam uma alta correlação entre si para as duas espécies. Através da termogravimetria verificou-se uma forte resistência a termodegradação, sugerindo a existência de estruturas aromáticas fortemente condensadas, para as duas espécies. A análise do infravermelho permitiu identificar diferenças qualitativas entre os ácidos húmicos provenientes das diferentes espécies e de seus respectivos tratamentos. Para as outras análises os resultados encontrados estão de acordo com a literatura. Os resultados obtidos permitiram concluir que a metodologia adotada para extrair e caracterizar os ácidos húmicos se mostrou eficiente e que os compostos produzidos são semelhantes aos ácidos húmicos encontrados no solo.

ABSTRACT

ARAUJO, Solange de Oliveira, M. S., Universidade Federal de Viçosa, December, 2004. **Characterization of humic acids derived from charcoal of *Mimosa tenuiflora* and *Aspidosperma pyrifolium*.** Adviser: Alexandre Santos Pimenta. Committee Members: Vinícius de Melo Benites and Efraim Lázaro Reis.

The objective of the present work was to produce and characterize humic acids from charcoal of *Mimosa tenuiflora* and *Aspidosperma pyrifolium*. So charcoals in various final carbonization temperatures (250, 300, 350, 400, 450, 500 and 550 °C) were produced. These charcoal were ground and sifted (200 mesh sieve). These charcoal samples were treated with HNO₃ 25 % (p/p) during 4 hours under reflux. The humic acids were extracted from the reaction products, according to the standard technique adopted by the International Humic Substances Society (IHSS), with some adaptations. The humic acids produced by the different treatments were characterized by elementary analysis, thermogravimetry, infra-red spectrophotometry, visible-UV spectrophotometry and fluorescence. These techniques allowed the identification and classification of the chemical structures and functional groups that constitute the complex molecule of humic acids, besides the elementary quantification, aromaticity degree of the molecules and degree of humification. Though the elementary analysis hydrogen values lower than those reported in literature were found and these lower hydrogen values indicate high aromaticity of the molecules. The majority of the nitrogen of the molecules was added by

the nitric acid treatment, because vegetable coal is very poor in nitrogen. The variables carbon and nitrogen extracted from the elementary analysis showed a high correlation with each other for the two species. Through the thermogravimetry a strong resistance to thermal degradation was verified which suggests the existence of aromatic structures strongly condensed in both species. This infra-red analysis allowed to identify qualitative differences among the humic acids derived from the two species and their respective treatments. For the other analyses carried out the results found are in accordance with the literature. The results obtained allowed the conclusion that the methodology adapted to extract and characterize the humic acids showed to be efficient and that the compounds produced are similar to the humic acids found the soil.

1. INTRODUÇÃO

Os recursos florestais do semi-árido Nordestino (caatinga) representam uma fonte de energia artesanal e industrial tradicional. Apesar da importância da vegetação da caatinga como fonte de energia, ainda é grande a carência de informações, principalmente quanto ao aspecto tecnológico, ou seja, sobre as características da qualidade da madeira e do carvão produzido pelas espécies do semi-árido (Oliveira, 2003).

A *Mimosa tenuiflora* (jurema-preta) e *Aspidosperma pyrifolium* (pereiro) são espécies muito importantes de ocorrência no semi-árido Nordestino, são muito utilizadas para a produção de carvão, são utilizadas como lenha das padarias às fábricas de doces, das olarias às caieiras, das indústrias de torrefação de café ao consumo doméstico, urbana e rural (Melo, 1998).

Silva (1988) citou a utilização da *Mimosa tenuiflora* para lenha, e Tigre (1970) relatou que esta espécie produz carvão com elevado poder calorífico, utilizado em forjas e fundições.

Miranda (1989) cita a *Aspidosperma pyrifolium* como produtora de um carvão com boas características físicas e químicas, que parece possuir grande potencial de utilização para fins energéticos.

Considerando a importância da produção de carvão destas duas espécies para o Nordeste e também para outras regiões do país como, Norte, Norte de Minas Gerais e Pantanal, é de grande interesse melhorar a qualidade do carvão e de seus vários subprodutos, o que pode acarretar um grande arranque na economia, e conseqüentemente uma melhoria na qualidade de

vida das pessoas que vivem nestas regiões, que em geral são pequenas propriedades familiares.

Dentre os subprodutos derivados do carvão vegetal , alguns apresentam características químicas e físico-químicas bastante semelhantes às substâncias húmicas e outras moléculas orgânicas encontradas naturalmente nos solos, o que sugere um potencial de utilização, como matéria prima, para a produção de condicionadores de solo e adubos orgânicos Benites (2003).

Os ácidos húmicos são dos componentes mais importantes da matéria orgânica, e desempenham um papel fundamental no solo.

A estrutura e a composição química dessas substâncias orgânicas devem ser conhecidas, para que se possa entender sua participação em processos químicos, biológicos e ambientais (Senesi et al., 1989). A metodologia para extração das substâncias húmicas é fundamental, pois representa a primeira etapa para a investigação de suas propriedades e características.

Este trabalho teve, como objetivo, a produção e a caracterização físico-química (análise elementar, termogravimetria, espectroscopia no UV-Visível, fluorescência, infravermelho e titulação potenciométrica) dos ácidos húmicos produzidos a partir de carvão vegetal, de *Mimosa tenuiflora* e *Aspidosperma pyrifolium*, em várias temperaturas, e compará-los com a estrutura dos ácidos húmicos encontrados no solo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Matéria Orgânica do Solo e Carbono pirogênico

A matéria orgânica no solo é indispensável para o desenvolvimento das plantas e sua origem resulta do acúmulo de resíduos vegetais e animais em decomposição (Stevenson, 1994).

A matéria orgânica do solo consiste na fração não viva dos componentes orgânicos presentes no solo. A matéria orgânica é formada pela transformação de restos orgânicos que sofreram reações químicas através da ação de microrganismos. O produto final dessas reações é o húmus, os componentes predominantes dos húmus são os ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e as huminas.

De acordo com Clasen et al. (1998), o emprego de substâncias húmicas no solo tem favorecido a recuperação do seu carbono orgânico, com eficiência. As plantas, tratadas com tais substâncias são mais resistentes às pragas e têm maior rendimento em carboidratos.

A composição elementar do ácido húmico, adaptado por Schnitzer e Khan (1978) é $C_{187}H_{186}O_{89}N_9S$, com peso molecular de 10.000 - 100.000 D e análise elementar de 51 - 62 % C, 3,2 - 6,2 % H, 31 - 38,3 % O e 0,8 - 4,3 % N e 0,1 - 1,5 % S.

As substâncias húmicas são constituídas por um complexo de compostos orgânicos, de coloração marrom, pardo e amarelo, que se extrai do solo com soluções de álcalis, sais neutros e solventes orgânicos (Kononova, 1982).

O grupo de substâncias normalmente extraído do solo ou da matéria orgânica por soluções alcalinas, de coloração escura, e que forma precipitados amorfos pelo tratamento com ácidos, é considerado "ácidos húmicos". Participam deste grupo substâncias que apresentam estrutura comum, embora não sejam idênticas. As substâncias apresentam os seguintes grupos funcionais: carboxilas, hidroxilas fenólicas, hidroxilas alcoólicas, grupos metóxi e carbonilas (Stevenson, 1994).

Uma das primeiras propostas de estrutura das substâncias húmicas foi apresentada por Fuchs em 1931. Há alguns anos, as estruturas basicamente aromáticas eram as mais aceitas (Kononova, 1966; Schnitzer, 1978; Stevenson, 1994), contudo, graças principalmente, ao uso da técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear, verificou-se que o grau de aromaticidade era menor que o esperado, contendo, também, grandes porções alifáticas (Schulten e Schnitzer, 1993).

Os grupos funcionais característicos dos ácidos húmicos são as carboxilas e hidroxilas fenólicas, cujo hidrogênio é susceptível às reações de substituição. A presença destes grupos é que determina as propriedades ácidas e a capacidade de troca dos ácidos húmicos. Para determinar a quantidade destes grupos funcionais presentes deve se considerar a natureza dos ácidos, assim como os métodos empregados para sua determinação.

A fonte de compostos fenólicos presentes no húmus é, principalmente, a lignina, a macromolécula aromática mais abundante na natureza, além de outros compostos aromáticos (Haumaier e Zech, 1995).

Apesar da diversidade dos ácidos húmicos encontrados nos diferentes solos, as estruturas principais são semelhantes em todos eles (Figura 1).

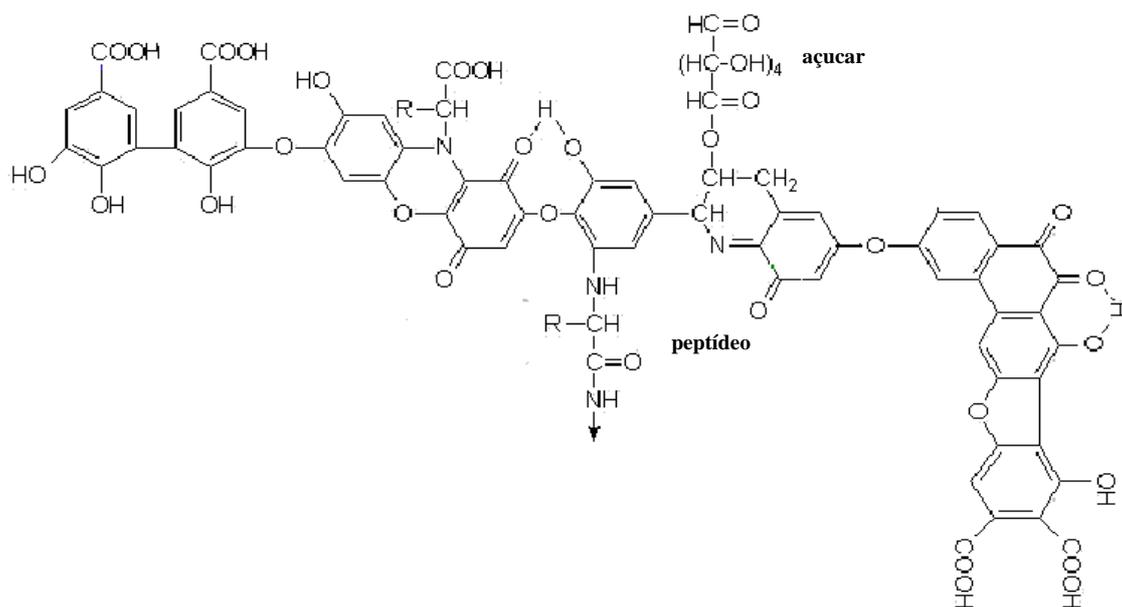


Figura 1 - Modelo do ácido húmico, mostrando os diversos grupos funcionais, estruturas aromáticas e alifáticas (adaptado de Schulten e Schnitzer, 1993).

A maior parte das substâncias húmicas se encontram unidas de formas distintas com os minerais do solo, restando somente uma pequena fração em estado livre; para passar para o estado solúvel é preciso destruir essa união.

Os ácidos húmicos são extraídos com hidróxido de sódio e podem precipitar com ácido, como, por exemplo ácido clorídrico, ácido sulfúrico etc. Geralmente, são polímeros de alto peso molecular que formam colóides esferoidais e sua capacidade de troca catiônica se deve à presença da função ácido orgânico (-COOH) e da função hidroxila.

As diversas frações das substâncias húmicas, extraídas com base nas características de solubilidade, fazem parte de uma mistura heterogênea de moléculas polimerizadas, com massa molecular variável, entre algumas centenas até 300.000 D (Stevenson, 1994). Outras características, também, estão envolvidas na separação dessas substâncias, como a composição

química, número de grupamentos, ácidos funcionais, grau de polimerização e razão absorvância (E4/E6).

Segundo Schnitzer (1982), a purificação dos ácidos húmicos e fúlvicos tem por finalidade a diminuição do conteúdo de cinzas e a remoção de moléculas orgânicas de baixo peso molecular, que não são constituintes estruturais dessas substâncias húmicas. Para a purificação dos ácidos húmicos, recomenda-se, o procedimento de solubilização e reprecipitação, diminuindo consideravelmente, o teor de cinzas.

As substâncias húmicas desempenham um importante papel no ambiente, devido as suas várias características. Ajudam na germinação de sementes, aumentando a retenção de calor pelo solo, graças à coloração, tipicamente escura, que possuem; atuam, também, no aumento da capacidade de troca catiônica (CTC) e na capacidade tampão do solo. Devido à alta capacidade de retenção de água, até vinte vezes em relação a sua massa, evitam o escoamento, sendo, portanto, importantes na conservação do solo contra a erosão. Ao combinarem com argilas ou minerais, cimentam as partículas do solo em agregados e permitem troca de gases, aumentando a permeabilidade. A mineralização da matéria orgânica libera íons NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} e SO_4^{2-} , nutrientes importantes para o crescimento das plantas. Uma outra propriedade importante das substâncias húmicas é a capacidade de interagir com íons metálicos para formar complexos de diferentes estabilidades e características estruturais. Esta capacidade se deve ao alto teor de grupos funcionais contendo oxigênio, tais como carboxílicos, incluindo poluentes tóxicos, para formar substâncias solúveis e insolúveis em água, de diferente estabilidade química e biológica (Schnitzer, 1986).

A matéria orgânica como indicador de qualidade do solo emana de dois fatores principais: primeiro, o teor de matéria orgânica no solo é muito sensível às práticas de manejo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais; nos primeiros anos de cultivo, mais de 50% da matéria orgânica, previamente acumulada, pode ser perdida por diversos processos, entre esses, a decomposição microbiana e a erosão (Sanches,1976; Dalal e Mayer,1986; Greenland et al., 1992; Andreux,1996; Piccolo,1996). Segundo, a maioria dos atributos do solo e do ambiente, relacionados às funções básicas do solo, tem

estreita relação com a matéria orgânica (Doran,1997), destacam-se a estabilidade dos agregados e da estrutura, infiltração e retenção de água, resistência à erosão, atividade biológica, capacidade de troca cátions (CTC), disponibilidade de nutrientes para as plantas, lixiviação de nutrientes, liberação de CO₂ e outros gases para atmosfera.

A principal característica física do solo afetada pela matéria orgânica é a agregação. A partir do seu efeito sobre a agregação do solo, indiretamente são afetadas as demais características físicas do solo, como a densidade, a porosidade, a aeração, a capacidade de retenção e a infiltração de água, entre outras, que são fundamentais à capacidade produtiva do solo (Santos e Camargo,1999).

Em alguns solos tropicais, onde se observam histórico de queima da vegetação, podem ser encontrados compostos orgânicos pirogênicos na fração humificada, como no caso das Terras Pretas Arqueológicas na Amazônia Glaser et al. (2000), em solos sob cerrado ou em áreas sob vegetação rupestre de altitude na Mantiqueira e no Espinhaço (Benites, 2002).

Na Região Amazônica brasileira, pequenos bolsões de solos antropogênicos apresentam destacada fertilidade, em comparação aos latossolos circunvizinhos, devido ao alto teor de material carbonizado e restos de cozinha, acumulados durante séculos pelos índios (Glaser et al., 1998; Glaser et al., 2000). Nesses solos, 35% da matéria orgânica era constituída de carvão, o que persistiu centenas de anos, sob condições de intemperismo pronunciado (Glaser et al., 2000).

