



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Câmpus de São José do Rio Preto

Lucas Raimundo Bento

Similaridade estrutural de substâncias húmicas de carvão hidrotérmico  
obtido de vinhaça e bagaço de cana-de-açúcar com as das Terras Pretas de  
índio da Amazônia

São José do Rio Preto

2019

**Lucas Raimundo Bento**

Similaridade estrutural de substâncias húmicas de carvão hidrotérmico  
obtido de vinhaça e bagaço de cana-de-açúcar com as das Terras Pretas de  
Índio da Amazônia

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Química, junto ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP-Proc. 2017/05575-2 e 2017/17991-0

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Márcia Cristina Bisinoti

São José do Rio Preto  
2019

B478s

Bento, Lucas Raimundo

Similaridade estrutural de substâncias húmicas de carvão hidrotérmico obtido de vinhaça e bagaço de cana-de-açúcar com as das Terras Pretas de índio da Amazônia / Lucas Raimundo Bento. -- São José do Rio Preto, 2019  
121 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Márcia Cristina Bisinoti

1. Química. 2. Substâncias Húmicas. 3. biocarvão. 4. solos. 5. Indústria açucareira Subprodutos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**Lucas Raimundo Bento**

Similaridade estrutural de substâncias húmicas de carvão hidrotérmico  
obtido de vinhaça e bagaço de cana-de-açúcar com as das Terras Pretas de  
índio da Amazônia

Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para a obtenção do título de mestre  
em Química, junto ao Programa de Pós-  
Graduação em Química do Instituto de  
Biociências, Letras e Ciências Exatas da  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de  
Mesquita Filho”, campus de São José do Rio  
Preto.

Financiadora: FAPESP-Proc. 2017/05575-2 e  
2017/17991-0

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Cristina Bisinoti

Membros componentes da banca examinadora

Presidente e Co-Orientador: Prof. Dr. Altair Benedito Moreira  
UNESP - São José do Rio Preto

Membro Titular: Prof. Dr. Mário Henrique Gonzalez  
UNESP - São José do Rio Preto

Membro Titular: Prof. Dr. Odair Pastor Ferreira  
UFC - Universidade Federal do Ceará

São José do Rio Preto  
26 de junho de 2019.

## Dedico

Aos meus familiares pelo apoio e incentivo, principalmente a minha mãe Rute e irmã Letícia.

## **Agradecimentos**

À Deus, por iluminar e abençoar meu caminho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsas concedidas em convênio com a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (processos 2017/05575-2 e 2017/17991-0), imprescindível para realização desse projeto. Agradeço também o auxílio à pesquisa na forma dos projetos aprovados pela orientadora (2015/22954-1 e 2018/15733-7).

A Professora Dra. Márcia Cristina Bisinoti, pela orientação, que muito me auxiliou e incentivou a crescer na carreira acadêmica, pelos ensinamentos aprendidos, pela atenção, dedicação, confiança e principalmente pela amizade durante esses anos.

A Dra. Camila de Almeida Melo e ao Prof. Dr. Altair Benedito Moreira, pela co-orientação e amizade.

Ao Prof. Dr. Riccardo Spaccini e Prof. Dr. Alessandro Piccolo da Università di Napoli Federico II em Portici na Itália, que possibilitam à realização de pesquisa durante quatro meses nos laboratórios SupraHumic- Supramolecular Humic Systems in the Environment e CERMANU-Interdipartimentale di Ricerca sulla Risonanza Magnetica Nucleare per l'Ambiente, l'Agroalimentare ed i Nuovi Materiali -, período que favoreceu muito o meu crescimento profissional. Aos amigos que a Itália me proporcionou, entre eles Silvana Cangemi sendo muito receptiva, amigável e preocupada com meu bem estar durante minha estadia, muito obrigado pela amizade. Ao Marios Drosos e Xiong Li pela amizade e conversas no Porto del Granatello. Ao Giovanni, Hiari, Cláudia, Giuseppe, Melania, Maria, Luigi pelas conversas, cafés e amizade. Aos técnicos Antonio e Franco pela ajuda quando necessária. Ao Dr. Pierluigi Mazzei pelo auxílio e aos ensinamentos no RMN. E mais uma vez ao Dr. Riccardo Spaccini pelos ensinamentos, paciência e amizade. Grazie a tutti!

Ao Professor Dr. Maurício Boscolo por permitir o uso dos equipamentos de Infravermelho e análise termogravimétrica. E por permitir a monopolização do liofilizador.

A Prof. Dr. Celia Maria Landi Franco na pessoa de Flávia Villas Boas por permitir o uso do liofilizador.

Ao Dr. Luciano Pasqualoto Canellas pela participação e contribuições bem-vindas no exame de qualificação.

