

CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA E ELEMENTAR DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS¹

Rubens Ribeiro da Silva²;
Guilherme Nunes Lucena³;
Ângela Franciely Machado³;
Gilson Araújo de Freitas⁴;
Antônio Teixeira Matos⁵;
Walter Antônio Pereira Abrahão⁶

¹Trabalho realizado como parte do trabalho de conclusão de curso em química ambiental.

²Professor Adjunto da UFT; Doutor em Solos e Nutrição de Plantas, Bolsista de produtividade CNPq; E-mail: rrs2002@uft.eu.br; UFT – Universidade Federal do Tocantins – Campus Gurupi. Rua Badejós, Lote 7, Chácara 69/72, Zona Rural, Cx. Postal 66, CEP: 77402-970.

³Bacharel em química Ambiental; E-mail: guilherme_nunes7@hotmail.com / franciely_angel@hotmail.com; UFT – Universidade Federal do Tocantins – Campus Gurupi. Rua Badejós, Lote 7, Chácara 69/72, Zona Rural, Cx. Postal 66, CEP: 77402-970.

⁴Pós graduando em Produção Vegetal; E-mail: freitas@uft.edu.br; UFT – Universidade Federal do Tocantins – Campus Gurupi. Rua Badejós, Lote 7, Chácara 69/72, Zona Rural, Cx. Postal 66, CEP: 77402-970.

⁵Professor do departamento de Engenharia Ambiental, da Universidade Federal de Viçosa- UFV; Av. Peter Henry Rolfs s/n. CEP: 36570-000, Viçosa-MG; Email: atmatos@ufv.br ;

⁶Professor do departamento de solos da Universidade Federal de Viçosa- UFV; Av. Peter Henry Rolfs s/n. CEP: 36570-000, Viçosa-MG; E-mail: wabrahao@ufv.br

RESUMO

As substâncias húmicas, principais constituintes da matéria orgânica dos substratos, desempenham importantes papéis no desenvolvimento das plantas, entre eles: disponibilização de nutrientes, geração de cargas negativas (CTC) e efeito tampão. Assim, o presente trabalho teve como objetivo utilizar as técnicas de espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta-visível (UV-VIS), infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), e a técnica de análise elemental CHN/O para caracterizar a fração ácido húmico (AH) e ácido fúlvico (AF) das SH de cinco substratos orgânicos (T₁, T₂, T₃, T₄ e T₅) produzidos na Universidade Federal do Tocantins. Os espectros de absorção UV-VIS foram determinados na região de 380 a 700 nm com as frações AH e AF diluídos em solução NaHCO₃ 0,05 mol.L⁻¹. Os espectros de absorção FTIR foram determinados na faixa de 4.000 a 400 cm⁻¹ em pastilhas de KBr e a análise elemental via combustão a 925 °C em analisador elemental CHN. Nos substratos T₁, T₂, T₃, T₄ e T₅ os espectros de absorção molecular no UV-VIS e FTIR evidenciam a humificação, formação de cargas negativas (CTC) e a complexação de íons metálicos nutrientes. A maior humificação do substrato T₄ devido sua maior razão carbono-ácido húmico/carbono-ácido fúlvico e menor razão C/N, aliada a geração de cargas negativas e complexação de íons metálicos nutrientes, indica seu maior potencial para uso na produção de mudas com a manutenção das propriedades químicas e físicas do substrato.

Termos de indexação: Ácidos Húmicos, Ácidos Fúlvicos, Resíduos Orgânicos.

SPECTROSCOPIC AND ELEMENTAL CHARACTERIZATION OF HUMIC SUBSTANCES ORGANIC SUBSTRATES

SUMMARY

Humic substances, major constituents of organic matter substrates, play important roles in plant development, including: availability of nutrients, generation of negative charges (CTC) and buffering effect. Thus, this study aimed to use the techniques of molecular absorption spectroscopy in the ultraviolet-visible region (UV-VIS), Fourier transform infrared (FTIR), and the technique of elemental analysis CHN/O to characterize the fraction humic acid (HA) and fulvic acid (FA). Five SH of organic substrates (T₁, T₂, T₃, T₄ and T₅) produced at the Federal University of Tocantins. The absorption spectra of UV-VIS were determined in the region 380-700 nm with the HA and FA fractions diluted NaHCO₃ solution in 0.05 mol.L⁻¹. The FTIR absorption spectra were measured in the range 4000-400 cm⁻¹ in KBr pellets and elemental combustion analysis via 925 °C CHN elemental analyzer. Substrates in T₁, T₂, T₃, T₄ and T₅ molecular absorption spectra

in the UV-VIS and FTIR show the humus formation of negative charges (CTC) and the complexation of metal ions nutrients. Most humus substrate T₄ because their biggest reason humic/fulvic acid and carbon-less C/N ratio carbon acid, combined with generation of negative charges and complexation of metal ions, nutrients, indicates the greatest potential for use in the production of seedlings with maintaining the chemical and physical properties of the substrate.

Index terms: Humic Acid, Fulvic Acids, Organic Waste.

INTRODUÇÃO

Os substratos orgânicos usados na produção de mudas são formados por materiais orgânicos que contribuem na retenção de umidade, fornecimento de parte dos nutrientes, aumento da difusão de oxigênio para as raízes, capacidade de troca de cátions (CTC), regulação do pH e sustentação física necessária para assegurar o desenvolvimento da planta com qualidade (Pessoa et al., 2012).

A matéria orgânica presente nos substratos pode ser dividida em substâncias não humificadas e as humificadas (Pinheiro et al., 2010). As primeiras podem ser originadas de raízes de plantas e os organismos do solo e, ainda, da matéria macrorrgânica, constituída de resíduos de plantas e animais em decomposição. Já as humificadas são a parte da primeira fração que passou por um processo de transformação pelo qual deu origem a novos materiais com composição diferente das originais.

As substâncias húmicas, principal constituinte da matéria orgânica, são uma mistura heterogênea de compostos orgânicos agregados por interações intermoleculares fracas de natureza hidrofóbica e por ligações de hidrogênio. Elas podem ser fracionadas em ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e huminas (Baldotto et al., 2013). Ainda, apresentam elevado caráter aromático, grupos funcionais distintos e variadas porções fenólicas e carboxílicas (Matilainen et al., 2011; Valencia et al., 2013). Essa complexidade estrutural é decorrente da presença de grupos funcionais orgânicos que desempenham diversas funções na nutrição de plantas e melhoria das propriedades químicas e físicas do solo. Frequentemente, a elevada fertilidade de solos orgânicos é atribuída aos conteúdos de estruturas aromáticas policondensada com funcionalidade carboxílica (Novotny et al., 2013). Em tese, essa composição heterogênea que advém de vários processos químicos, físicos e biológicos dificulta a caracterização das substâncias húmicas, contudo, essa composição é sempre buscada para a elaboração de substratos orgânicos usados na produção de mudas.