De acordo com Benites (2003), a gênese da matéria orgânica de alta estabilidade encontrada nestes solos, que está relacionada ao carbono pirogênico, tem sido atribuída às transformações químicas e bioquímicas de resíduos carbonificados, resultantes da queima natural ou induzida da biomassa vegetal. Em outras palavras, pode-se dizer que estes compostos são derivados de carvões e subprodutos de queima, incorporados ao solo, após um incêndio natural ou por ação antrópica.

Segundo Glaser et al. (2002), existem indicações fortes que a mineralização do carvão é muito lenta no solo, favorecendo, assim, a sua permanência no solo, o que permite uma maior ação quando comparado a

adubos adicionados no solo. Também, pode reduzir o teor de CO₂ na atmosfera, pois aumenta o seqüestro de carbono no solo.

Acredita-se que um material pirogênico, como o carvão, é intemperizado com o passar de tempo, ou sujeito à despolimerização oxidativa, na presença de água e oxigênio. Esse processo pode resultar na formação de ácidos húmicos e fúlvicos, que serão, posteriormente, transformados em compostos inorgânicos, como CO₂ e H₂O. Parte desses ácidos húmicos e fúlvicos pode ser preservada, através da complexação, com cátions polivalentes, sesquióxidos e argilas (Kumada, 1983).

Glaser et al. (2002) sugerem que os altos teores e retenção de nutrientes no solo aconteceram após a adição de carvão vegetal, pois este fez diminuir a perdas de nutrientes por lixiviação, isso pode ocorrer por dois motivos: a oxidação biológica lenta produz unidades carboxílicas nas extremidades do anéis aromáticos condensados do carvão o que faz aumentar a CTC e outra hipótese é que os nutrientes fiquem retidos nos poros amorfos do material carbonizado.

O material pirogênico coletado de solos e restos de fogueiras contém ácidos húmicos e fúlvicos, extraídos em meio alcalino. Esses ácidos húmicos apresentam propriedades semelhantes aos ácidos encontrados naturalmente nos solos vulcânicos japoneses (Kumada, 1983). Haumaier e Zech (1995) produziram ácidos húmicos, a partir da hidrólise ácida de grama carbonizada, entre outros tratamentos. Comparando os espectros de C13 RMN, os mesmos autores verificaram fortes semelhanças químicas com os ácidos húmicos naturais do solo.

A utilização agrícola dos ácidos húmicos vem sendo pesquisada há algum tempo, com sucesso. Sua aplicação induz à formação de agregados estáveis no solo, (Piccolo et al., 1997), diminuição na erosão laminar e maior capacidade de retenção de água (Piccolo et al., 1997). Também se observou o seu efeito fisiológico nas plantas e nos microrganismos do solo, alterando as atividades metabólicas, como a síntese de proteínas e a respiração (Benedetti et al., 1992). Atualmente, o ácido húmico é produzido comercialmente a partir do carvão mineral.

Outra vantagem de se produzir matéria orgânica a partir de carvão vegetal é que ele pode ser produzido por grandes, médios e pequenos proprietários. A produção de carvão é uma técnica muito utilizada e as ferramentas exigidas e recursos já estão prontamente disponíveis (Glaser et al., 2002).

2.2. Análises físico-químicas dos ácidos húmicos

2.2.1 Termogravimetria

Persson et al. (1993) mostraram que a termogravimetria é utilizada para a determinação das características químicas quantitativas e das propriedades físicas de amostras complexas, como, por exemplo, os ácidos húmicos. Esta técnica permite estimar a aromaticidade de ácidos húmicos, pela análise de seu espectro de pirólise, observando a posição dos picos de perda de massa (Stevenson, 1994).

Segundo Benites (2002) a relação de perda de peso da amostra no segundo evento e a perda de peso no primeiro evento é denominado ITG (índice termogravimétrico), este índice representa a resistência da amostra à termodegradação.

De acordo com Schnitzer (1972), o processo de pirólise de ácidos húmicos ocorre em etapas, na primeira as estruturas alifáticas estão degradadas, bem como os grupos funcionais, em temperaturas entre 250 e 280 °C, e por último, as estruturas aromáticas se apresentam degradadas, que constituem o núcleo da macromolécula, em temperaturas superiores a 400 °C.

As técnicas termogravimétricas são basicamente aquelas em que se medem as mudanças nas propriedades físicas e/ou químicas de uma substância, em função da temperatura. Trata-se de uma técnica onde se pode acompanhar a massa de uma amostra durante um período de tempo, enquanto varia a temperatura. Os métodos que envolvem mudanças na massa ou na energia também são incluídos. Os resultados podem ser apresentados como uma curva termogravimétrica (TG) ou como uma curva termogravimétrica derivativa (DTG), onde a primeira derivada da curva TG é posta em gráfico, em relação à temperatura ou tempo (Guimarães, 2000).

2.2.2. Análise elementar (CHN)

Outro parâmetro químico analisado é a composição elementar dos ácidos húmicos; essa técnica permite a obtenção do conteúdo relativo de carbono, hidrogênio e nitrogênio. O conteúdo relativo dos átomos é expresso em função da massa; por este motivo, faz-se necessário determinar, previamente, o teor de cinzas (Canellas et al., 1999).

A composição elementar é a distribuição percentual dos átomos que compõem a rede estrutural das substâncias húmicas. A análise do conteúdo relativo de carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e enxofre revela que essas substâncias apresentam uma natureza particular, distinta de qualquer substância de natureza vegetal ou animal (Kononova, 1982). Para Ceretta (1995), a composição elementar é reflexo das diferentes condições de formação das substâncias húmicas.

A determinação da análise elementar é simples e geralmente realizada através de analisadores elementares, disponíveis comercialmente. Utiliza-se uma pequena amostra de substâncias húmicas (alguns miligramas), analisa-se os gases formados durante a combustão da amostra. O conteúdo relativo dos átomos é expresso em função da massa. É necessário determinar previamente o teor de cinzas (elementos minerais que persistem nas substâncias húmicas, mesmo após o processo de purificação). A porcentagem de oxigênio é obtida, de forma indireta, pela diferença entre o somatório da composição de C, H, N, e S, de acordo com a equação abaixo, na maior parte dos trabalhos (Canellas et al., 1999):

$$\text{Concentração de O (\%)} = 100 - \text{C\%} + \text{N\%} + \text{H\%} + \text{S\%}$$

As relações atômicas molares entre os elementos componentes das substâncias húmicas são um indicador simples do seu comportamento químico. A composição elementar média dos ácidos húmicos e fúlvicos e a sua amplitude de variação são apresentadas, de forma resumida, no Quadro 1.

Quadro 1. Composição elementar média e faixa de variação dos elementos nos ácidos húmicos e fúlvico.

Elemento	Ácidos Húmicos		Ácidos Fúlvicos	
	Média	Faixa	Média	Faixa
Carbono(%)	56,0	51-62	45,7	40,7-50,6
Nitrogênio(%)	4,7	0,8-5,5	2,1	0,9-3,3
Hidrogênio(%)	3,2	3,0-6,5	5,4	3,8-7,0
Oxigênio(%)	35,5	32,0-38,5	44,8	39-50
Enxofre(%)	0,8	0,1-1,5	1,9	0,1-3,6

Fonte: Schnitzer e Khan, 1978

2.2.3. Titulação Potenciométrica

Segundo Guimarães (2000), a titulação potenciométrica é obtida do potencial, medido no decorrer de uma dada titulação, representada em função do volume de titulante adicionado, permitindo determinar o ponto de equivalência da titulação.

As substâncias húmicas têm sido estudadas por titulação potenciométrica, com o objetivo de distinguir diferentes grupos carboxílicos e fenólicos. As curvas de titulação de substâncias húmicas não apresentam pontos de inflexão bem definidos, dificultando a aplicação de métodos clássicos da primeira e segunda derivadas. Titulações levadas até um valor de pH preestabelecido, também estão sujeitas a erros, devido a ampla faixa do valor de pK_a dos grupos ionizáveis (Guimarães, 2000).

De acordo com Reis et al. (1987), os respectivos valores das constantes de ionização dos ácidos (pK_a) podem ser determinados, aplicando-se uma metodologia na qual os pontos de inflexão em uma curva de titulação potenciométrica que não são facilmente observáveis, tornem-se evidentes identificando os respectivos valores de pK_a dos ácidos. Esta técnica consiste na

linearização de Gran, na qual são aplicadas equações matemáticas, relacionando-se o potencial e os volumes das medidas.

De acordo com Guimarães (2000), a forma das curvas de titulação de substâncias húmicas é influenciada pela presença de grupamentos carboxílicos, fenólicos e amínicos com diferentes pK_a , em adição aos efeitos eletrostáticos decorrentes do acúmulo de cargas negativas com o aumento do pH.

As moléculas de ácidos húmicos sofrem mudanças conformacionais quando expostas as mudanças no pH ou na força iônica. Em comparação à flexibilidade dos polieletrólitos lineares, a estrutura interna do ácido húmico se limita à expansão das moléculas quando a concentração do eletrólito diminui ou o pH está aumentando (Avena et al., 1999).

Segundo Lindberg e Kowalski (1988), na avaliação dos dados da titulação de multicomponentes, a não individualidade de cada curva de titulação é um fator que governa a precisão de predição. A intensidade no qual as curvas não se sobrepõem é dada pelas diferenças entre os valores de pK_a dos ácidos nas misturas. As informações que diferenciam os ácidos no meio estão localizadas em volta de seus valores de pK_a , ao passo que o ponto de inflexão contém informações sobre a soma total de ácidos na amostra.

2.2.4. Espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Visível)

A análise no UV-visível é largamente utilizada em estudos com substâncias húmicas de solo. Isso ocorre porque os resultados sugerem a existência de uma relação entre a composição elementar e a absorção de luz, segundo Kumada (1987).

A pesquisa das frações da matéria orgânica, mediante absorção na região do ultravioleta e do visível (Guimarães, 2000), tem-se tornado, também, cada vez mais importante para a caracterização e determinação de transições entre os tipos de substâncias húmicas. Na faixa do ultravioleta, a absorção de substâncias húmicas pode ser causada por componentes fenólicos e, no visível, por grupos cromóforos, formados por oxidação. As curvas de absorção

de radiação no ultravioleta e no visível, para as substâncias húmicas, não apresentam picos máximos e mínimos distintos: um aspecto de curva decrescente, de forma gradativa, de acordo com o aumento do comprimento de onda, são as chamadas bandas largas espectrais. Isso pode ser explicado pelo seu alto peso molecular e pela heterogeneidade.

Essa técnica se baseia nas transições eletrônicas, resultantes de absorção de luz por moléculas. Durante o processo de irradiação com luz no ultravioleta ou visível (UV-visível), a molécula absorve um quantum de energia; um dos elétrons é excitado do orbital que ocupa no seu estado fundamental para outro orbital de maior energia. Com isso, a absorção de radiações no UV-visível eleva moléculas a um estado eletrônico excitado, que, em sua maioria, retornam ao estado natural, dissipando a energia absorvida na forma de calor, ou a emissão de radiação eletromagnética (MacCarthy e Rice, 1985).

De acordo com Bloom e Leenheer (1989), a absorção de radiação no UV-visível por compostos orgânicos deve-se à presença de cromóforos, que são grupos de átomos com ligações não saturadas, cuja faixa de absorção de energia vai de 200 a 400 nm e de 400 a 800 nm, correspondentes ao ultravioleta e ao visível, respectivamente. A região de 100 a 200 nm, corresponde à região do vácuo, não é útil para o estudo de substâncias húmicas de solo, porque tanto a água quanto os solventes usados absorvem fortemente nessa região.

Em estudos com matéria orgânica de solo, é comum a utilização da razão E4/E5 (absorvância em 465 nm / absorvância em 665 nm). A espectroscopia UV-visível é muito utilizada, devido ao fácil manuseio, à rapidez e ao baixo custo operacional. Além disso, possui baixos limites de detecção, permitindo determinações em pequenas quantidades de amostras e possibilidade de quantificação, a partir de comparações com padrões (Ceretta et al., 1999).

2.2.5. Fluorescência

Nos últimos anos, a espectroscopia de fluorescência vem sendo, cada vez mais, utilizada como uma alternativa para o estudo de substâncias húmicas

do solo (Senesi, 1990b; Pullin e Cabaniss, 1995; Rivero et al., 1998). A espectroscopia de fluorescência é um dos métodos mais frequentemente usados para estimar a concentração de substâncias húmicas nas águas oceânicas (Nyquist, 1979). Esta técnica avalia a estrutura, o grau de humificação e o tamanho das moléculas dos ácidos húmicos do solo. Esta técnica tem vantagens sob o RMN e ESR, porque é de mais fácil execução, mais barata e mais sensível. Esta técnica é baseada na presença estabelecida de várias estruturas fluorescentes intrínsecas que as moléculas húmicas possuem (Milori et al., 2002).

Um espectro de emissão de fluorescência típico é aquele com um perfil de faixa largo com um cume de fluorescência de máximo que mostra um “red-shift” (deslocamento-vermelho) distinto para moléculas de peso molecular mais altas (Ewald et al., 1988; Belin et al., 1993).

Kumke et al. (1995); Zsolnay et al. (1999) e Kalbitz et al. (1999) mostraram que a fluorescência se correlaciona positivamente com a concentração de cromóforos aromáticos; Ewald et al. (1988) demonstraram que existe uma correlação negativa com o peso molecular das amostras húmicas, esse fato se deve à baixa eficiência da fluorescência de extinguir o interior em moléculas de peso mais alto.

Desta maneira, substâncias que apresentam maior concentração de moléculas aromáticas condensadas e com baixo peso molecular apresentaram valores altos de fluorescência total (Ewald et al., 1988; Belin et al., 1993). Pode-se atribuir o alto valor de fluorescência total à concentração de cromóforos aromáticos condensados, ou seja, quanto maior a concentração de cromóforos aromáticos condensados maior será o valor da fluorescência total.

2.2.6. Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

A espectroscopia na região do infravermelho é uma das técnicas usadas na caracterização de macromoléculas complexas e orgânicas, como por exemplo, as que constituem as substâncias húmicas. Essa técnica é usada para estimar quantitativamente os grupos funcionais das substâncias (Neimeyer et al., 1992).

Segundo Stevenson (1994), a importância da espectroscopia IV no estudo de substâncias húmicas reside no fato de, através dela, ser possível:

- a) obter informações sobre a natureza, a reatividade e o arranjo estrutural dos grupos funcionais oxigenados presentes;
- b) identificar a ocorrência de estruturas de carboidratos e proteínas;
- c) estabelecer a presença ou a ausência de impurezas inorgânicas (metais, argilo-minerais);
- d) realizar análise quantitativa sob condições controladas.

Este método produz uma série de informações que permitem fazer inferências sobre a gênese e o comportamento de substâncias húmicas formadas em diferentes ambientes (Malcolm, 1990).

A espectroscopia no infravermelho tem contribuído para o estudo das diferenças entre frações de material orgânico de diversas origens, mediante informações sobre a natureza dos grupos funcionais. Além disso, com essa técnica pode-se ter uma idéia das modificações nas moléculas de substâncias húmicas ocasionadas pelos tratamentos químicos e da pureza do material (Gressel et al., 1995).

Ceretta et al. (1999) descrevem que a espectroscopia baseia-se nos diversos tipos de ligações químicas e de estruturas moleculares existentes numa molécula absorvem radiação eletromagnética na região do infravermelho, em comprimentos de ondas característicos e, como conseqüência, os átomos envolvidos entram em vibração (Quadro 2).