A Central de Analítica da Universidade Federal do Ceará pela realização de parte das medidas de análise elementar, bem como pelas imagens de microscopia.

A minha família, em especial minha mãe Rute e irmã Letícia por todo amor e dedicação dados a mim. A minha tia Valdinéia que sempre me incentivou e também aos meus avós.

Aos amigos do Laboratório de Estudos em Ciências Ambientais (LECA): Leila, Laís, Isabela, Ariane, João, Carlos, Stefáni, Felipe, Erick, Isabely, Guilherme, Gabriela, Bianca, Andressa e Bernardo entre outros que passaram durante esses anos. Agradeço pela amizade e descontração.

A Bianca Furukawa, pela amizade, pelos cafés e bons ouvidos.

Aos membros e amigos de República Gambiarra, pela amizade e momentos passados.

Aos professores do Departamento de Química e Ciências Ambientais (DQCA). Aos técnicos Daniela, Claudinei, Ju e Eliane pela disposição em ajudar quando necessário.

Enfim a todos que de alguma forma contribuíram para o meu desenvolvimento acadêmico, muitíssimo obrigado!

*“[...] existem outros desafios, outras grandes questões no planeta que devemos responder, e elas exigirão uma nova geração interessada, engajada e com compreensão da ciência. Como alimentar uma população cada vez maior? Como fornecer água limpa, gerar energia renovável, prevenir e curar doenças e refrear a mudança climática global? Espero que a ciência e a tecnologia forneçam respostas a essas perguntas, mas serão necessárias pessoas, seres humanos com conhecimento e compreensão, para implantar essas soluções. Devemos lutar para que todo homem e toda mulher tenham a oportunidade de viver vidas seguras e saudáveis, repletas de oportunidade e amor. Somos todos viajantes do tempo em uma jornada rumo ao amanhã. Mas vamos trabalhar juntos na construção desse futuro, um lugar que queremos visitar.”*

Stephen Hawking

1942-2018

## RESUMO

As Terras Pretas de Índio (TPI) são solos conhecidos pela fertilidade associada à matéria orgânica recalcitrante e reativa. Tem se tentado reproduzir experimentalmente a natureza química da matéria orgânica da TPI por meio do tratamento térmico da biomassa, sendo o processo de pirólise e o de carbonização hidrotérmica (CHT) os mais empregados. As substâncias húmicas (SH) constituem parte da matéria orgânica do solo e influenciam suas propriedades químicas, físicas e biológicas, e, portanto, sua fertilidade. O objetivo desse estudo foi o de extrair SH das TPI e substâncias do tipo húmicas (STH) de carvão hidrotérmico (CH) produzido com bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça, visando sua caracterização e comparação da funcionalidade química. Foi realizada a CHT do bagaço de cana-de-açúcar, da vinhaça e da mistura de bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça com e sem adição de ácido fosfórico. As STH foram extraídas dos CH e as SH da TPI e também de uma área adjacente (ADJ) em profundidade. As amostras foram caracterizadas por meio de ressonância magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$ , reações de hidrólise e metilação térmicas acopladas à cromatografia gasosa e espectrometria de massas (*Thermochemolysis GC-MS*), termogravimetria, análise composicional, fluorescência molecular e foram submetidas a bioensaios com sementes de milho. A CHT gerou STH caracterizadas pela presença de grupos aromáticos e cadeias alifáticas, sendo que a adição de ácido no meio reacional deixou as STH mais hidrofóbicas, com maior rigidez estrutural causada principalmente pelo conteúdo aromático. As STH podem ser classificadas em 2 tipos: 1-STH composta por frações hidrofílicas (O-Arila e O-Alquila) e hidrofóbicas (C-Arila), na qual possuem um arranjo mais flexível liberando moléculas bioativas; 2-STH compostas por frações mais hidrofóbicas (C-Alquílico) que não apresentaram bioatividade. As SH das TPI apresentaram maior complexidade e hidrofobicidade estrutural quando comparadas com as ADJ. As SH apresentaram características diferentes em função da profundidade do solo, sendo as SH da TPI mais humificadas em superfície, enquanto as da área adjacente em profundidade. As STH do CH de bagaço de cana-de-açúcar foram as que apresentaram maior similaridade com as SH pela presença de compostos fenólicos, na qual influenciaram o crescimento inicial das sementes milho e se diferiram pela maior presença de estruturas polissacarídicas nas SH. As STH mostraram semelhança com a matéria orgânica natural e mostraram bioatividade em sementes de milho, dependendo da matéria-prima utilizada.

**Palavras chaves:** Carbonização hidrotérmica, biocarvão, substâncias húmicas, substâncias do tipo húmica, Terra Preta de Índio, bioatividade.