Apesar de até o momento não se ter uma estrutura definida para as SH, muitos pesquisadores vêm utilizando diferentes técnicas analíticas que de, alguma forma, podem trazer informações a respeito dessas moléculas. Entre estas técnicas podem-se citar as espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta-visível (UV-VIS), e infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e a análise elementar (Rodríguez et al., 2013). A espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta-visível é muito utilizada na caracterização das substâncias húmicas. Essa técnica espectroscópica é útil na determinação da razão E₄/E₆ (ABS em 465 nm/ABS em 665 nm) e na ABS de sistemas aromáticos, que estão relacionadas com o grau de humificação de estruturas aromáticas e alifáticas das SH presentes na matéria orgânica, e conseqüentemente, com a qualidade do solo ou de um substrato orgânico (Dobbss et al., 2009; Rodríguez & Núñez, 2011).

A razão E₄/E₆ está diretamente relacionada à condensação estrutural, podendo ser indicativo do grau de humificação, aromaticidade, massa molar e conteúdo ácido das SH (Tombác, 1999). Sendo esta, influenciada pelo tamanho da molécula, pH do meio, conteúdo de oxigênio, carbono, grupos carboxílicos, origem e idade (Stevenson, 1994). A espectroscopia molecular de absorção na região do infravermelho tem sido utilizada para caracterizar as SH fornecendo informações estruturais e funcionais das moléculas que as compõem (Du et al., 2013). Os espectros na região

do infravermelho de ácidos húmicos são relativamente simples, quando comparados aos de substâncias puras, possuindo poucas bandas de absorção e geralmente alargadas (Canellas & Santos, 2005).

Já a análise elementar fornece dados referentes às porcentagens dos elementos carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio (CHN/O). Uma importante análise referente a estes dados são as razões entre os teores destes elementos, uma vez que elas podem fornecer informações importantes referentes ao grau de humificação das SH e, conseqüentemente, as suas propriedades químicas. A razão H/C é considerada como índice de aromaticidade. A razão atômica O/C permite estimar a abundância de oxigênio contido em grupos funcionais. A relação C/N indica o grau de incorporação do N na estrutura das SH e o grau de humificação. Além disso, a baixa razão C/N pode indicar estruturas orgânicas mais alifáticas e proteináceas (Cunha et al., 2007; Deiana et al., 1990).

Dados que possibilitem a obtenção de informações referentes à complexa estrutura química das substâncias húmicas presentes em substratos orgânicos são escassos. Essas informações podem prever como esses compostos atuam nas melhorias das propriedades químicas, físicas e biológicas do meio em que as plantas se desenvolvem e, conseqüentemente, aumentar a produtividade das mesmas. Assim, o presente estudo teve como objetivo realizar a caracterização dos ácidos húmicos e fúlvicos purificados de cinco substratos orgânicos por meio das técnicas espectroscópicas de absorção molecular na região do ultravioleta-visível e infravermelho e análise elementar CHN/O.

MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido na Universidade Federal do Tocantins – Campus de Gurupi, nas coordenadas geográficas 11°43' S e 49°04' W, onde foram produzidos os cinco substratos orgânicos designados como T₁, T₂, T₃, T₄ e T₅, caracterizados em termos dos teores de N, P, K, Ca, Mg, S, Al, Na, Mo e Co (Tabela 1). As análises de caracterização dos substratos foram realizadas no departamento de solos da Universidade Federal de Viçosa em Viçosa – MG, nas coordenadas geográficas 20°45' S e 42°55' W.

Tabela 1: Caracterização química dos cinco substratos orgânicos. Gurupi – TO, 2014

Substrato	-----g.kg ⁻¹ -----								-----%-----	
	N	P	K	Ca	Mg	S	Na	Mo	Co	
T1	20,18	10,19	1,40	20,20	10,28	3,70	1,80	0,0016	0,0006	
T2	20,30	20,04	1,60	20,86	10,34	3,60	2,00	0,0016	0,0003	
T3	20,25	30,98	1,80	30,82	10,53	4,40	2,60	0,0015	0,0	
T4	20,38	50,43	1,80	40,90	10,67	4,40	3,30	0,0015	0,0005	
T5	10,92	1,40	1,30	7,60	8,40	3,20	0,7	0,0015	0,0004	

O experimento foi realizado em duas partes com a utilização de cinco substratos. Da primeira parte foi extraída, purificada e liofilizada a fração ácido húmico e ácido fúlvico as quais foram submetidas às análises espectroscópica e elementar. Na segunda parte foi seguido um delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Cada repetição foi obtida por meio do quarteamento sucessivo, obtendo-se quatro repetições (frações iguais) dos substratos com massa total não purificado, sendo que cada repetição foi em seguida analisada somente em analisador elementar CHN/O.

Os ácidos húmicos (AH) e ácidos fúlvicos (AF) foram extraídos, purificados e liofilizados conforme a IHSS (Swift, 1996). A extração foi realizada utilizando solução alcalina (NaOH 0,1 mol L⁻¹, na proporção de 10 ml por grama de substrato) para solubilização das frações ácidos húmicos e fúlvicos e separação por centrifugação. Após a separação por centrifugação, o extrato húmico foi acidificado à pH 2,0 para separação das duas frações por centrifugação. Os AF foram purificados usando duas colunas com resinas XAD-8 e Amberlite IR 120+ para a eliminação de impurezas e sais, sendo em seguida congelados e liofilizados, obtendo o material seco para análises. Os AH foram purificados por meio de

15 ataques com solução de HF 10% + HCl 0,5% para a remoção da fração mineral ligada ao AH, logo após foram dialisadas em água deionizada para a retirada de sais, congelados e liofilizados, obtendo o material seco para análises. O material seco foi então submetido às análises de espectroscopia no UV-VIS e espectroscopia no infravermelho e análise elementar.