Silverstein et al. (1991) afirmam que na espectroscopia no infravermelho são empregados níveis de energia situados entre a região do visível e a de microondas, o que permite distinguir as vibrações moleculares de diversos grupos funcionais e estruturas.

Por outro lado, não é uma técnica quantitativa, pois, como é uma absorção molecular, o espectro gerado é de bandas. Os espectros no IV correspondem a um gráfico de frequência ou comprimento de onda de absorção, relacionado com a intensidade de absorção, medida em transmitância ou absorvância (Ceretta et al., 1999).

Quadro 2. Atribuições das principais bandas de absorção no infravermelho de substâncias húmicas

Nº de onda (cm ⁻¹)	Atribuições
3400-3300	estiramentos O-H e N-H inter- e intra-molecular
2940-2840	estiramento C-H alifático
1725-1720	estiramento C=O de COOH e cetona (traços)
1660-1630	estiramentos C=O de amida (amida I), C=O de quinona e/ou C=O ligados ao H de cetonas conjugadas
1630-1600	estiramento C=C aromático
1650-1580	estiramento COO simétrico
1590-1517	deformação N-H e estiramento C-N
1460-1435	estiramento C-H alifático e de grupos metila
1400-1380	deformação OH e estiramento C-O de OH fenólico deformação C-H de CH ₂ e CH ₃ , estiramento COO, assimétrica
1280-1200	estiramento C-O e deformação OH de COOH, estiramento C-O (de aril-éteres, ésteres, aromático, fenólico)
1170-1100	estiramento C-O de estruturas tipo polissacarídios
1031	estiramento Si-O (impurezas)

3. MATERIAL E METÓDOS

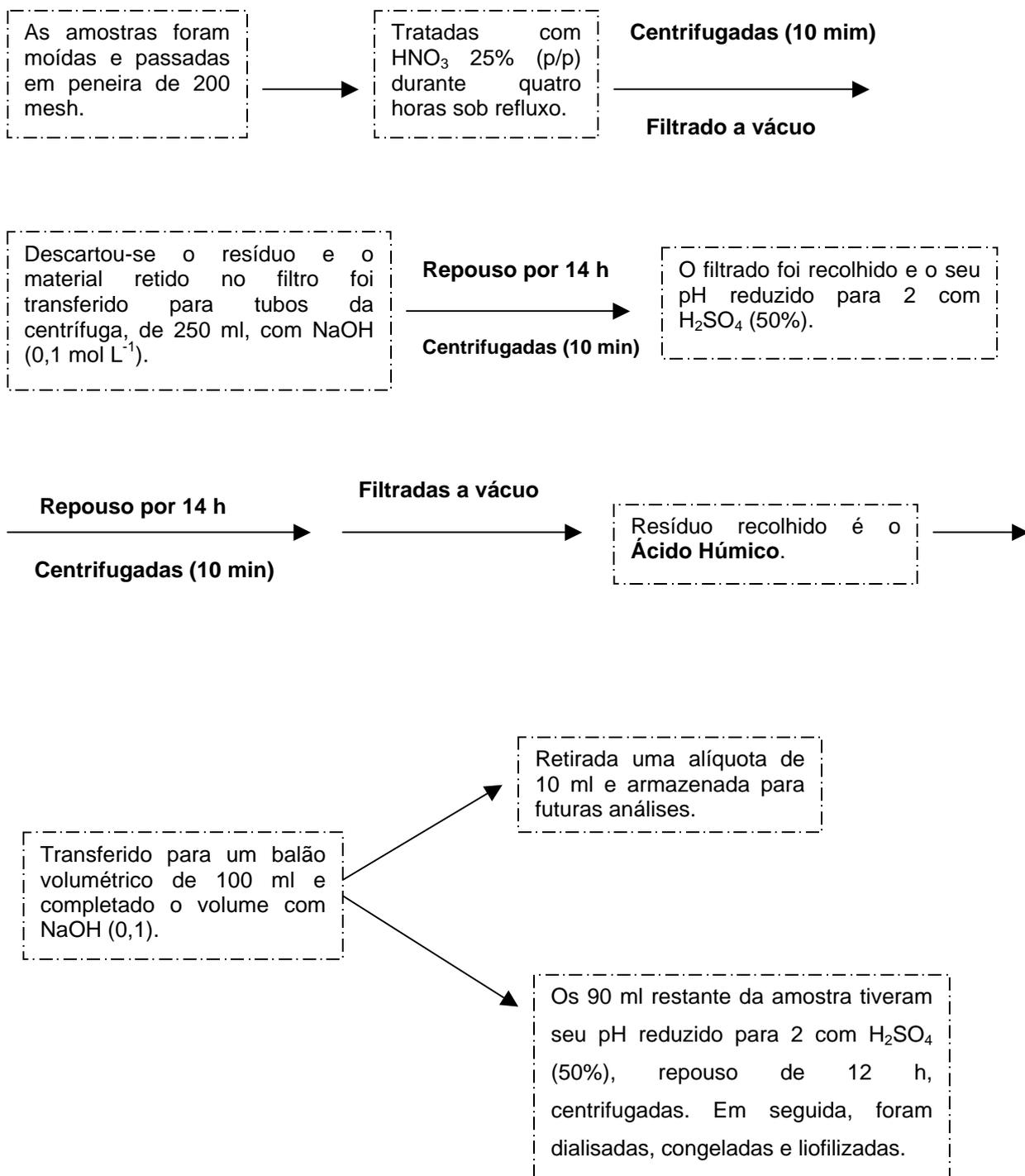
3.1. Produção do carvão

O carvão foi produzido no Laboratório de Energia de Biomassa do Departamento de Engenharia Florestal na Universidade Federal de Viçosa. Foi produzido carvão vegetal com duas espécies de nativas, *Mimosa tenuiflora* (jurema preta) e *Aspidosperma pyrifolium* (pereiro). As carbonizações foram realizadas em sete diferentes temperaturas, 250, 300, 350, 400, 450, 500 e 550 °C, durante nove horas. Foram avaliados quatorze (2 x 7) tratamentos, com duas repetições cada, num total de vinte e oito carbonizações, em delineamento inteiramente casualizado. Os carvões produzidos foram moídos em um “moinho” (pulverizador) e passadas em peneiras de 200 mesh, sendo recolhidas as amostras, retidas na peneira.

As espécies escolhidas apresentam bom potencial para produção de carvão e também são espécies de grande ocorrência no Nordeste.

Oliveira (2003) estudou e avaliou as seguintes características de qualidade do carvão vegetal: rendimento gravimétrico (RG), rendimento em líquido condensado (RLC), densidade aparente (DA), densidade verdadeira (DV), materiais voláteis (MV), cinzas (CIZ), carbono fixo (CF) e poder calorífico superior (PCS), verificando que essas duas madeiras produzem carvão vegetal de excelente qualidade.

3.2. Produção, extração e purificação de ácidos húmicos



A produção dos ácidos húmicos (AH), citado no esquema acima, foi realizada nas instalações da EMBRAPA Solos, do Rio de Janeiro. A metodologia utilizada foi a proposta por Haumeir e Zech (1995).

Todas as centrifugações, foram realizadas em centrífuga refrigerada de alta rotação, por 10 min a uma rotação de 5000 g ($RCF_{média}$), primeira, e as próximas a 10.000 g ($RCF_{média}$).

Na filtragem à vácuo foram utilizados filtros de celulose com 0,45 μ m de poro e 47 mm de diâmetro.

Depois de liofilizadas, as amostras foram armazenadas em tubos plásticos, com capacidade de 1,5 mL, e conservadas em dessecador para as futuras análises.

3.3. Análises físico-químicas dos ácidos húmicos

3.3.1. Determinação do teor de carbono orgânico total nas frações do carvão

Em tubos digestores foi colocada uma alíquota de 1 mL de solução de ácido húmico e adicionados mais 1 mL de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) a 1,0 mol/L e 5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. Foram realizados 3 testes brancos aquecidos e 3 testes brancos não aquecidos, os testes brancos continham somente $K_2Cr_2O_7$ a 3 mol/L e 5 mL de H_2SO_4 concentrado. Esses tubos foram levados pra um bloco digestor pré aquecido a 150 °C onde ficaram reagindo por 30 minutos dentro da capela, em seguida os tubos foram removidos e deixados estriar por 30 minutos, as amostras foram então transferidas quantitativamente para erlemayer de 125 mL, usando água destilada suficiente para transferir o conteúdo, tomando-se o cuidado de não ultrapassar um volume de 50 mL. Foram adicionados três gotas de indicador ferroin e titulados com sulfato ferroso amoniacal [$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$] a 0,05 mol/L, SFA, sob agitação magnética. A cor da solução passa de violeta para verde. A titulação foi realizada com um titulador automático (Yoemans e Bremer, 1988).

O carbono orgânico contido na amostra é calculado pela seguinte fórmula:

$C = (V_{\text{baq}} - V_{\text{am}}) \times C_{\text{SFACorr}} \times 12/4 \times 50/\text{aliquota}(\text{mL}) \times 1/\text{peso da amostra (g)}$

C= mg de C na forma de ácido húmico por grama de solo

V_{baq} = volume (ml) de SFA consumido na titulação de branco aquecido

V_{am} = volume (ml) de SFA consumido na titulação de amostra

C_{SFACorr} = Concentração (mol/L) do SFA corrigido pela equação:

$$C_{\text{SFACorr}} = \frac{\text{Volume de dicromato} \times \text{Concentração do dicromato}}{\text{Volume de SFA consumido na titulação do branco sem aquecimento}}$$

O teor de carbono, na forma de ácidos húmicos, foi determinado pelo método de oxidação com dicromato de potássio em meio ácido.

3.3.2. Termogravimetria

O teor de cinzas dos ácidos húmicos foi determinado através da análise termogravimétrica. As curvas de termodecomposição foram obtidas através de um analisador termogravimétrico TGA-50 SHIMADZU, usando amostras de $3,0 \pm 0,5$ mg de ácidos húmicos liofilizado, em ambiente estático ao ar (Benites, 2002). A curva de aquecimento utilizada foi de 0 a 105 °C, onde foi efetuado um tempo de espera de 30 minutos; em seguida, continuou-se o aquecimento até 650 °C, sendo a taxa de aquecimento 5 °C min⁻¹. O tempo de espera se faz necessário, pois é nesse intervalo de 0 a 105 °C que se garante a perda total de umidade da amostra (Benites, 2002). O processo termina quando ocorre a estabilização do peso do resíduo, a duração do processo é, em média, de 2 h e 30 min por queima de amostra, mais 30 minutos para tempo de resfriamento do aparelho. O teor de cinzas é o resíduo remanescente na “panela” do aparelho,

ou seja, são os elementos minerais que persistem nas substâncias húmicas, mesmo após o processo de purificação.

As curvas de termodecomposição foram obtidas através de um programa, TG-50 WSI, que se encontra instalado no computador acoplado ao TG-50 SHIMADZU.

3.3.3. Análise Elementar (CHN)

Outro parâmetro químico analisado foi a composição elementar dos ácidos húmicos, onde foi obtido o conteúdo relativo de carbono, hidrogênio e nitrogênio. O conteúdo relativo dos átomos é expresso em função da massa, por este motivo se faz necessário determinar previamente o teor de cinzas Santos e Camargo (1999). Esses elementos foram determinados em um analisador elementar Perkin Elmer PE-2400 CHNS. Foram pesadas amostras de $2.000 \pm 0,300$ mg em uma microbalança que fica acoplada ao aparelho. Foram realizadas três repetições de cada tratamento. O aparelho foi padronizado antes das leituras e a acetanilida foi utilizada como padrão de referência. Foi realizado um teste branco para cada seis amostras rodadas.

As razões atômicas foram calculadas pelas seguintes equações:

$$\text{H:C} = ((\%C/12) / (\%H/1)),$$

$$\text{C:N} = ((\%C/12) / (\%N/14)) \text{ e}$$

$$\text{O:C} = ((\%O/16) / (\%C/12))$$

Os valores de oxigênio foram obtidos, de forma indireta, pela diferença entre o somatório dos elementos C, N e H.

3.3.4. Titulação Potenciométrica

A titulação potenciométrica no estudo das substâncias húmicas tem como objetivo distinguir diferentes grupos reativos.

As titulações dos ácidos húmicos, em força iônica constante, com NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, foram executadas em um sistema

potenciométrico, com eletrodos combinados de vidro e de referência de Ag/AgCl, interfaceado a um microcomputador. O titulante foi adicionado por bombeamento peristáltico, sendo medidos o volume do titulante e o pH da solução, após cada adição (Guimarães, 2000).

Para cada amostra, foram pesados 0,10 g de ácido húmico e adicionados 4 ml de NaOH 0,1 mol L⁻¹ em NaCl 0,1 mol L⁻¹, sob atmosfera de nitrogênio, para uma prévia solubilização da amostra; em seguida, foram adicionados 20 mL de NaCl 0,1 mol L⁻¹, sob agitação magnética foi adicionado um excesso de ácido clorídrico 20% v/v até se obter um pH de, aproximadamente, 2,0. Após o ajuste, deu-se início à titulação com a adição da solução de hidróxido de sódio padronizada com solução de biftalato de potássio. Foram obtidos aproximadamente 151 pontos da curva para cada titulação; a titulação tinha seu término quando a curva atingia sua constância. As titulações foram executadas em duplicata ou triplicata em alguns casos.

O sistema de titulação potenciométrica (Figura 2) desenvolvido no Laboratório de Instrumentação e Quimiometria, do Departamento de Química da UFV, é baseado no potenciômetro da ORION, modelo 901, com a propulsão da solução titulante feita através de uma bomba peristáltica e o controle das injeções através de válvulas solenóides de teflon (Guimarães, 2000).

Todo o sistema é gerenciado e os dados potenciométricos são adquiridos sob o controle de um programa desenvolvido em ambiente Windows, na linguagem Visual Basic 5.0 Microsoft. As curvas de titulação foram preparadas no programa gráfico Microcal Origin 5.0.

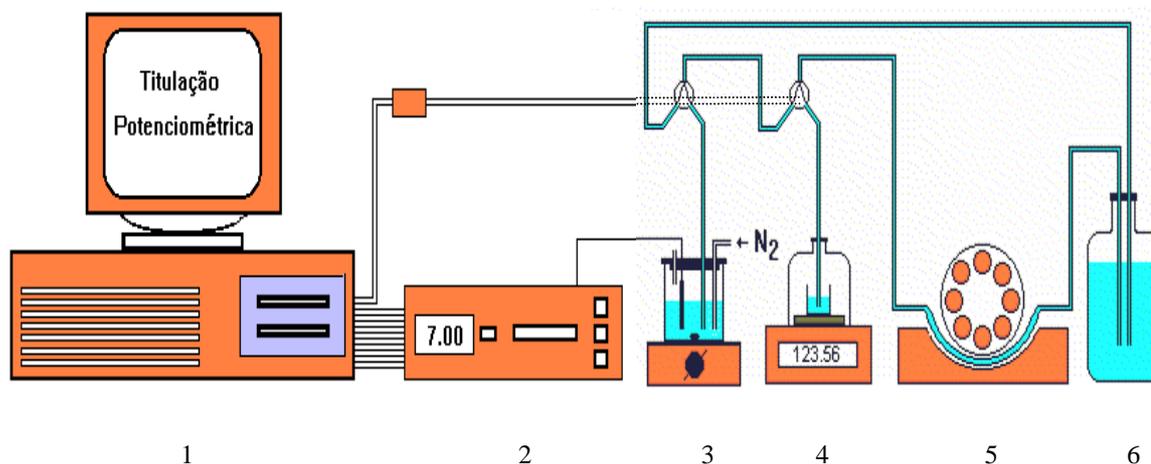


Figura 2 - Esquema do titulador potenciométrico: 1 – microcomputador PC-486; 2 – potenciômetro Orion 901; 3 – cela de titulação; 4 – balança eletrônica semi-analítica; 5 – bomba peristáltica; 6 – frasco de titulante; V1 e V2 – válvulas solenóides “three way”.