As leituras na faixa do UV-VIS foram feitas em espectrofotômetro de varredura modelo UV/VIS 911A, da marca GBC, utilizando células de quartzo com caminho ótico de 1 cm. As leituras na faixa do visível, tanto de varredura (380 a 700 nm), quanto de determinação das absorbâncias em 465 e 665 nm, foram feitas nas soluções de ácidos fúlvicos e húmicos purificados, diluídos apropriadamente em solução de bicarbonato de sódio (Chen et al., 1977). As leituras na faixa do ultravioleta foram feitas nas soluções de ácidos fúlvicos purificados, diluídos em soluções com pH ajustado para 2,0 com HCl e 12,0 com NaOH, além da solução tamponada neutra de bicarbonato. Os espectros diferenciais foram calculados pela diferença entre os espectros obtidos em pH 12,0 e 2,0, expressando os dados em absorvidade (Bloom & Leenheer, 1989).

Os espectros de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier dos ácidos húmicos e fúlvicos foram lidos na faixa de 4.000-400 cm^{-1} , em pastilhas de KBr, utilizando espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier, FTIR Spectrum 1000. Cada espectro foi obtido pela média de 128 leituras, com resolução de 4 cm^{-1} . As leituras foram feitas em absorbância versus número de onda (cm^{-1}).

A análise elementar foi determinada via combustão a 925 °C usando analisador elementar Perkin Elmer CHN Analyser 2400 Series II, quantificando diretamente os elementos C, H e N, e obtendo o teor de O por diferença (%O = 100% - %C - %H - %N). Com as porcentagens dos elementos C, H, N e O, determinaram-se as razões elementares C/N, H/C e O/C para todos os AHs e AFs, bem como a razão entre os teores de C dos AH e dos AF (CAH/CAF).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 1 e 5% de probabilidade, com o programa Assisat 7.6 beta (Silva & Azevedo, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espectros de absorção no ultravioleta visível (UV-VIS) dos ácidos húmicos (AH) e ácidos fúlvicos (AF) dos cinco substratos orgânicos apresentaram diminuições na absorbância (ABS) com o aumento do comprimento de onda (Figura 1). Os AH (Figura 1a) apresentaram um pequeno pico de ABS na região de 270 nm, evidente nos cinco substratos, dando um indicativo da absorção de sistemas aromáticos (Canellas et al., 2000). Os AF (Figura 1b), não apresentaram pico em 270 nm, sugerindo uma diminuição na quantidade de estruturas aromáticas e, assim, na sua estabilidade em relação aos AH, corroborando com a estrutura sugerida para os AF (Stevenson, 1994).

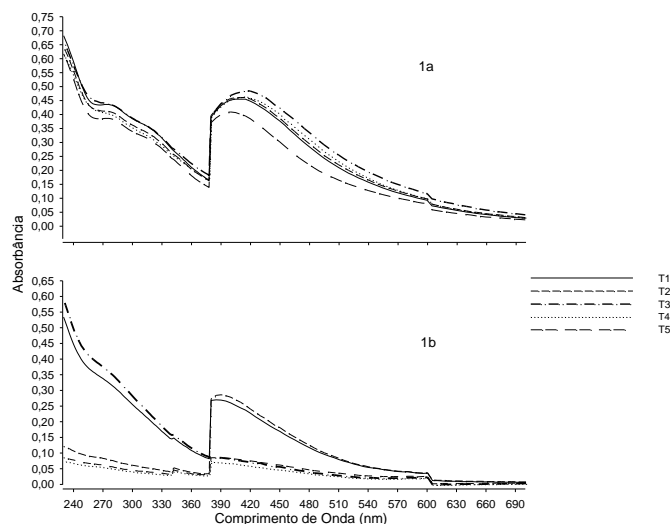


Figura 1: Espectros de absorção molecular no ultravioleta-visível dos ácidos húmicos (1a) e Ácidos fúlvicos (1b) purificados dos cinco substratos orgânicos. Gurupi – TO, 2014.

Todos os AH e os AF nos tratamentos T₁ e T₂ apresentaram banda de ABS na região de 390 nm. Esse é um comportamento característico de substâncias húmicas (SH) e ocorre devido à sobreposição de picos relativos a diferentes grupos cromóforos, tais como estruturas aromáticas, localizados em diversos pontos da macromolécula e em diversas formas de conjugação de ligações duplas com simples, ocorrendo o desdobramento dos picos e a junção dos mesmos em um espectro disforme (McCarthy & Rice, 1985). Os AF nos tratamentos T₃, T₄ e T₅, não apresentaram pico em 390 nm, o que prediz um menor grau de humificação e quantidade de estruturas aromáticas implicando em uma possível diminuição da CTC, pH e retenção de água nesta fração húmica.

As razões E₄/E₆ dos AH foram menores que as dos AF (Figura 2). Alta E₄/E₆ é característica de AF, uma vez que ela prediz a existência de estruturas alifáticas menos condensadas e uma diminuição das conjugações de ligações duplas e simples (Primo et al., 2011). Baixa E₄/E₆ relaciona-se ao aumento do peso molecular, condensação de carbonos aromáticos, aumento da humificação de estruturas aromáticas e maior conjugação de ligações duplas e simples características de AH, o que leva os AH estudados a terem uma maior estabilidade e permanência no substrato (Dobbss et al., 2009). Guareschi (2013) ao estudar a matéria orgânica e atributos físicos e químicos do Cerrado, relata ao que solos deste bioma apresentaram razão E₄/E₆ para os AH em torno de 3,1, devido ao avançado estágio de degradação do solo deste bioma. Todavia, no presente estudo as razões E₄/E₆ dos AHs purificados dos substratos orgânicos, apresentaram um valor médio de 7,9. Desta forma, é possível prever uma estabilidade das SH dos substratos em relação aos solos do bioma Cerrado.

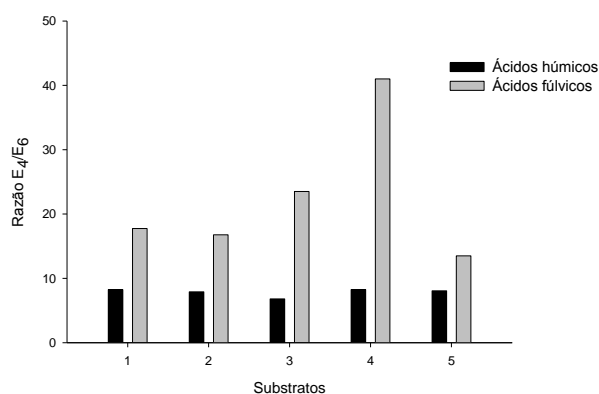


Figura 2: Razão E₄/E₆ dos ácidos húmicos e ácidos fúlvicos purificados dos cinco substratos orgânicos. Gurupi – TO, 2014.