Depois da obtenção dos dados nas titulações potenciométricas, aplicou-se o programa de ajuste por regressão não-linear, permitindo-se a determinação do valor de pK_a , dos grupos ácidos e a sua quantificação.

3.3.5. Análise Espectrofotométrica no UV-Visível

Em estudos de caracterização de ácidos húmicos no solo também é comum a utilização da razão E_4/E_6 (absorvância em 465/ absorvância em 665 nm).

Para esta análise, foram pesados cerca de 2 mg do ácido húmico, para cada amostra, e diluídos em 100 mL de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, para ajuste do pH. As leituras foram feitas em um espectrofotometro, utilizando cubeta de quartzo com 1 cm de caminho ótico.

3.3.6. Análise por Fluorescência espectral

Para a análise de fluorescência foram pesados 2,0 mg de ácidos húmicos e dissolvidos em 100 mL de solução de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A fluorescência foi medida usando um fluorímetro,

modelo QMI Photon Technology International, equipado com monocromadores de excitação e emissão – ambos os slits (fendas) em 4 nm. Fonte de Excitação – lâmpada de Xenônio 450 W. O método utilizado foi o proposto por Zsolnay et al. (1999). Mediu-se o espectro de emissão com uma excitação inicial em 220 nm. Os espectros foram obtidos numa faixa de emissão entre os comprimentos de onda de 220 a 500 nm.

3.3.7. Análise Espectrofotométrica no Infravermelho

A espectrofotometria no infravermelho tem contribuído para o estudo das diferenças entre as frações de material orgânico de diversas origens, mediante informações sobre a natureza dos grupos funcionais.

Os espectros dos ácidos húmicos no infravermelho são obtidos em pastilhas de KBr ($2 \pm 0,2$ mg de ácido húmico + 100 mg de KBr pulverizado e seco a 110 °C). As leituras foram feitas na faixa de $4.000-400$ cm^{-1} . Cada espectro foi obtido pela média de 128 leituras, com uma resolução de 4 cm^{-1} .

Os espectros dos ácidos húmicos no infravermelho foram lidos em um espectrômetro de infravermelho Perkin-Elmer FTIR Spectrum 1000. Os espectros foram adquiridos e armazenados no formato ASCII e preparados no programa gráfico Origin, versão 5.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise elementar (CHN)

Os teores de carbono encontrados para as duas espécies estão de acordo com os valores médios normalmente encontrados para ácidos húmicos extraídos de solos (McBride, 1994; Schnitzer e Khan, 1978; Steelink, 1985), exceto para a temperatura de 250 °C, onde não houve a formação de ácidos húmicos; nesta temperatura, foi observada somente a presença de uma “cera”.

Para *Aspidosperma pyrifolium*, os maiores teores de carbono encontrados foram de 68,26 e 67,70 %, respectivamente para as temperaturas de 400 e 500 °C. Para a *Mimosa tenuiflora* os maiores valores encontrados foi de 66,88 e 65,71 % de carbono, nas temperaturas de 500 e 400 °C, respectivamente(Quadro 3).

Quadro 3. Resultados da análise elementar e razões atômicas de ácidos húmicos derivados de carvão vegetal.

<i>Mimosa tenuiflora</i> (jurema preta)							
Tratamento	C(%)	H(%)	N(%)	O(%)	H:C	C:N	O:C
(°C)							
250	-	-	-	-	-	-	-
300	62,14	5,58	6,38	25,89	1,08	11,36	0,31
350	61,24	2,40	4,27	32,09	0,47	16,71	0,39
400	65,71	2,22	3,82	28,25	0,40	20,05	0,32
450	65,66	1,99	3,53	28,82	0,36	21,71	0,33
500	66,88	3,93	2,60	26,59	0,71	30,03	0,30
550	64,61	3,43	2,21	29,75	0,64	34,07	0,35
<i>Aspidosperma pyrifolium</i> (pereiro)							
Tratamento	C(%)	H(%)	N(%)	O(%)	H:C	C:N	O:C
(°C)							
250	-	-	-	-	-	-	-
300	62,91	4,21	5,21	27,67	0,80	14,10	0,33
350	61,86	4,41	4,46	29,27	0,86	16,18	0,35
400	68,26	3,70	4,27	23,78	0,65	18,66	0,26
450	63,23	3,18	3,77	29,82	0,60	19,54	0,35
500	66,35	2,85	3,71	27,08	0,52	20,85	0,31
550	67,70	2,07	3,65	26,58	0,37	21,65	0,29
Ácido húmico padrão da IHSS							
IHSSref	56,37	3,82	3,69	37,43	0,81	17,82	0,50

IHSS – Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas; IHSSref. – resultados da amostra padrão fornecidos pela IHSS

Os teores de H para *Mimosa tenuiflora* nas temperaturas de 350, 400 e 450 °C foram inferiores aos valores encontrados geralmente na literatura, onde

são citados teores médios de H, na faixa de 3,2-6,2 % (Schnitzer e Khan, 1978). Para *Aspidosperma pyrifolium* os valores inferiores encontrados foram de 2,85 e 2,07 % de H, nas temperaturas de 500 e 550 °C, respectivamente. Os baixos valores de hidrogênio indicam a alta aromaticidade destas moléculas.

Em relação ao teor de N, observou-se que para *Mimosa tenuiflora* os valores vão decrescendo com o aumento da temperatura e que na temperatura de 300 °C o valor encontrado 6,38 %, é superior ao encontrado normalmente na literatura, Schnitzer e Khan (1978) sugerem valores entre 0,8-4,3 %. A mesma tendência foi observada para *Aspidosperma pyrifolium*. A maior parte do nitrogênio da molécula foi adicionado pelo tratamento em ácido nítrico, uma vez que o carvão vegetal é muito pobre em nitrogênio.

Os valores de oxigênio foram obtidos, de forma indireta, pela diferença entre o somatório dos elementos C, N e H. Os valores de O encontrados foram inferiores aos valores encontrados na literatura. O resultado mostra o baixo grau de oxidação destes ácidos húmicos extraídos, o que deve se refletir em menor presença de grupos funcionais.

As razões atômicas H:C encontradas para os ácidos húmicos extraídos das duas espécies estão de acordo com os resultados encontrados normalmente na literatura, que são abaixo de 1,0 ou, de aproximadamente, 1,0 (Steelink, 1985). Em relação às razões atômicas O:C os valores encontrados também estão de acordo com os citados na literatura. Steelink (1985) sugere que os valores para ácidos húmicos extraídos do solo estejam próximos de 0,5.

De acordo com Gomes (1994), o nitrogênio pode ocorrer na forma de estruturas peptídicas em cadeias laterais ou mesmo na forma de heteroanéis. Lima et al. (2001), estudando ácidos húmicos extraídos de Terra Preta arqueológica, observaram que a maior parte do nitrogênio, obtido pela análise elementar destes compostos, estava associado ao núcleo aromático. Nas amostras de maior grau de condensação a alta recalcitrância, o nitrogênio provavelmente está concentrado no núcleo (Benites, 2002). O nitrogênio vem decrescendo com o aumento da temperatura nos ácidos húmicos extraídos do carvão vegetal, para as duas espécies; à medida que aumenta a temperatura,

mais condensada, a molécula mais associada ao núcleo o nitrogênio e também em maiores temperaturas a tendência das cadeias laterais é de se romperem.

4.2. Termogravimetria

Dois eventos foram visualizados na curva da primeira derivada dos termogramas (Figura 3), essas tendências foram observadas para todos os ácidos húmicos das duas espécies. Este aspecto bimodal da curva da primeira derivada do termograma tem sido observado por vários pesquisadores para ácidos húmicos (Turner e Schnitzer, 1962; Shurygina et al., 1971; Esteves e Duarte, 1999). O mesmo comportamento foi observado para os ácidos húmicos extraídos de carvão vegetal, para as duas espécies.

Segundo Benites (2002), o índice termogravimétrico (ITG), que representa a resistência da amostra a termodegradação, é dado pela relação entre a perda de peso no primeiro evento (PPI 105-350 °C) e a perda de peso no segundo evento (PPI 350-650 °C), está representado no Quadro 5.

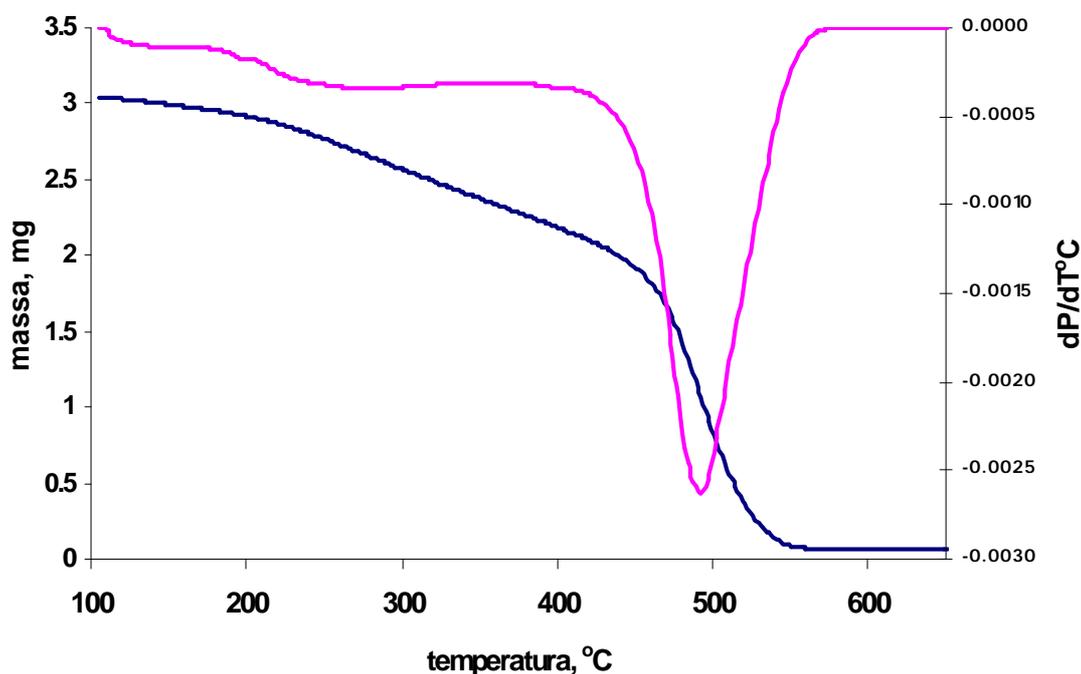


Figura 3 - Curva da primeira derivada do termograma de ácido húmico extraído de carvão vegetal, indicando dois eventos de queima definidos (105 a 350 °C e 350 a 650 °C).

Shurygina et al. (1971) atribuíram o primeiro evento à termodegradação das cadeias laterais alifáticas e o segundo evento à termodegradação do núcleo aromático; esses dois eventos foram bem definidos para as duas espécies.

Campanella e Tomassetti (1990) afirmaram que o núcleo policíclico aromático permanece inalterado em temperaturas superiores a 300 °C. Ibarra et al. (1994) relacionaram a perda de peso até 300 °C à termodegradação de grupos funcionais e cadeias alifáticas.

Para as duas espécies, os valores de ITG foram aumentando com o aumento da temperatura (Quadro 4).

Em média, os valores de ITG obtidos foram de 2,7 para *Mimosa tenuiflora* e 3,0 para *Aspidosperma pyrifolium*, mostrando uma semelhança entre as duas espécies. De acordo com Benites (2002), estes resultados sugerem uma forte resistência à termodegradação, e conseqüentemente, uma forte resistência à decomposição química dos ácidos húmicos extraídos de carvão vegetal, sugerindo a existência de estruturas aromáticas fortemente condensadas (policondensadas). O teor de cinzas apresentou valores, em geral, bem diferentes entre os tratamentos e entre as espécies. Os valores mais altos podem ter sido causados por alguma falha no processo de desmineralização ou ser uma característica peculiar da madeira; outra hipótese é a presença de silicatos na madeira que ocasionam altos valores de teores de cinzas.

Quadro 4. Resultados da análise termogravimétrica de ácidos húmicos derivados de carvão vegetal

<i>Mimosa tenuiflora</i> (jurema preta)					
Tratamento	Umidade	Cinzas	PPI	PPI	ITG
(°C)	(%)	(%)	(105-350 °C)	(350-650 °C)	
250	-	-	-	-	-
300	18,03	6,16	26,73	49,07	1,84
350	10,32	4,99	28,44	56,24	1,98
400	15,80	2,07	22,00	60,12	2,73
450	14,32	2,36	18,96	64,35	3,39
500	17,58	3,13	19,48	59,80	3,07
550	14,63	2,21	19,61	63,54	3,24

<i>Aspidosperma pyrifolium</i> (pereiro)					
Tratamento	Umidade	Cinzas	PPI	PPI	ITG
(°C)	(%)	(%)	(105-350 °C)	(350-650 °C)	
250	-	-	-	-	-
300	15,92	5,51	26,81	51,75	1,93
350	17,11	1,74	26,42	54,72	2,07
400	14,14	4,77	20,09	60,99	3,04
450	11,04	0,47	20,88	67,60	3,24
500	9,05	2,62	19,62	68,69	3,50
550	15,44	4,24	16,20	64,11	3,96

PPI- Perda de massa por ignição nas faixas de temperaturas mencionadas (%);
ITG- Índice termogravimétrico.

4.3. Infravermelho

Os espectros no infravermelho, obtidos para os ácidos húmicos extraídos da *Mimosa tenuiflora* e da *Aspidosperma pyrifolium*, demonstraram feições muito similares, com picos característicos em determinadas regiões,

variando em intensidade, mas com poucas variações nas frequências de transmitância.

Foi observado que para os diferentes tratamentos não houve muita diferença entre os espectros; esse fato ocorreu para as duas espécies.

Os espectros encontrados para as duas espécies e para os diferentes tratamentos são similares aos encontrados na literatura para ácidos húmicos (Ceretta et al., 1999).

Stevenson e Goh (1971) propuseram a classificação dos espectros do infravermelho de ácidos húmicos em três tipos geral: Tipo I, Tipo II e Tipo III. O Tipo I são aqueles geralmente típicos dos ácidos húmicos, onde são evidenciados bandas fortes e evidentes próximas de 3400, 2900, 1720, 1600 e 1200 cm^{-1} . Neste trabalho foram encontrados valores próximos a esta classificação. Mostrando mais uma vez que o material extraído neste trabalho é muito semelhante aos ácidos húmicos do tipo I, encontrados em solos.