Há uma diminuição da razão E_4/E_6 dos AH em relação aos AF. Este decréscimo está diretamente relacionado com o aumento do peso molecular e a condensação dos carbonos aromáticos, sendo esta aromaticidade inversamente proporcional à quantidade de grupos alifáticos. E ainda, quanto maior a razão E_4/E_6 , menor é a quantidade de compostos aromáticos condensados que podem ser associados à humificação da matéria orgânica do solo (Stevenson, 1994). Os valores mais baixos da razão E_4/E_6 dos AH indicam que nos substratos, a matéria orgânica encontra-se predominantemente em formas mais humificadas (Guareschi et al., 2013). O aumento da humificação da matéria orgânica nos substratos é de suma importância, pois vários processos fisiológicos das plantas podem ser modulados pelo material húmico, entre eles, os grandes sistemas de transdução de energia das membranas celulares das plantas e as bombas de prótons. Além disso, fito-hormônios têm sido associados à bioatividade das SH, bem como a ativação da H^+ -ATPase e bombas vacuolares (Zandonadi et al., 2013).

Em conjunto a estes efeitos fisiológicos provocados sobre as plantas, as SH exercem ainda um papel fundamental no ambiente radicular no qual as plantas se desenvolvem. Elas atuam em especial, na retenção de calor, influenciando na germinação de sementes e crescimento de raízes, e alta capacidade de retenção de água (Campos & Vieira, 2009).

Em relação aos espectros de absorção molecular no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) dos AH e AF nos cinco substratos orgânicos é possível observar a maior complexidade estrutural e a massa molecular relativamente maior dos AH em relação aos AF. Esta diferença é evidenciada pela maior presença de diversas bandas de absorção evidentes nos cinco substratos (Figuras 3a e 3b). No caso de substâncias húmicas, geralmente, as bandas de absorção no infravermelho não podem ser interpretadas de maneira segura, de forma que a recomendação, para o caso de material húmico, é o uso do modo comparativo, ou seja, sempre confrontar um espectro contra outro (Primo et al., 2011). Desta forma, as possíveis atribuições das bandas de absorção foram feitas com base nos trabalhos de Kononova (1982), Stevenson (1994); Dobbss et al., (2009).

Não houve grande diferença nos espectros de FTIR dos AH dos cinco substratos orgânicos estudados (Figura 3a). Na região de 3.600 a 3.000 cm^{-1} os AH apresentaram forte e larga banda de absorção atribuída ao estiramento angular simétrico e/ou assimétrico da ligação O–H de grupos hidroxilados capazes de formar ligações de hidrogênio, principalmente ácidos carboxílicos, alcoóis e fenóis.

A presença de grupos funcionais oxigenados favorece a interação das substâncias húmicas com compostos orgânicos e inorgânicos, como por exemplo, íons metálicos (Senesi & Miamo, 1994). Esta interação evidencia a possibilidade dos AH e AF manterem íons metálicos presentes nos substratos, favorecendo a sua disponibilidade para as plantas. Grupamentos fenólicos formados durante o processo de decomposição da matéria orgânica são convertidos em quinonas, através de reações de oxidação, as quais são precursores de radicais livres do tipo semiquinonas nos AH, que se estabilizam com o avanço da humificação. O aumento da concentração dos radicais livres do tipo semiquinona nos AH pode estimar o grau de humificação das SH (Baldotto et al., 2011; Baldotto et al., 2007).

Na região atribuída ao estiramento simétrico de ligações C–H, principalmente de grupos metil ($-\text{CH}_3$), os espectros de FTIR dos cinco substratos orgânicos apresentaram uma banda de absorção aguda e bem definida centrada em 2.940 cm^{-1} . Também é evidente uma outra banda de absorção aguda e bem definida centrada em 2.840 cm^{-1} , atribuída ao estiramento simétrico de grupos $-\text{CH}_2$. A existência de uma banda de absorção estreita, intensa e bem definida variando na região de 1.650 a 1.590 cm^{-1} , evidente nos AH dos cinco substratos, indica a presença de uma série de estiramentos simétricos de ligações C=O de grupos COO^- , amidas secundárias e quinonas. Sendo as quinonas os principais responsáveis pela transferência de elétrons entre microorganismos, AH e espécies sólidas de Fe^{3+} (Lovley et al., 1996).

As três bandas de absorção finas, bem definidas e centradas em 1.510 cm^{-1} , encontrado em todos os substratos é característico do estiramento de ligações C–C de anéis aromáticos, dando um indicativo da presença de ligninas e sistemas N=C conjugados (Dobbss et al., 2009). A lignina é um composto de difícil degradação que contribui na formação de SH (Dick et al., 2005). Na região entre 1.460 e 1.420 cm^{-1} é evidente, nos AH dos cinco substratos, a presença de dois picos de absorção atribuídos a deformações de ligações C–H de grupos metil e metilenos, e também, possivelmente a uma deformação angular de intensidade média de grupos $-\text{CH}_2$. A presença de uma banda intensa e bem definida variando na região entre 1.270 e 1225 cm^{-1} , com centro de absorção em 1.250 cm^{-1} é atribuída à presença de deformações angulares de ligações O–H em grupos carboxílicos e ligações C–O em ésteres, e ainda à presença de fenóis. A presença de grupos carboxílicos é importante, uma vez que, a CTC da matéria orgânica origina-se da dissociação de grupos funcionais, principalmente os carboxílicos, que são pH-dependentes (Sposito, 2008).