O espectro de ácido húmico, obtido do carvão da *Mimosa tenuiflora* (Figura 4) dos diferentes tratamentos, mostra a presença de grupos OH, através do surgimento de picos variando de 3400 à 3364 cm^{-1} . Segundo Stevenson (1994) picos na faixa de 3750-3400 cm^{-1} , são regiões típicas de sinais, causadas por deformações axiais e angulares de ligações O-H encontradas em ácidos húmicos ou da presença de água nas amostras. Em alguns casos, estiramentos de grupos NH podem contribuir para a absorção nesta região (Stevenson, 1982). Outra faixa de picos encontrada foi de 2644 à 2584 cm^{-1} que, segundo Baes e Bloom (1989) correspondem a deformação axial de O-H em grupo carboxílico. Kumada (1987) propôs para esta faixa um espectro Tipo A onde ele atribui bandas próximas a 2630 cm^{-1} a grupos OH estirando de COOH.

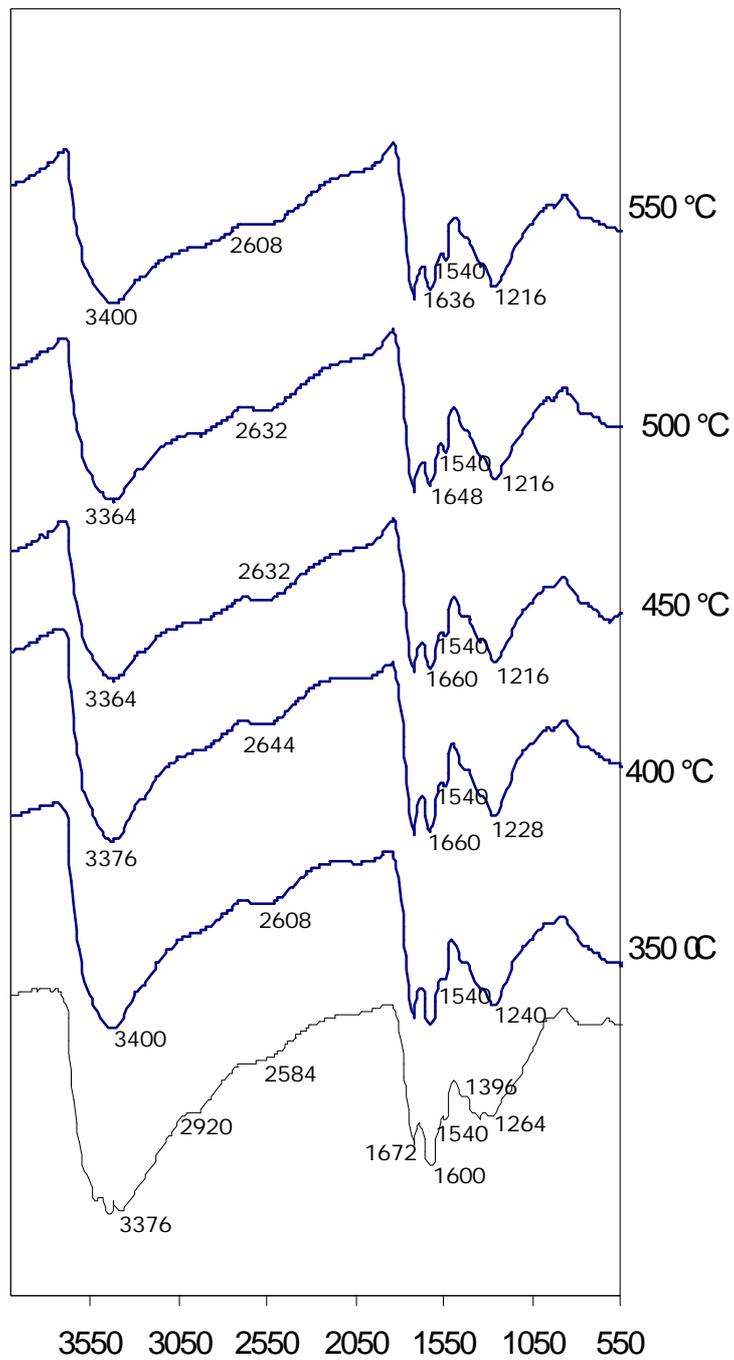


Figura 4 - Espectros de transmitância no infravermelho dos ácidos húmicos extraídos de carvão vegetal da *Mimosa Tenuiflora*.

Foram observados picos entre 1660 a 1600 cm^{-1} , que segundo MacCarthy; e Rice (1985) e Vinkler et al. (1976), são atribuídos a deformação axial assimétrica do ânion carboxilato em ligação covalente com metal; contribuição de amido, cetona ou quinona. Esse fato é um indicativo da formação de um composto de coordenação entre carboxila e o metal. Stevenson (1994) e Tan (1996) estabelecem uma faixa de 1660-1630 cm^{-1} a estiramentos C=O de amida (amida I), C=O de quinona e/ou C=O ligados ao H de cetonas conjugadas. Baes e Bloom (1989) e Vinkler et al. (1976) identificaram uma outra faixa que vai de 1620-1600 cm^{-1} e atribuíram a deformação axial assimétrica do ânion carboxilato deionizado ou com ligação iônica com metal; deformação axial de C=C de anel aromático. Também concordam com estes autores, Stevenson (1994) e Tan (1996), que atribuem a faixa de 1630-1600 cm^{-1} a estiramento C=C aromático.

Foi encontrado um pico no valor de 1540 cm^{-1} , comum para todos os tratamentos, mais evidente nas temperaturas maiores que 400 °C, para Hernandez et al. (1993), este pico está associado à deformação de C=C de anel aromático, também estão de acordo com estes autores, Baes e Bloom (1989), que também atribuem este pico ao estiramento C=C aromático.

Picos entre 1264-1216 cm^{-1} foram observados em todos os espectros e segundo Stevenson (1994) e Tan (1996) estão relacionados ao estiramento de C-O e deformação OH de COOH, estiramento C-O (de aril-ésteres, ésteres, aromático, fenólico). Corroborando com estes valores também estão Baes e Bloom (1989) e Ricca et al. (1993) que atribuem os valores entre 1262-1234 cm^{-1} , a deformação de axial de C-OH em grupos carboxílicos ou fenólicos.

O espectro de ácido húmico obtido do carvão da *Aspidosperma pyrifolium* (Figura 5) nos diferentes tratamentos, mostrou-se muito semelhante aos espectros da *Mimosa tenuiflora*, os picos encontrados estão na mesma faixa de número de onda.

Os espectros dos ácidos húmicos extraídos de carvões de *Mimosa Tenuiflora* e para *Aspidosperma pyrifolium* podem ser classificados como espectros Tipo I segundo a proposta de Stevenson e Goh (1971), ou como do

tipo A segundo Kumada (1987), ou seja, podem ser classificados como espectros típicos de ácidos húmicos de solos.

O infra-vermelho mostrou-se uma análise importantíssima pois através deste estudo pode-se mostrar as características mais importantes dos ácidos húmicos, ou seja, foi importante na identificação de diferenças qualitativas entre os ácidos húmicos provenientes das diferentes espécies e de seus respectivos tratamentos.

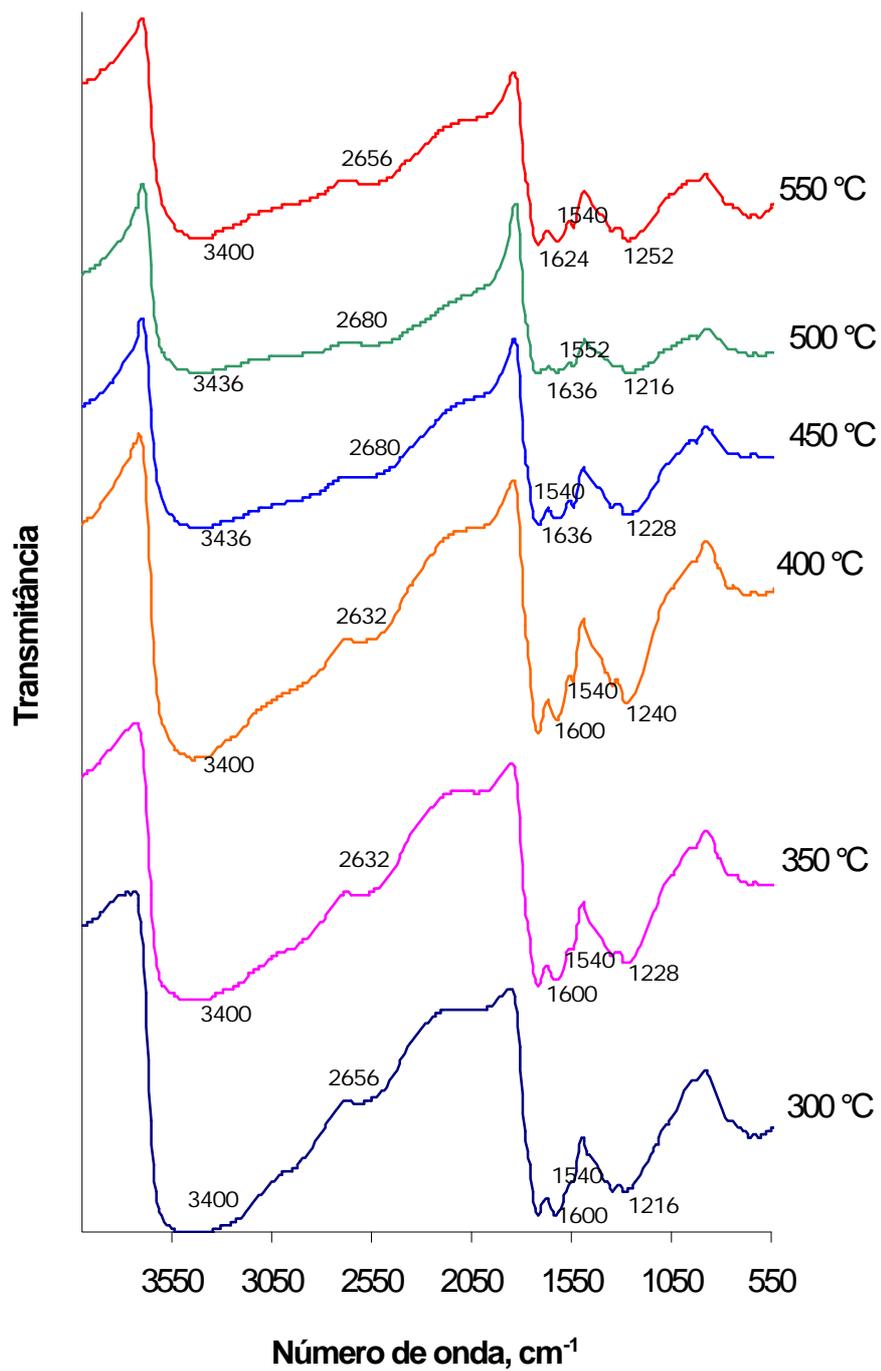


Figura 5 - Espectros de transmitância no infravermelho dos ácidos húmicos extraídos de carvão vegetal da *Aspidosperma pyriformium*.

4.4. Análise Espectrofotométrica no UV-Visível

O comprimento de onda teve um comportamento crescente, acompanhando o aumento da temperatura, essa tendência só não foi observada na temperatura de 550 °C. Esse comportamento estendeu-se para as duas espécies estudadas (Quadro 5).

Quadro 5. Razão E₄/E₆ das amostras de ácidos húmicos derivados de carvão vegetal de *Mimosa tenuiflora* e *Aspidosperma pyriformium*.

<i>Mimosa tenuiflora</i> (jurema preta)			
Tratamento (°C)	465 nm	665 nm	E4/E6
300	0,110	0,011	10,0
350	0,145	0,016	9,1
400	0,173	0,024	7,2
450	0,188	0,028	6,7
500	0,201	0,031	6,5
550	0,177	0,022	8,0

<i>Aspidosperma pyriformium</i> (pereiro)			
Tratamento (°C)	465 nm	665 nm	E4/E6
300	0,138	0,018	7,7
350	0,177	0,026	6,8
400	0,218	0,038	5,7
450	0,238	0,043	5,5
500	0,258	0,044	5,9
550	0,235	0,039	6,0

Em relação à razão E₄/E₆, os resultados revelaram um decréscimo em relação ao aumento de temperatura. Novamente, observou-se que essa tendência ocorreu até a temperatura de 500 °C; na temperatura de 550 °C,

observou-se um acréscimo na razão E4/E6, principalmente para *Mimosa tenuiflora*; para *Aspidosperma pyrifolium*, esse acréscimo foi mínimo.

Segundo Kononova (1966), a relação E4/E6 está relacionada à aromaticidade e ao grau de condensação dos ácidos húmicos, sendo usada como índice de humificação. Os resultados corroboram com a literatura, pois quanto maior a temperatura, menor a razão E4/E6; isso ocorre, porque à medida que vai aumentando a temperatura, as estruturas fenólicas tendem a se romper, principalmente, a partir de 350 °C, onde a lignina começa a se degradar, ou seja, começa haver degradação dos anéis aromáticos.

Por outro lado Chen, et al. (1977) relacionaram a razão E4/E6 ao peso molecular e ao tamanho das cadeias que constituem o ácido húmico. Notou-se esta relação para as duas espécies, pois à medida que a temperatura vai aumentando, as cadeias das moléculas, que formam o carvão, vão diminuindo e, conseqüentemente, os ácidos húmicos, derivados de tratamentos com temperaturas maiores, tendem a ter cadeias menores; isto ficou demonstrado pela razão E4/E6, que foi decrescendo com o aumento da temperatura.

Os valores de E4/E6 encontrados estão de acordo com o esperado para ácidos húmicos. Benites (2002) encontrou valores de E4/E6 para ácidos húmicos de solos entre 4,7-7,1. Em outros trabalhos, este mesmo autor encontrou ácidos húmicos com valores até 10.

4.5. Fluorescência

Observando as Figuras 6 e 7, verifica-se que para as duas espécies estudadas foram identificados quatro picos bem distintos nos espectros e outros menos expressivos. Isso ocorreu para todos os tratamentos, variando apenas a intensidade de fluorescência. Para *Mimosa tenuiflora*, observou-se uma grande variação de intensidade entre os tratamentos, principalmente para as temperaturas 300, 350 e 400 °C; também foi observado para a *Aspidosperma pyrifolium*, mas a variação foi menor, as duas principais variações foram para as temperaturas de 300 e 350 °C. O primeiro pico distinguido foi o de 304 nm (300, 350, 400 e 500 °C), 306 nm (450 °C) e

308 nm (550 °C) para a *Mimosa tenuiflora*. Já para a *Aspidosperma pyriformium*, o primeiro pico foi representado pelo valor de 304 nm para todos os tratamentos.