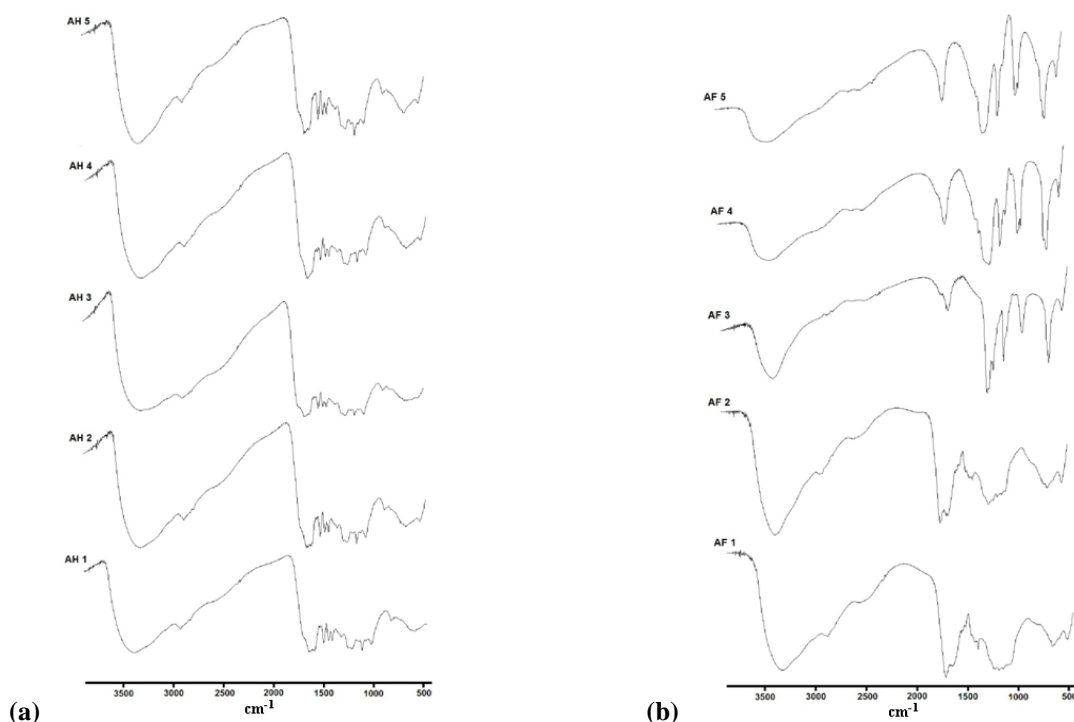


Figura 3: Espectros de Infravermelho com Transformada de Fourier dos ácidos húmicos (a) edos ácidos fúlvicos (b) purificados dos cinco substratos orgânicos. Gurupi – TO, 2014.

A presença de polissacarídeos é evidenciada pela existência de uma banda de absorção centrada em 1.125 cm^{-1} . Esta banda de absorção é evidente nos AH dos cinco substratos. Canellas et al. (2000), avaliando as características de ácidos húmicos de resíduos de origem urbana, sugeriu que as bandas de absorção na região entre 1.107 e 900 cm^{-1} podem ser atribuídas à presença de um maior teor de carboidratos. Nos AH dos cincos substratos orgânicos estudados é evidente a presença de uma banda de absorção bem definida centrada em 1.030 cm^{-1} . A banda de absorção próxima a 1.100 cm^{-1} também pode ser atribuída à presença de grupos carboxílicos ligados a cátions metálicos, tanto nutrientes, como poluentes. Isto sugere a existência de material inorgânico persistente mesmo após a purificação dos AH (Miranda et al., 2007). Isto mostra a capacidade dos AH em manter a fertilidade dos substratos suprindo as plantas com os minerais necessários ao desenvolvimento, crescimento, e índice de qualidade das mudas.

Ao contrário dos espectros de absorção FTIR dos AH, os espectros dos AF (Figura 3b) não apresentaram numerosas bandas de absorção, o que indica menor complexidade da sua estrutura química. Além disso, houve diferença entre os espectros de absorção entre os substratos, sobretudo naquelas relacionadas à absorção de grupos hidroxilados em ligações de hidrogênio, sendo observado um decréscimo na absorção dessas bandas nos AF₃, AF₄ E AF₅, quando

comparados aos AF₁ e AF₂. Os AF₁ e AF₂ apresentaram espectros de absorção FTIR semelhantes, com uma larga e bem definida banda de absorção variando entre 3.600 e 3.000 cm⁻¹ característica dos estiramentos de ligações O–H. Já os AF₃, AF₄ e AF₅, também apresentaram a banda relacionada a hidroxilas, entretanto, com menor intensidade, sendo um indicativo da diminuição na quantidade de grupos hidroxilados. A presença de grupos metálicos é evidenciada por uma banda de absorção em 2.940 cm⁻¹. A banda de absorção na região é atribuída à presença de grupos carbonílicos (C=O) de aldeídos e cetonas.

Da mesma forma que os AH, os AF também apresentaram picos de absorção referentes a grupos funcionais do tipo carboxila e hidroxilas fenólicas. De acordo com Novotny (2002), em ácidos fúlvicos, a presença de grupos funcionais como carboxilas e hidroxilas fenólicas, afeta diretamente as propriedades químicas do solo, como por exemplo, na formação de complexos com íons metálicos (nutrientes e poluentes) e aumento da CTC. Essa alteração favorece a melhoria da qualidade dos substratos orgânicos para a produção de mudas. A diminuição da quantidade de estruturas aromáticas nos AF, sugerida pela ausência de um pico de ABS em 270 nm no espectro de UV-VIS, é evidenciada também pelos espectros de FTIR dos cinco AF, uma vez que esses não apresentaram um pico de absorção fino e bem definido centrado em 1.510 cm⁻¹. A presença de grupos funcionais oxigenados e nitrogenados, além da presença de uma vasta variedade de estruturas alifáticas e aromáticas, confere às SH um papel fundamental em melhorar as propriedades químicas, físicas e biológicas do sistema solo-planta, características desejáveis na elaboração de substratos orgânicos (Passos et al., 2007).

A análise elementar dos substratos indica que não houve diferença significativa a 1 e 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, nos teores de C, H e O nos cinco substratos orgânicos devido seus altos valores de coeficiente de determinação (Tabela 2). Já em relação ao teor de N, o coeficiente de determinação foi significativo a 5% de probabilidade (0,01 < p ≤ 0,05). Entretanto, os quatro parâmetros apresentaram baixos valores de coeficiente de variação, bem como baixos valores de desvio padrão. Em termos de razões elementares, também não houve diferença significativa entre razões H/C e O/C (Tabela 2). Entretanto, ocorreu diferença altamente significativa (p < 0,001) na razão elementar C/N entre os diferentes substratos orgânicos. Assim como na análise elementar, ambos os parâmetros apresentaram baixos valores de coeficiente de variação, bem como baixos desvios padrões.

Tabela 2: Análise elementar CHN/O e razões elementares C/N, H/C e OC dos cinco substratos orgânicos. Gurupi – TO, 2014.

Substratos	Análise Elementar				C/N	H/C	O/C
	C	H	N	O			
	%						
T1	30,77 a	3,52 a	2,44 a	63,27 a	12,66 b	0,11 a	2,06 a
T2	27,27 a	3,19 a	2,4 ab	67,14 a	11,34 b	0,12 a	2,50 a
T3	28,75 a	3,39 a	2,46 a	65,4 a	11,89 b	0,11 ^a	2,27 a
T4	27,72 a	3,26 a	2,54 a	66,47 a	11,00 b	0,12 a	2,41 a
T5	28,53 a	3,24 a	1,79 b	66,42 a	15,88 a	0,11 a	2,34 a
Média	28,61	3,32	2,33	65,74	12,56	0,12	2,32
DP	2,24	0,30	0,37	2,67	2,06	0,0035	0,29
cv	7,39 %	9,25 %	12,11%	3,91 %	9,02%	3,02%	12,01%
F	1,62 ns	0,75 ns	4,55 ns	1,40 ns	11,97 **	1,14 ns	1,40 ns

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5 e 1% de probabilidade. DP: desvio padrão; cv: coeficiente de variação; F: estatística do teste F.

O menor teor de N e, conseqüentemente a maior relação C/N encontrada no substrato T₅, sugere que nesse substrato orgânico as formas de N encontram-se em formas não disponíveis, como nos tecidos lignificados, ou em material muito pouco decomposto ou humificados, como as fibras (Ebeling et al., 2011).

Quanto à análise elementar das frações húmicas purificadas, a fração AF apresentou o menor teor de C (Tabela 3). Isto sugere que as substâncias húmicas presentes nos substratos encontram-se em formas mais recalcitrantes como os

AH, em função da presença de grupos funcionais aromáticos, do maior grau de polimerização e da menor suscetibilidade ao ataque microbiano. A relação entre o teor de C dos AH e AF (CAH/CAF) é usada como indicador da qualidade das substâncias húmicas. Valores abaixo de 1,0 geralmente indicam uma menor intensidade dos processos de humificação, aumento da mineralização dos resíduos e baixo teor de bases (Kononova, 1982).

Os substratos apresentaram valores para a razão CAH/CAF variando entre 1,25 e 17,53, com um valor médio de 8,01. Apenas dois substratos, T₁ e T₂, apresentaram valores próximos a 1,0, o que indica que os substratos orgânicos, em geral, apresentam predomínio na fração ácido húmico. O aporte no teor de C nos AH dos substratos T₃, T₄, e T₅ podem vir a favorecer o melhor desenvolvimento das plantas. Esta fração das SH já vem sendo bastante utilizada no meio agrícola, pois pode proporcionar às culturas aumento no tamanho e número de raízes, incrementos na absorção de nutrientes e taxas de crescimento. Atuam também nas propriedades microbiológicas dos vegetais aumentando o teor endógeno de bactérias diazotróficas e, conseqüentemente, no incremento dos efeitos benéficos sobre a planta hospedeira. Por fim, promovem o crescimento vegetal, pelo maior enraizamento e aumento no número de sítios de mitose e emergência de raízes laterais (Conceição et al., 2009; Pinheiro et al., 2010).

Tabela3: Análise elementar CHN/O, razões elementares C/N, H/C, O/C e CAH/CAF dos ácidos húmicos (AH) e ácidos fúlvicos (AF) purificados dos cinco substratos orgânicos. Gurupi – TO, 2014.

Substratos	Ácidos Húmicos						
	C	H	N	O	C/N	H/C	O/C
	%						
T1	51,52	4,86	3,96	39,66	13,01	0,09	51,52
T2	51,36	5,12	4,49	39,03	11,44	0,10	51,36
T3	50,18	5,16	5,14	39,52	9,76	0,10	50,18
T4	50,15	5,19	6,11	38,55	8,21	0,10	50,15
T5	51,96	5,33	3,56	39,15	14,60	0,10	51,96
Média	51,03	5,13	4,65	39,18	11,40	0,10	0,77
Substratos	Ácidos Fúlvicos						
	C	H	N	O	C/N	H/C	O/C
	%						
T1	41,14	4,55	3,94	50,37	10,44	0,11	1,22
T2	42,13	4,44	4,02	49,41	10,48	0,11	1,17
T3	6,19	2,14	0,82	90,85	7,55	0,35	14,68
T4	2,86	2,37	0,60	94,17	4,77	0,83	32,93
T5	4,35	3,31	0,61	91,73	7,13	0,76	21,09
Média	19,33	3,36	2,00	75,31	8,07	0,43	14,22
Substrato	CAH/CAF						
T1	1,25						
T2	1,22						
T3	8,11						
T4	17,53						
T5	11,94						
Média	8,01						

Ambas as frações húmicas apresentaram baixos valores de H/C. Uma consequência de tal redução é a diminuição da capacidade de hidratação das SH, o que leva a formação de regiões hidrofóbicas importantes na remoção de contaminantes de natureza apolar e pesticidas (Novais et al., 2007). Baixas H/C implicam também na diminuição das estruturas alifáticas e aumento no grau de humificação (Budziak et al., 2004). Assim, espera-se que a fração AF tenha valores mais altos de H/C em relação aos AH. Este decréscimo na H/C foi observado em todos os substratos estudados, mostrando-se mais clara nos substratos orgânicos T₃, T₄ e T₅, o que caracteriza uma maior estabilidade e humificação destes substratos durante o processo de compostagem. Quanto menor a razão atômica H/C, maior a resistência da amostra à termodegradação, indicando alta resistência de estruturas aromáticas a processos de oxidação (Cunha et al., 2007).

Os AH apresentaram valores na relação O/C maiores que os AF. Uma consequência dos baixos valores de O/C na fração AF é o indício da ocorrência de acelerados processos oxidativos no início do processo de compostagem para a produção dos substratos orgânicos (Budziak et al., 2004). Esta oxidação tende a levar à formação de estruturas fenólicas derivadas da lignina que exercem importante influência sobre a CTC (Novais et al., 2007). Além disso, baixa relação O/C é outra característica da diminuição de estruturas alifáticas e aumento da humificação das SH. Para todos os substratos, o valor da razão C/N foi maior nos AH do que nos AF, mostrando-se mais evidente nos substratos T₃, T₄ e T₅. Estes substratos também apresentaram os menores valores na relação C/N, exceto o AH no substrato T₅. Aumento no valor de N pode ocorrer em consequência da atividade microbiana e da rápida decomposição dos tecidos vegetais que outrora faziam parte da matéria orgânica presente nos substratos (Campos et al., 2013). O baixo valor da relação C/N indica o grau de incorporação do N na estrutura de SH e o grau de humificação. Uma alta relação C/N indica baixa incorporação de N e baixo grau de humificação (Cunha et al., 2007).