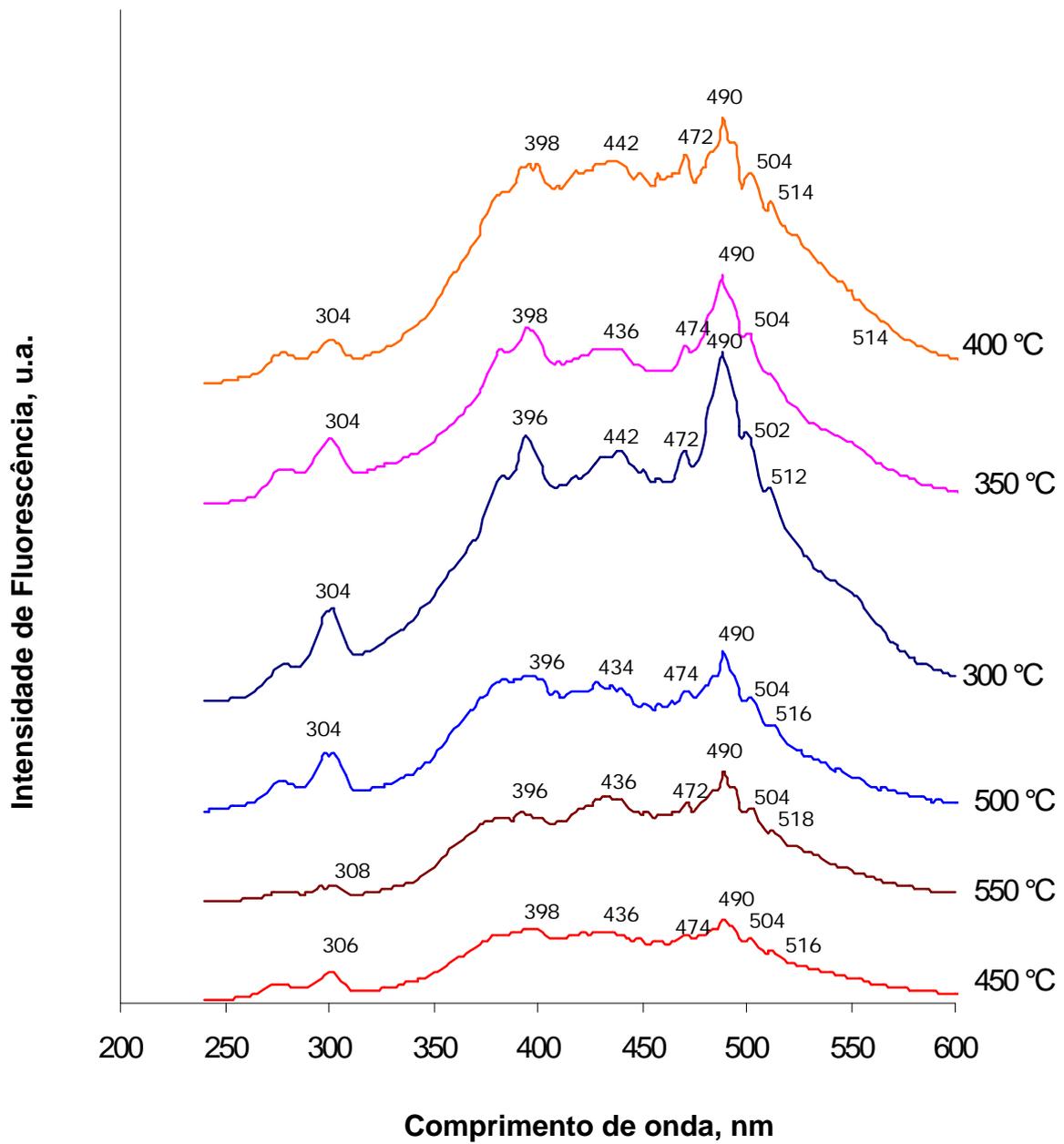


Figura 6 - Espectro de fluorescência da *Mimosa tenuiflora* mostrando os diferentes tratamentos (temperatura).

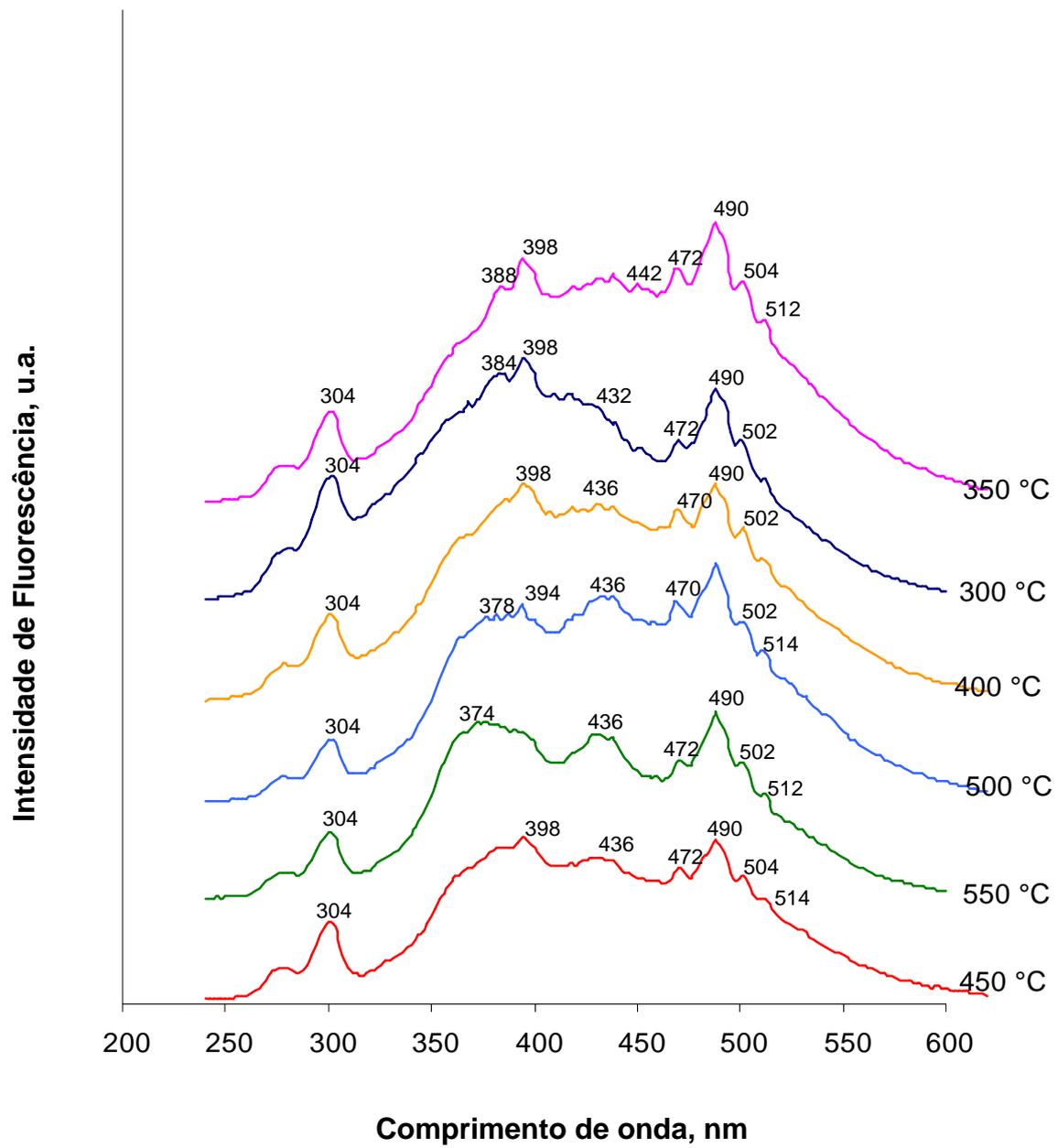


Figura 7 - Espectro de fluorescência da *Aspidosperma pyriformium* mostrando diferentes tratamentos (temperatura).

O segundo pico para *Mimosa tenuiflora* foi de 396 nm (300, 500 e 550 °C) e 398 nm (350, 400 e 450 °C) e para a *Aspidosperma pyriformium* foi 398 nm (300, 350, 400 e 450 °C), 394 nm (500 °C), 388 nm (350 °C), 384 nm (300 °C), 378 nm (500 °C) e 374 nm (550 °C). Também foi observados pico em 442 nm (300 e 400 °C), 436 nm (350, 450 e 550 °C) e 434 nm (500 °C) para a *Mimosa tenuiflora*. Para a *Aspidosperma pyriformium* foram observados picos em 442 nm (350 °C), 436 (400, 500, 500 e 550 °C) e 432 (300 °C).

Outro pico encontrado, porém, menos expressivo foi em 474 nm (350, 450 e 500°C) e em 472 nm (300, 400 e 550 °C), para a *Mimosa tenuiflora*, para a outra espécie, foram encontrados os seguintes valores, em 472 nm (300, 450 e 550 °C) e em 470 nm (350, 400 e 500 °C). Um pico encontrado em comum para as duas espécies em estudo e para todos os tratamentos foi em 490 nm. Também foi observada a presença de picos no valor de 504 e 516 nm (450 e 500 °C), 504 e 518 nm (550 °C), 504 e 512 nm (300 °C) e 504 e 514 (350 e 400 °C), para a *Mimosa tenuiflora*. Observou-se para a *Aspidosperma pyriformium*, em 504 nm (350 e 450 °C) e em 502 nm (300, 400, 500 e 550 °C), em 514 nm (450 °C) e em 512 (350 e 550 °C); para os demais tratamentos, não foi observado esse último pico.

Bloom e Leenher (1989) têm sugerido a presença de dois tipos principais de fluoróforos nos ácidos húmicos: a primeira excitação entre 315 e 390 nm, o qual é atribuído para carboxifenol, e um segundo, com uma excitação entre 415 e 470 nm. Foi observada a presença de faixa desses picos para as duas espécies, estabelecendo, assim, uma semelhança entre os ácidos húmicos extraídos do solo e os ácidos húmicos, produzidos a partir de carvão vegetal.

Rivero et al. (1998) mostraram espectros de emissão de fluorescência com uma banda larga de comprimento de onda entre 464 e 482 nm. Neste trabalho, foi encontrado uma banda em 470 nm para as temperaturas de 400 e 500 °C e um em 472 nm, para 300, 350, 450 e 550 °C. Barancíková et al. (1997) sugerem que bandas entre 508 e 481 nm são caracterizadas pela presença de compostos aromáticos condensados; estes compostos são capazes de um alto grau de conjugação, com carboxil e grupos carboxilícos.

4.6. Titulação Potenciométrica

As curvas de titulação de substâncias húmicas não apresentam pontos de inflexão bem definidos, por ser um ácido com valores de pK_a (constante de ionização dos ácidos) muito próximos; fica difícil de diferenciar visualmente mais que um ponto de inflexão nas curvas de titulação. Diante desta situação, foi traçado primeiramente o gráfico de dpH/dv como função do V (volume médio) e depois uma segunda derivada (dpH^2/dmv^2) como função do volume; o valor no qual esta tende a zero, fornece o volume de equivalência aproximada para cada grupo ácido (Figura 8). Através de gráficos de derivadas de titulações dos ácidos húmicos, consegue-se pré-determinar a constante de dissociação de grupos carboxílicos e fenólicos (Manunza et al., 1992).

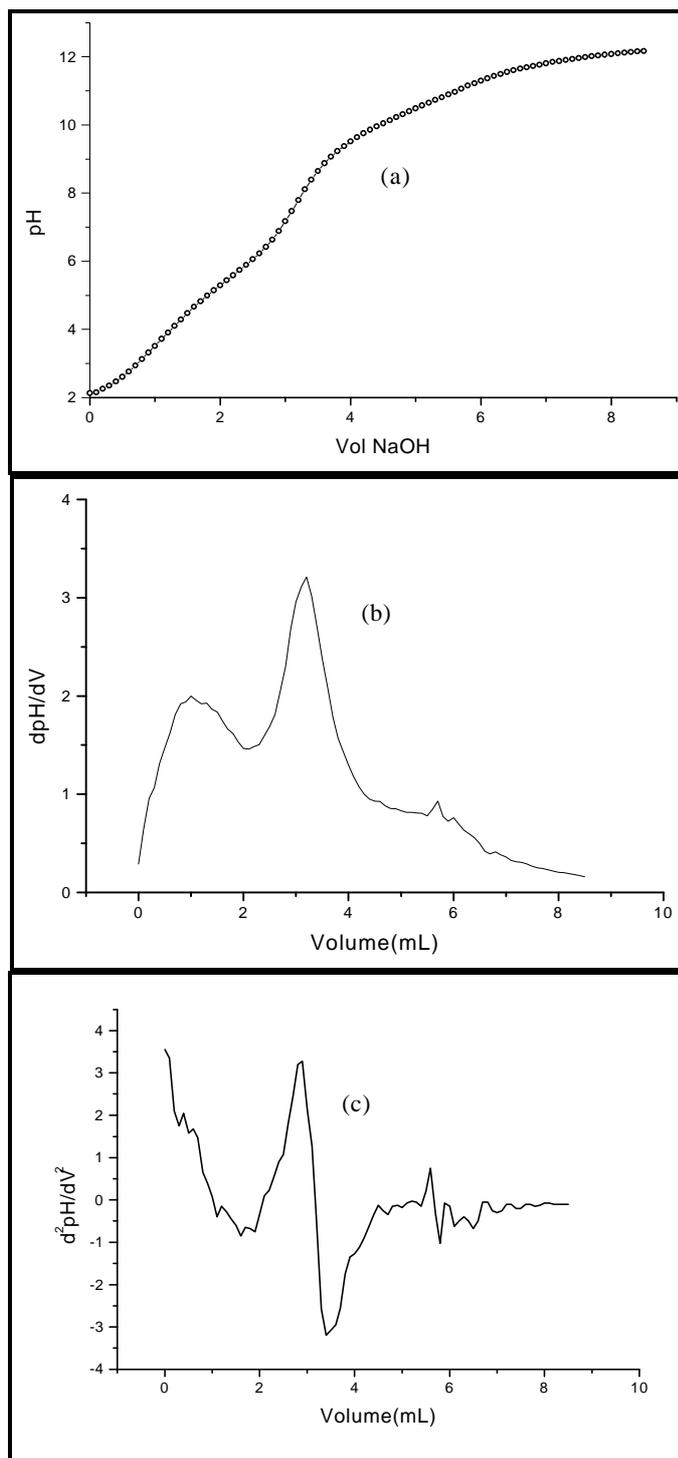


Figura 8 - a) curva de titulação potenciométrica do ácido húmico de carvão vegetal da *Mimosa tenuiflora* (400 °C); b) curva da primeira derivada; c) curva da segunda derivada.

Na curva de titulação que foi construída, com cerca de 151 pontos experimentais (V vs. pH), para as duas espécies, em estudo, os resultados foram considerados altamente satisfatórios e puderam ser confirmados, comparando as curvas de titulação experimental com as curvas ajustadas pelo programa de regressão não-linear, a maior parte da curva gerada pelo programa coincide com a curva de titulação real (Figura 9). Todas as curvas das duas espécies estudadas tiveram comportamentos semelhantes, e este comportamento foi igual as curvas obtidas de outros ácidos húmicos de solos e de vermicompostos, encontradas por Guimarães (2000) e Masini et al. (1998).

Foram considerados onze parâmetros, sendo um deles o volume utilizado para neutralizar o excesso de ácido forte, e os outros dez são referentes aos volumes de neutralização de cada um dos cinco ácidos fracos e seu respectivos pK_{as} , o mesmo utilizado por Guimarães (2000). Este mesmo autor descreve que os valores atribuídos aos parâmetros de volume são baseados no gráfico da derivada segunda, a partir do qual é possível estabelecer um intervalo possível de existência de um grupo titulável; a partir daí, refinar os valores até que estes possam convergir adequadamente. Os valores de pK_a foram baseados nos 5 valores citados, por Masini et al. (1998) para ácidos húmicos.

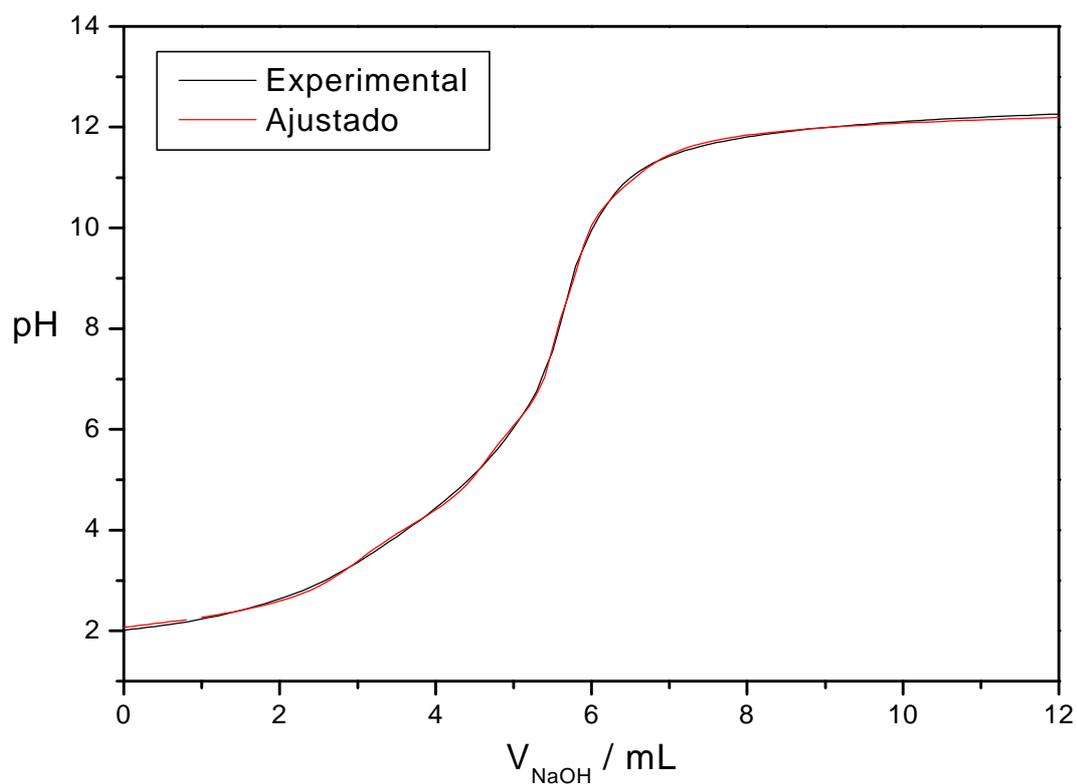


Figura 9 - Curva de titulação potenciométrica experimental de ácidos húmicos derivados de carvão vegetal com NaOH e ajustada por regressão não-linear da amostra *Mimosa tenuiflora* (450 °C).

O Quadro 6 apresenta os resultados dos principais pK_{as} e volumes correspondentes obtidos através da titulação potenciométrica dos ácidos húmicos derivados de carvão vegetal; estes volumes foram obtidos pela curva. Esses volumes obtidos pela curva foram corrigidos e apresentados no Quadro 7.

Quadro 6. Valores dos principais pK_{as} e volumes correspondentes obtidos através da curva da titulação potenciométrica de ácidos húmicos derivados de carvão vegetal.

<i>Mimosa tenuiflora</i> (jurema preta)											
Tratamento (° C)	V_{HCl}	V_{HA1}	pK_{a1}	V_{HA2}	pK_{a2}	V_{HA3}	pK_{a3}	V_{HA4}	pK_{a4}	V_{HA5}	pK_{a5}
400	2,96	5,15	3,54	6,78	5,41	7,52	7,48	8,41	9,57	10,41	11,59
450	2,40	5,01	2,70	6,61	4,47	7,71	5,95	8,01	7,45	8,64	8,94
500	1,90	5,57	2,25	8,07	4,20	9,79	5,65	10,51	7,24	11,24	9,37
<i>Aspidosperma pyriformium</i> (pereiro)											
Tratamento (° C)	V_{HCl}	V_{HA1}	pK_{a1}	V_{HA2}	pK_{a2}	V_{HA3}	pK_{a3}	V_{HA4}	pK_{a4}	V_{HA5}	pK_{a5}
400	1,39	6,15	2,12	9,15	4,09	10,93	5,58	11,68	7,22	12,48	9,43
450	2,50	6,30	2,35	9,20	4,31	10,86	5,97	11,64	8,03	12,01	10,59
500	1,76	6,45	2,19	9,45	4,19	11,47	5,70	12,23	7,32	13,07	9,54

O primeiro volume V_{HCl} corresponde ao excesso de ácido clorídrico e os outros cinco volumes (V_1 , V_2 , V_3 , V_4 e V_5) correspondem ao volume de equivalência para cada grupo titulável. Para encontrar os volumes equivalentes para cada grupo titulável, usaram as seguintes fórmulas. Esses valores estão demonstrados no Quadro 7.

$$V_{HA1}^R = V_{HA1} - V_{HCl}$$

$$V_{HA2}^R = V_{HA2} - V_{HA1}$$

$$V_{HA3}^R = V_{HA3} - V_{HA2}$$

$$V_{HA4}^R = V_{HA4} - V_{HA3}$$

$$V_{HA5}^R = V_{HA5} - V_{HA4}$$

Quadro 7. Valores dos principais pK_{as} e volumes de equivalência corrigidos obtidos através da titulação potenciométrica de ácidos húmicos derivados de carvão vegetal.

<i>Mimosa tenuiflora</i> (jurema preta)										
Tratamento (° C)	V_{HA1}^R	pK_{a1}	V_{HA2}^R	pK_{a2}	V_{HA3}^R	pK_{a3}	V_{HA4}^R	pK_{a4}	V_{HA5}^R	pK_{a5}
400	2,19	3,54	1,63	5,41	0,74	7,48	0,89	9,57	2,00	11,59
450	2,61	2,70	1,60	4,47	1,10	5,95	0,30	7,45	0,63	8,94
500	3,67	2,25	2,50	4,20	1,72	5,65	0,72	7,24	0,73	9,37
<i>Aspidosperma pyrifolium</i> (pereiro)										
Tratamento (° C)	V_{HA1}^R	pK_{a1}	V_{HA2}^R	pK_{a2}	V_{HA3}^R	pK_{a3}	V_{HA4}^R	pK_{a4}	V_{HA5}^R	pK_{a5}
400	4,76	2,12	3,0	4,09	1,78	5,58	0,75	7,22	0,80	9,43
450	3,80	2,35	2,9	4,31	1,66	5,97	0,78	8,03	0,37	10,59
500	4,69	2,19	3,0	4,19	2,02	5,70	0,76	7,32	0,84	9,54

V^R = volume recalculado; pK_a = constante de ionização dos ácidos

O tratamento dos dados pelo programa de regressão não-linear permitiu a determinação de cinco classes de grupos tituláveis, sendo que HA_1 , HA_2 e HA_3 , as três primeiras ($pK_a < 7$) foram tituladas em uma região de pH típica para grupamentos carboxílicos; as duas últimas, HA_4 e HA_5 ($pK_a > 7$), são atribuídas a grupamentos fenólicos. Os três primeiros valores médios de pK_a encontrados são próprios para grupos carboxílicos. Os dois últimos valores de pK_a são próprios de fenóis. O valor de pK_a , normalmente obtido para o sexto grupo em ácido húmico extraído do solo e comercial, é próximo a 10,0 e é atribuído a grupos fenólicos (Guimarães, 2000). Neste trabalho, foram encontrados valores de pK_5 próximos e maiores que 10, caracterizando um

material com bastante grupos fenólicos, o que era de se esperar, já que o carvão é formado por lignina e esta é formada basicamente por grupos fenólicos, anéis aromáticos. E, conseqüentemente, os ácidos húmicos derivados deste carvão tendem a ter a estruturas semelhantes.

Os resultados encontrados neste trabalho para o cinco grupos tituláveis de ácido húmico, das duas espécies, estão compatíveis com os resultados encontrados na literatura para substâncias húmicas. O Quadro 8 apresenta os valores de pK_a de cada grupo titulável do ácido húmico, juntamente com os valores encontrados por outros autores, também, no estudo de substâncias húmicas.

Quadro 8. Resultados obtidos pela regressão multiparamétrica da curvas de titulação potenciométrica de 50 ml de ácido húmico de vermicomposto 0,575 g L⁻¹ NaOH, com força iônica de 0,1 mol L⁻¹, encontrado por Masini e colaboradores (1998), Guimarães (2000), comparado com os resultados de valores médios de pK_a obtidos neste trabalho

	HA1	HA2	HA3	HA4	HA5
Constante de ionização de <i>Mimosa tenuiflora</i> (400°C)	3,54	5,41	7,48	9,57	11,59
Constante de ionização de <i>Mimosa tenuiflora</i> (450°C)	2,70	4,47	5,98	7,45	8,94
Constante de ionização de <i>Mimosa tenuiflora</i> (500°C)	2,25	4,20	5,65	7,24	9,37
Constante de ionização de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> (400°C)	2,12	4,09	5,58	7,22	9,43
Constante de ionização de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> (450°C)	2,35	4,31	5,97	8,03	10,59
Constante de ionização de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> (500°C)	2,19	4,19	5,70	7,32	9,54
Constante de ionização encontrada por Masini <i>et. al.</i> (1998)	3,54	5,29	6,90	8,30	9,56
Constante de ionização encontrada por Guimarães (2001)	4,28	4,96	6,07	7,48	9,31
Constante de ionização encontrada para amostra de ácido húmico da IHSS	2,48	4,61	6,13	7,90	9,47

Em outro trabalho, Sierra et al. (2001) também aplicando a titulação potenciométrica para caracterizar sítios de ácidos e bases nas substâncias húmicas, encontraram valores muito próximos aos valores encontrados neste trabalho. Para grupos carboxílicos, foram encontrados valores de pK_a entre 5,51 e 5,99 e para grupos fenólicos valores de pK_a entre 9,09 e 9,85.

Através da titulação potenciométrica foi possível obter os valores de acidez carboxílica, fenólica e acidez total (Quadro 9). A acidez total mostra todos o pontos tituláveis da molécula em estudo. Esses valores corroboram com valores encontrados na literatura, mostrando a eficiência do método para estimar a concentração dos grupos funcionais. Barancíková et al. (1997) encontraram valores de COOH para ácidos húmicos, variando 2,3 a 8,5, e valores de OH, variando de 1,7 a 3,8. Esses valores sugerem um alto conteúdo de grupos carboxílicos.

Quadro 9. Resultados da acidez carboxílica e fenólica e acidez total dos ácidos húmicos obtidos a partir de carvão vegetal

<i>Mimosa tenuiflora</i> (jurema preta)					
Tratamento (° C)	COOH	OH	COOH (cmolc.kg-1)	OH (cmolc.kg-1)	Acidez Total
400	4,56	1,11	220,20	53,67	273,87
450	5,31	0,93	256,08	44,63	300,71
500	7,89	1,45	380,65	69,89	450,54

<i>Aspidosperma pyriforme</i> (pereiro)					
Tratamento (° C)	COOH	OH	COOH (cmolc.kg-1)	OH (cmolc.kg-1)	Acidez Total
400	9,54	1,55	460,31	74,72	535,02
450	8,37	1,26	403,59	60,69	464,29
500	9,71	1,60	468,51	77,41	545,93

Segundo Sierra et al. (2001), esta variação de quantidade de grupos fenólicos, carboxílicos e acidez total de amostra para amostra deve ser considerada pela variação das propriedades funcionais de cada ácido húmico e pela variação de meio para meio. Por isso, quando se trata de substâncias húmicas vários fatores devem ser levados em consideração, já que são moléculas bastantes complexas.

Foi encontrado um valor menor de cargas para a *Mimosa tenuiflora* em relação a *Aspidosperma pyrifolium*, essa característica pode ser explicada pela própria característica da madeira que gerou este ácido húmico.

5. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que a metodologia de extração de ácidos húmicos adotada foi eficiente também para a extração de ácidos húmicos derivados de carvão vegetal. Esta técnica permitiu a extração de ácidos húmicos com alto grau de pureza.

Os valores de oxigênio encontrados demonstraram o baixo grau de oxidação dos ácidos húmicos produzidos em relação aos ácidos húmicos extraídos de solos, o que deve refletir em menor presença de grupos funcionais.

Os termogramas apresentaram dois picos principais atribuídos à eliminação de grupamentos funcionais e decomposição de estruturas aromáticas.

A espectroscopia no infravermelho mostrou-se uma análise importantíssima, pois através deste estudo pode-se mostrar as características mais importantes dos ácidos húmicos, ou seja, foi importante na identificação de diferenças qualitativas entre os ácidos húmicos, como a presença de grupos carboxílicos e fenólicos, provenientes das diferentes espécies e de seus respectivos tratamentos.

A espectroscopia no UV-visível permitiu calcular a razão E4/E6 e concluir que a absorvância cresce com o aumento da temperatura, indicando o aumento da aromaticidade das moléculas com o aumento da temperatura.

A titulação potenciométrica permitiu distinguir cinco grupos tituláveis dos ácidos húmicos estudados. Os valores encontrados para os cinco grupos

tituláveis neste trabalho foram valores muito próximos aos pK_a dos ácidos húmicos do solo. As curvas de titulação obtidas apresentaram resultados satisfatórios, observando-se sobreposição quase total destas com as curvas geradas por ajuste multiparamétrico.

A fluorescência foi outra técnica importante adotada para caracterização das amostras, servindo como uma ferramenta para os estudos químicos (estruturais e funcionais) das moléculas das substâncias húmicas encontradas e compará-las com os ácidos húmicos já existentes.

Os ácidos húmicos encontrados apresentaram alta aromaticidade, alta estabilidade, CTC e predominância de COOH.

Estas técnicas permitiram identificar a presença de diferentes compostos e compará-los com os ácidos húmicos extraídos do solo. Mostrando que há semelhança entre os ácidos húmicos extraídos do carvão vegetal e os ácidos húmicos do solo.

Entre as espécies não foi observado diferenças entre os ácidos húmicos produzidos. Já entre os tratamentos observou-se que para temperaturas menores ou iguais a 300 °C a presença de grupos alifáticos era maior e que os grupos aromáticos eram mais evidenciados em temperaturas maiores.

Observou-se que o número de cargas da *Mimosa tenuiflora* foi maior que da *Aspidosperma pyrifolium*.

Nesse trabalho obteve-se um material que teoricamente é muito promissor pois é um produto derivado do carvão vegetal, com alta qualidade, o que pode vir a ser uma alternativa ecológica e econômica para um mercado que a cada dia procura alternativas eficientes, ecológicas e econômicas. Mas vale lembrar que este processo é laboratorial e que para ser levado para a campo requer estudos futuros onde poderão ser avaliados seu poder agronômico e econômico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREUX, F. Humus in world soils. In: PICCOLO, A. (Ed.). **Humic substances in terrestrial ecosystems**. Amsterdam: Elsevier, p. 45-100, 1996.

AVENA, M. J.; VERMEER, A. W. P.; KOOPAL, L. K. **Volume and structure of humic acids studied by viscometry, pH and electrolyte concentration effects**. Colloids and Surfaces. v. 151, p. 213-224, 1999.

BAES, A. U.; BLOOM, P. R. **Difuse reflectance and transmittance Fourier transform infrared (DRIFT) spectroscopy of humic and fulvic acids**. Soil Sei. Soc. Am. J., v. 53, p. 695-700, 1989.

BARANČIKOVÁ, G.; SENESI, N.; BRUNETTI, G. **Chemical and spectroscopic characterization of humic acids isolated from different Slovak soil types**. Geoderma, v. 78, p. 251-266, 1997.