Os valores da relação C/N encontrados neste trabalho foram semelhantes aos observados por Baldotto et al. (2013), no qual encontraram valores médios de 8,3 em sedimentos de oceanos profundos. Mas diferentes aos observados por Campos et al. (2013), no qual obtiveram em Latossolo Amarelo valores variando de 10,02 a 31,28 para a relação C/N. De acordo com Novais et al. (2007), esse comportamento explica parte da dificuldade de se prever a taxa de liberação de N para as plantas pela mineralização de frações orgânicas de N. Por outro lado, o estreitamento na relação C/N caracteriza um avanço no grau de humificação com perda de CO₂ e incorporação de N.

CONCLUSÕES

- 1- Nos substratos T₁, T₂, T₃, T₄ e T₅ as técnicas espectroscópicas de absorção molecular na região do ultravioleta–visível com as bandas em 270 e 390 nm (aromáticos) nos ácidos húmicos evidenciam a humificação. Já com as bandas 3.600 a 3.000 cm⁻¹ (ácidos carboxílicos, fenóis e alcoóis); 1.510 cm⁻¹ (aromáticos) e 1.100 cm⁻¹ (complexos com metais) na região do infravermelho para as frações ácidos húmicos e ácidos fúlvicos são evidenciadas a humificação, formação de cargas negativas nos substratos (CTC) e a complexação de metais, tanto nutrientes, como poluentes.
- 2- Os espectros de absorção no infravermelho para os ácidos fúlvicos nos substratos T₃, T₄ e T₅ evidenciam diminuição na quantidade de hidroxilas de grupos alcoólicos, fenólicos e carboxílicos, conseqüentemente menor influência dessa fração sobre propriedades como CTC e complexão de metais (nutrientes e poluentes).

LITERATURA CITADA

- BALDOTTO, M.A.; GOBO, A.A.R.; SALOMÃO, M.S.M.B.; REZENDE, C.E.; CAMARGO, P.B. Frações da matéria orgânica e propriedades redox de substâncias húmicas em sedimentos de oceanos profundos. *Química Nova*, 36: 1288-1295, 2013.
- BALDOTTO, M.A.; CANELLAS, L.P.; ROSA, R.C.C.; RANGEL, T.P.; SALOMÃO, M.S.M.B.; REZENDE, C.E. Capacidade de oxidação como índice de estabilidade da matéria orgânica de sedimentos de acordo com gradiente fuvial-estaurino do Rio Paraíba do Sul. *Química Nova*, 34: 973-978, 2011.
- BALDOTTO, M.A.; CANELLAS, L.P.; CANELA, M.C.; SIMÕES, M.L.; MARTIN-NETO, L.; FONTES, M.P.F.; VELLOSO, A.C.X. Propriedades redox e grupos funcionais de ácidos húmicos isolados de adubos orgânicos. *R. Bras. Ci. Solo*, 31: 465-475, 2007.
- BLOOM, P.R.; LEENHEER, J.A. Vibrational, electronic, and high-energy spectroscopic methods for characterizing humic substances. In: HAYES, M.H.B. et al. (Ed.) *Humic substances II. In search for the structure*. John Wiley: New York, 1989.
- BUDZIAK, C.R.; MAIA, C.M.B.F.; MANGRICH, A.S. Transformações químicas da matéria orgânica durante a compostagem de resíduos da indústria madeireira. *Química Nova*, 27: 399-403, 2004.