BELIN, C.; QUELLEC, C.; LAMOTTE, M.; EWALD, M.; SIMON, P. **Characterization by fluorescence of the dissolved organic matter in natural water: application to fractions obtained by tangential ultrafiltration and XAD resin isolation**. Environ. Technol., v. 14, p. 1131-1144, 1993.

BENEDETTI, A.; FIGLIOLIA, A.; IZZA, C.; INDIATI, R.; CANALI, S. **Fertilization with NPK and humate NPK: plant yield and nutrient dynamics**. Suelo Y Planta, v. 2, p. 203-214, 1992.

BENITES, V. M. **Caracterização de solos e de substâncias húmicas em áreas de vegetação rupestre de altitude**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, MG, 74 p. 2002.

BENITES, V. M. **Base tecnológica para a produção de condicionadores de solo a partir de subprodutos da carbonização vegetal**. Rio de Janeiro, 5 p. Trabalho não publicado, 2003.

BLOOM, P. R.; LEENHEER, J. A. Vibrational, electronic, and high-energy spectroscopic methods for characterizing humic substances. In: HAYES, M. H. B. et al. (Eds.). **Humic substances II: In search of structure**. New York: John Wiley, p. 409-446, 1989.

CAMPANELLA, L.; TOMASSETTI, M. **Thermogravimetric and IR analysis of different extracts of humic substances**. *Thermochimica Acta*. 170:67-80, 1990.

CANELLAS, L. P.; MORAES, A. A.; RUMJANEK, V. M.; SANTOS, G. A. Métodos Complementares. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. (Eds.). **Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo: Ecossistema Tropicais e Subtropicais**. 1 ed. Porto Alegre: Genesis, p. 412-435, 1999.

CERETTA, C. A. **Fracionamento de N orgânico, substâncias húmicas e caracterização de ácidos húmicos de solo em sistemas de culturas e de plantio direto**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, RS. 127 p. 1995.

CERETTA, C. A.; BAYER, C.; DICK, D. P.; NETO, L. M.; COLNAGO L. A. Métodos Espectroscópicos. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. (Eds.). **Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo: Ecossistema Tropicais e Subtropicais**. 1 ed. Porto Alegre: Genesis, p. 293-336, 1999.

CHEN, Y.; SENESI, N.; SCHNITZER, M. **Information provide on humic substances by E₄/E₆ ratios**. *Soil Sci. Soc. Am J.*, Madison, v. 41, p. 352-358, 1977.

CLASEN, H. A. C.; LESSA, R. T.; KAEMMERER, M.; KOETZ, P. R. **Ácidos Húmicos e Fúlvicos do Carvão da Jazida de Candiota**. *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, v. 4, n. 1, p. 35-40, 1998.

DALAL, R. C.; MAYER, R. J. **Long-term trends in fertility of soils under continuous cultivation and cereal cropping in southern Queensland. II. Total organic carbon and its rate of loss from the soil profile**. *Australian Journal of Soil Reserch*, Melbourne. v. 24, p. 281-292, 1986.

DORAN, J. W. Soil quality and sustainability. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26, 1997, Rio de Janeiro. **CDRoom...** Rio de Janeiro: SBCS, 1997.

ESTEVEZ, V. I.; DUARTE, A. C. **Thermogravimetric properties of aquatic humic substances**. *Marine Chemistry*, v. 63, p. 225-233, 1999.

EWALD, M.; BERGER, P.; VISSER; S. A. **UV-Visible absorption and fluorescence properties of fulvic acids of microbial origin as functions of their molecular weights**. *Geoderma*, v. 43, p. 11-20, 1988.

FUCHS, W. **Die chemie de kohle**. Berlin: Springer, 178 p. 1931.

GLASER, B.; GUGGENBERGER, G.; ZECH, W. Black carbon in sustainable soils of the Brazilian Amazon region. In: **Proceedings of the IHSS- 9^o conference**, Adelaide, Australia, p. 1-5, 1998.

GLASER, B.; HAUMAIER, L.; GUGGENBERGER, G.; ZECH, W. **Black carbon in soils: the use of the benzenecarboxylic acids as especific markers**. Org. Geochem., v. 29, p. 811-819, 1998.

GLASER, B.; BALASHOV, E.; HAUMAIER, L.; GUGGENBERGER, G.; ZECH, W. **Black carbon in density fractions of anthropogenic soils of Brazilian Amazon region**. Org. Geochem., v. 31, p. 669-678, 2000.

GLASER, B.; LEHMANN J.; ZECH, W. **Ameliorating physical and chemical porperties of highly weathered soils in the topics with charcoal – a review**. Biol Fertil Soils, v. 35, p. 219-230, 2002.

GOMES, R. C. **Estudo de melaninas de actinomicetos do solo por análise química e infravermelho**. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ. 1994.

GREENLAND, D. J.; WILD, A.; ADAMS, D. Organic matter dynamics in soils of the tropics-from myth to complex rality. In: LAL, R. (Ed.). **Myths and science of soils of the tropics**. Madison: ASA/SSSA, p.17-33, 1992.

GRESSEL, N.; McGRATH, A. E.; McCOLL, J. G. **Spectroscopy of aqueous extracts of forest litter. I: suitability of methods**. Soil Sci. Soc. Am. J., Madison, v. 59, p.1715-1723, 1995.

GUIMARÃES, C. R. **Avaliação das características físico-químicas de ácidos húmicos em diferentes etapas da vermicompostagem, através de técnicas quimiométricas de reconhecimento de padrões**. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, MG. 165 p. 2000.

HAUMAIER, L.; ZECH, W. **Black carbon – possible source of highly aromatic components of soil humic acids**. Org. Geochem., v. 23, p. 191-196, 1995.

HERNANDEZ, T.; MORENO, J. I.; COSTA, F. **Infrared spectroscopic characterization of sewage sludge organic matter-metal interactions**. Agrochimica, v. 37, p. 12-17, 1993.

IBARRA, J. V.; MOLINER, R.; BONET, A. J. Thermal alteration of coal humic acids simulating early coalification. In: SENESI, N.; MIANO, T. M. (Eds.). **Humic substances in the global environment and implications on human health**. Elsevier, p. 1325-1330, 1994.

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

KONONOVA, M. M. **Soil organic matter.** Oxford: Pergamon Press, 450 p. 1966.

KONONOVA, M. M. **Matéria orgânica del suelo: su naturaleza, propiedades y métodos de investigación.** Barcelona: Oikos-tau, 364 p. 1982.

KUMADA, K. **Carbonaceous materials as a possible source of soil humus.** Soil Science Plant Nutrition, v. 29, n. 3, p. 383-386, 1983.

KUMADA, K. **Chemistry of soil organic matter.** Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 241 p. 1987.

KUMKE, M. U.; LOHMANNROBEN, H. G.; ROCH, T. **Fluorescence spectroscopy of polynuclear aromatic compounds in environmental monitoring.** J. Fluoresc. 5, p. 139–153, 1995.

LIMA, H. N.; BENITES, V. M.; SCHAEFER, C. E. R. G.; MELLO, J. W. V.; KER, J. C. Caracterização de ácidos húmicos extraídos de Terra Preta de Índio. In: MENDONÇA, E. S. et al. (Eds.). **Resumos do IV Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas.** Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa. p. 155-156, 2001.

LINDBERG, W.; KOWALSKI, B. **Evaluation of potentiometric acid-base titration by partial-least-squares calibration.** Analytica Chimica Acta, v. 206, p. 125-135, 1988.

MacCARTHY, P.; RICE, J. A. Spectroscopic methods (other than NMR) for determining functionality in humic substances. In: AIKEN, G. R. et al. (Eds.). **Humic substances in soil, sediment and water.** New York: John Wiley, p. 527-559, 1985.

MALCOLM, R. L. **The uniqueness of humic substances in each of soil, stream and marine environments.** Analytica Chimica Acta, Amsterdam, v. 232, p. 19-30, 1990.

MANUNZA, B.; GESSA, C.; DEIANA, S.; RAUSA, R. **A normal distribution model for the titration curves of humic acids.** Journal of Soil Science. v. 43, p. 127-131, 1992.

MASINI, J. C.; ABATE G.; LIMA, E. C. **Comparison of methodologies for determination of carboxylic and phenolic groups in humic acids.** Analytica Chimica Acta, Amsterdam, v. 364, p. 223-233, 1998.

McBRIDE, M. B. **Environmental chemistry of soils**. New York: Oxford University Press, 406 p. 1994.

MELO, A. C. **Geografia dos combustíveis lenhosos na microrregião de Patos- Paraíba**. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Pernambuco. 132 p. 1998.

MILORI, D. M. B. P.; MARTIN NETO L.; BAYER C.; MIELNICZUK, J.; BAGNATO, V. S. **Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy**. Soil Science. v. 167, p. 739-749, 2002.

MIRANDA, G. **Potencial energético de três espécies florestais da região semi-árida do Nordeste do Brasil**. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, 141 p. 1989.

NEIMEYER, J.; CHEN, Y.; BOLLAG, J. M. **Characterization of Humic Acids, Composts, and Peat by Diffuse Reflectance Fourier-Transform Infrared Spectroscopy**. Soil Sci. Am. J., v. 56, p. 135-140, 1992.

NYQUIST, G. **Investigations of some optical properties of, seawater with special reference to lignin sulfonate and humic substances**. Tese de Pós-Doutorado. Göteborg University, Göteborg, 1979.

OLIVEIRA, E. **Características anatômicas, químicas e térmicas da madeira de três espécies de maior ocorrência no semi-árido nordestino**. Tese de Doutorado. Viçosa, MG, 152 p. 2003.

PERSSON, J. A.; JOHANSSON, E.; ALBANO, C. **Analysis of humics acids**. Analytical Chemistry, v.65, n. 3, p. 204-208, 1993.

PICCOLO, A. Humus and soils conservation. In: PICCOLO, A. (Ed.). **Humic substances in terrestrial ecosystems**. Amsterdam: Elsevier, p. 225-264, 1996.

PICCOLO, A.; PIETRAMELLARA, G.; MBAGWU, J. S. C. **Effects of coal-derived humic substances on water retention and structural stability of Mediterranean soils**. Soil Use Manage, v. 12, p. 209-213, 1996.

PICCOLO, A.; PIETRAMELLARA, G.; MBAGWU, J. S. C. **Use of humic substances as soil conditioners to increase aggregate stability**. Geoderma, v. 75, p. 267-277, 1997.

PULLIN, M. J.; CABANISS, S. E. **Rank analysis of the pH-dependent synchronous fluorescence spectra of standard humic substances**. Environ. Sci. Technol., v. 29, p. 1460-1467, 1995.

REIS, B. F.; GODINHO, O. E. S.; COSTA, W. F.; ALEIXO, L. M. **Desenvolvimento de um microcomputador dedicado para controle e aquisição de dados em titulação potenciométrica.** Química Nova, v. 10, n. 4, p. 266-269, 1987.

RICCA, G.; FEDERICO, L.; ASTORI, C.; GALLO, R. **Structural investigations of humic acid from leonardite by spectroscopic methods and thermal analysis.** Geoderma, v. 57, p. 263-274, 1993.

RIVERO, C.; SENESI, N.; PAOLINI, J.; ORAZIO, V. D. **Characteristics of humic acids of some Venezuelan soils.** Geoderma, v. 81, p. 227-239, 1998.

SANCHES, P. A. Soil organic matter. **Properties and management of soils in tre tropics.** New York: Wiley, p. 162-183, 1976.

SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo: Ecossistema Tropicais e Subtropicais.** 1 ed. Porto Alegre: Genesis, 491 p. 1999.

SCHNITZER, M. Chemical, spectroscopic, and thermal methods for the classification and characterization of humic substances. In: INTERNATIONAL MEETING ON HUMIC SUBSTANCES, 1972, Wageningen. **Proceedings.** Wageningen, Pudoc, p. 293-310, 1972.

SCHNITZER, M.; KHAN, S. U. **Soil organic matter.** New York: Elsevier, 319 p. 1978.

SCHNITZER, M. Humic substances: chemistry and reactions. In: SCHNITZER, M.; KHAN, S. U. (Eds.). **Soil Organic Matter.** Amsterdam: Elsevier, p. 1-64, 1978.

SCHNITZER, M. Organic matter characterization. In: SCHNITZER, M.; KHAN, S. U. (Eds.). **Methods of soil analyzis.** Madison: ASA/SSSA, p. 581-594, 1982.

SCHNITZER, M. **Soil organic matter.** Amsterdam: Elsevier, 319 p. 1986.

SCHULTE, E. E. Recommended soil organic matter tests. **Recommended chemical soil test produceres for the North Central Region.** North Dakota, Agricultural Esperiment Stations, p. 29-32, 1988.

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

SILVA, J. O. **Características dendrológicas e anatômicas da madeira de dez espécies ocorrentes no Nordeste semi-árido.** Tese de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, MG, 109 p. 1988.

SENESI, N.; HERVAS, L.; MAZUELOS, C.; JIMENEZ, S. **Chemical and physico chemical characterization of vermicomposts and their humics acids fractions.** Sci. Total Environ., v. 81-82, p. 543-550, 1989.

SENESI, N. **Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals, Part I. The fluorescence spectroscopy approach.** Anal. Chim. Acta, v. 232, p. 77-106, 1990.

SHURYGINA, E. A.; LARINA, N. K.; CHUBAROVA, M. A.; KONONOVA, M. M. **Differential thermal analysis (DTA) and thermogravimetry (TG) of soil humic substances.** Geoderma, v. 6, p. 169-177, 1971.

SIERRA, M. M. S.; AREND, K.; FERNANDES, A. N.; GIOVANELA, M.; SZPOGANICZ, B. **Application of potentiometry to characterize acid and basic sites in humic substances: Testing the BEST7 program with a weak-acid mixture.** Analytica Chimica Acta, v. 445, p. 89-98, 2001.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSER, G. C.; MORRIL, T. C. **Spectrometric identification of organic compounds.** 5. ed. New York: John Wiley, 419 p. 1991.

STEELINK, C. Implications of elemental characteristics of humic substances. In: AIKEN, G. R., et al. (Eds.). **Humic substances in soil, sediment and water.** New York: John Wiley e Sons, Inc., p. 457-476, 1985.

STEVENSON, F. J.; GOH, K. M. **Infrared spectra of humic acids and related substances.** Geochim. Cosmochim. Acta, v. 35, p. 471-483, 1971.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry.** New York: John Wiley e Sons, 443 p. 1982.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry genesis, composition, reactions.** 2. ed. New York: John Wiley- Interscience publication, 495 p. 1994.

TAN, K. H. **Soil sampling, preparation, and analysis.** New York: Marcel Dekker, Inc., p. 278-298, 1996.

TIGRE, B. C. Regeneração das formações arbóreas da caatinga. In: VASCONCELLOS, S. J. (Eds.). **As regiões naturais no nordeste: o meio e a civilização.** Conselho de Desenvolvimento de Pernambuco. Recife, p. 181-186, 1970.

TURNER, R. C.; SCHNITZER, M. **Thermogravimetry of the organic matter of a Podzol.** Soil Science, v. 93, n. 4, p. 225-232, 1962.

VINKLER, P.; LAKATOS, B.; MEISEL, J. **Infrared spectroscopic investigations of humic substances and their metal complexes.** Geoderma, v. 15, p. 231-242, 1976.

YOEMANS, J. C.; BREMER, J. M. **A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil.** Commun. Soil Sci. Plant Anal., v. 19, n. 13, p. 1467-1476, 1988.

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.