- CAMPOS, L.P.; LEITE, L.F.C.; MACIEL, G.A.; BRASIL, E.L.; IWATA, B.F. Estoques e frações de carbono orgânico em Latossolo Amarelo submetido a diferentes sistemas de manejo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48: 304-312, 2013.
- CAMPOS, S.X.; VIEIRA, E.M. Estabilidade de frações de substâncias húmicas de turfa obtidas em um equipamento comercial de ultrafiltração. *Ciências Exatas e da Terra*, 15:19-24, 2009.
- CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.A. Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. UENF: Campos dos Goytacazes, 2005.
- CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.A.; MORAES, A.A.; RUMJANEK, V.M.; OLIVARES, F.L. Avaliação de características de ácidos húmicos de resíduos de origem urbana: I. Métodos espectroscopia (Uv-vis, IV, RMN ¹³C-CP/MAS) e microscopia eletrônica de varredura. *R. Bras. Ci. Solo*, 24: 741-750, 2000.
- CHEN, Y.; SENESI, N.; SCHNITZER, M. Information provide on humic substances by E₄/E₆ ratios. *Soil Science Society America Journal*, 41: 352-358, 1997.
- CONCEIÇÃO, P.M.; VIEIRA, H.D.; CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L.; CONCEIÇÃO, P.S. Efeito dos ácidos húmicos na inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em sementes de milho. *Ciência Rural*, 39:1880-1883, 2009.
- CUNHA T.J.F.; MADARI, B.E.; BENITES, V.M.; CANELLAS, L.P.; NOVOTNY, E.H.; MOUTTA, R.O.; TROMPOWSKY, P.M.; SANTOS, G.A. Fracionamento químico da matéria orgânica e características de ácidos húmicos de solos com horizonte a antrópico da Amazônia (Terra Preta). *Acta Amazônica*, 37: 91-98, 2007.
- DEIANA, S.; GESSA, C; MANUNZA, B.; RAUSA, R.; SEEBER, R.. Analytical and spectroscopic characterization of humic acids extracted from sewage sludge, manure, and worm compost. *Soil Science*, 150: 419-424, 1990.
- DICK, D.P.; GONÇALVES, C.N.; DALMOLIN, R.S.D.; KNICKER, H.; KLAMT, E.; KÖGEL-KNABNER, I.; SIMOES, M.L.; MARTIN-NETO, L. Characteristics of soil organic matter of different brazilian Ferralsols under native vegetation as a function of soil depth. *Geoderma*, 124:319-333, 2005.
- DOBBSS, L.B.; RUMJANECK, V.M.; BALDOTTO, M.A.; VELLOSO, A.C.X.; CANELLAS, L.P. Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e fúlvicos isolados da camada superficial de latossolos brasileiros. *R. Bras. Ci. Solo*, 33: 51-63, 2009.
- DU, C.; HE, Z.; ZHOU, J. Characterization of Soil Humic Substances Using Mid-infrared Photoacoustic Spectroscopy. In: Xu, J. et al. (Ed) *Functions of Natural Organic Matter in Changing Environment*. Springer: New York, 2013.
- EBELING, A.G.; ANJOS, L.H.C.; PEREZ, D.V.; PEREIRA, M.G. GOMES, F.W.F. Atributos químicos, carbono orgânico e substâncias húmicas em organossolos háplicos de várias regiões do Brasil. *R. Bras. Ci. Solo*, 35: 325-336, 2011.
- GUARESCHI, R.F. Caracterização da matéria orgânica do solo em fragmentos de mata atlântica e em plantios abandonados de eucalipto. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. *Ciência do Solo. Seropédica*, Rio de Janeiro, 95 pp. 2013.
- GUARESCHI, R.F.; PEREIRA, M.G.; PERIN, A. Frações da matéria orgânica em áreas de Latossolo sob diferentes sistemas de manejo no Cerrado do estado de Goiás. *Semina*, 34: 2615-1628, 2013.
- KONONOVA, M.M. *Materia orgánica del suelo; su naturaleza, propiedades y métodos de investigation*. Oikos – Tau: Barcelona, 1982.
- LOVLEY, D.R.; COATES, J.D.; BLUNT-HARRIS, E.L.; PHILLIPS, E.J.P.; WOODWARD, J.C. Humic substances as electron acceptors for microbial respiration. *Nature*, 382:445-448, 1996.
- MATILAINEN, A.; GJESSING, E.; LAHTINEN, T.; HED, L.; BHATNAGAR, A.; SILLANPÄÄ, M. An overview of the methods used in the characterization of natural organic matter (NOM) in relation to drinking water treatment. *Chemosphere*, 83: 1431-1442, 2011.
- MCCARTHY, P.E.; RICE, J.A. Spectroscopic methods (other than NMR) for determining functionality in humic substances. In: AIKEN et al. (Ed.) *Humic substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation and characterization*. John Wiley & Sons: New York, 1985.
- MIRANDA, C.C.; CANELLAS, L.P.; NASCIMENTO. Caracterização da matéria orgânica do solo em fragmentos de mata atlântica e em plantios abandonados de eucalipto. *R. Bras. Ci. Solo*, 31: 905-916, 2007.
- NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J. C. L. Fertilidade do Solo. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo: Viçosa, 2007.
- NOVOTNY, E. H. Estudos espectroscópicos e cromatográficos de substâncias húmicas de solos sob diferentes sistemas de preparo. 2002. 215 f. Tese (Doutorado em Físico-Química) – Departamento de Ciências, Universidade Federal de São Carlos. São Carlos.2002.
- NOVOTNY, E. H.; AUCCAISE R.; LIMA L. B.; MADARI B. E. Characterisation of Humic Substances Extracted from Soil Treated with Charcoal (Biochar). *Functions of Natural Organic Matter in Changing Environment*. Springer: New York, 2013.
- PASSOS, R.R.; RUIZ, H.A., MENDONÇA, E.S.; CANTARUTTI, R.B.; SOUZA, A.P. Substâncias húmicas, atividade microbiana e carbono orgânico lábil em agregados de um latossolo vermelho distrófico sob duas coberturas vegetais. *R. Bras. Ci. Solo*, 31:1119-1129, 2007.

SILVA, RR; LUCENA, GN; MACHADO, AF; FREITAS, GA; MATOS, AT; ABRAHÃO, WAP CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA E ELEMENTAR DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS. *Amazon Soil – I Encontro de Ciência do Solo da Amazônia Oriental*, p. 52-63.

- PESSOA, P.M.A.; DUBA, G.P. BARROS, R.B.; FREIRE, M.B.G.S.; NASCIMENTO, C.W.A.; CORREA, M.M. Frações de carbono orgânico de um latossolo húmico sob diferentes usos no agreste brasileiro. *R. Bras. Ci. Solo*, 36: 97-104, 2012.
- PINHEIRO, G.L.; SILVA, C.A.; FURTINI NETO, A.E. Crescimento e nutrição de clone de eucalipto em resposta à aplicação de concentrações de C-ácido húmico. *R. Bras. Ci. Solo*, 34: 1217-1229, 2010.
- PRIMO, D.C.; MENEZES, R.S.C.; SILVA, T.O. Substâncias húmicas da matéria orgânica do solo: uma revisão de técnicas analíticas e estudos no nordeste brasileiro. *Scientia Plena*, 7:1-13, 2011.
- RODRÍGUEZ, F.J.; NÚÑEZ, L.A. Characterization of aquatic humic substances. *Water Environ Journal*, 25: 163-170, 2011.
- RODRÍGUEZ, F.J.; SCHLENGER, P.; GARCÍA-VALVERDE, M.A comprehensive structural evaluation of humic substances using several fluorescence techniques before and after ozonation. Part I: Structural characterization of humic substances. *Science of the Total Environment*, 1-13, 2013.
- SENESE, N.; MIANO, T.M. Humic substances in the global environment and applications on human health. Elsevier: Amsterdam, 1994.
- SILVA, F.A.S.E.; AZEVEDO, C.A.V. Principal Components Analysis in the Software Assisat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7., 2009, Reno. Anais... Reno: ASABE, 2009.
- STEVENSON, F.J. Humus chemistry, genesis, composition, reactions. 2nd ed. John Wiley: New York, 1994.
- SWIFT, R.S. Organic matter characterization. In: SPARKS et al. Ed(s). *Methods of soil analysis: Chemical methods*. Madison: Soil Science Society of America, 1996.
- SPOSITO, G. The chemistry of soils. 2nd ed. Oxford University: New Your, 2008.
- TOMBÁČZ, E. Colloidal properties of humic acids and spontaneous changes of their colloidal state under variable solution conditions: Micelles, subunits, and the mediterranean sun. *Soil Science*, 164: 814-824, 1999.
- VALENCIA, S.; MARÍN, J. M.; RESTREPO, G.; FRIMMEL, F.H. Application of excitation–emission fluorescence matrices and UV/Vis absorption to monitoring the photocatalytic degradation of commercial humic acid. *Science of the Total Environment*, 442: 207-214, 2013.
- ZANDONADI, D.B.; SANTOS, M.P.; BUSATO, J.G.; PERS, L.E.P.; FAÇANHA, A.R. Plant physiology as affected by humified organic matter. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 25: 12-25, 2013.