## ABSTRACT

Amazonian Dark Earth (ADE) is known for the higher fertility associated with the recalcitrant and reactive organic matter. It has been tried to mimic experimentally the chemical nature of the organic matter from ADE by the thermal treatment of biomass, employing the pyrolytic process and hydrothermal carbonization (HTC). Humic substances (HS) is part of soil organic matter and influences the chemical, physical and biological properties, playing an import role in the soil fertility. The main objective this study was to extract HS from ADE and humic-like substances (HLS) from hydrochar (HC), aiming to access the composition and to compare the chemical functionality. The HTC of sugarcane bagasse, vinasse and the mixture of sugarcane bagasse and vinasse were carried out with and without addition of phosphoric acid in the reaction medium. HLS were extracted from HC and HS from TPI and also from surrounding soil (SR) in depth. The samples were characterized by  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance, thermal hydrolysis and methylation reactions coupled to gas chromatography and mass spectrometry (Thermochemolysis GC-MS), thermogravimetry, composition analysis, molecular fluorescence and were submitted to bioassays using maize seeds. The HTC process generated a HLS characterized by the presence of aromatic groups and aliphatic chains, and the addition of phosphoric acid in the medium reaction left the HLS more hydrophobic, with greater structural rigidity mainly by the aromatic content. HLS presented two supramolecular structures: 1-HLS composed by hydrophilic (O-Aryl and O-Alkyl) and hydrophobic (C-Aryl) moieties, which they have a flexible arrangement enabling the release of bioactive molecules; 2-HLS composed by more hydrophobic (C-alkyl) moieties that did not showed bioactivity. The HS from ADE showed a greater structural complexity and hydrophobicity than SR. The HS presented different characteristics in depth; HS from ADE seems to be more humified on top layer, while the SR is in depth. The HLS of HC of sugarcane bagasse were the ones that presented the highest similarity to HS by the presence of phenolic compounds, which influenced the initial growth of the maize seeds and were different due to the greater presence of polysaccharide structures in the soil. The HLS generated employing the HTC process showed similarity with natural organic matter and bioactivity in maize seeds, depending on the raw material.

**Keywords:** Hydrothermal Carbonization, biochar, humic substances, humic-like substances, Amazonian Dark Earth, bioactivity.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>FIGURA 1.</b> MECANISMO DE FORMAÇÃO DE CARVÃO HIDROTÉRMICO A PARTIR DE CELULOSE.....                                                                                                                                                                                                                                                                   | 22 |
| <b>FIGURA 2.</b> ESTRUTURA SUPRAMOLECULAR PROPOSTA POR NEBBIOSO E PICCOLO (2011).<br>.....                                                                                                                                                                                                                                                                | 31 |
| <b>FIGURA 3.</b> ESQUEMA REPRESENTATIVO DO PROCESSO DE CARBONIZAÇÃO HIDROTÉRMICA DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E VINHAÇA, FILTRAGEM E PRODUTOS OBTIDOS (CARVÃO HIDROTÉRMICO E ÁGUA DE PROCESSO).....                                                                                                                                                        | 33 |
| <b>FIGURA 4.</b> IMAGENS REAIS DA COLORAÇÃO DE CADA CAMADA EM PROFUNDIDADE PERTENCENTE AO SOLO TERRA PRETA DE ÍNDIO E DO SOLO DE ÁREA ADJACENTE E SUAS RESPECTIVAS CORES SEGUINDO A CARTA DE CORES MUNSELL. ....                                                                                                                                          | 37 |
| <b>FIGURA 5.</b> PROCESSO DE <i>THERMOCHEMOLYSIS GC-MS</i> EM REATOR SOB FLUXO DE HÉLIO QUE ENCAMINHA OS PRODUTOS LIBERADOS PARA OS ERLENMEYERS CONTENDO CLOROFÓRMIO. ....                                                                                                                                                                                | 42 |
| <b>FIGURA 6.</b> COLEÓPTILO, RAÍZES LATERAIS E RADÍCULA DAS SEMENTES DE MILHO. ....                                                                                                                                                                                                                                                                       | 43 |
| <b>FIGURA 7.</b> RENDIMENTO EM MASSA DE CARVÃO HIDROTÉRMICOS OBTIDOS DA CARBONIZAÇÃO HIDROTÉRMICA DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E VINHAÇA COM E SEM ADIÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO NAS SEIS CONDIÇÕES EMPREGADAS. DADOS VALIDADOS COM ANOVA A NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA 0,05. (*) APRESENTOU NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA (**) NÃO APRESENTOU DIFERENÇA ESTATÍSTICA. .... | 46 |
| <b>FIGURA 8.</b> DIAGRAMA DE VAN KREVELEN PARA AS BIOMASSAS DE PARTIDA E DOS CARVÕES HIDROTÉRMICOS OBTIDOS DA CARBONIZAÇÃO HIDROTÉRMICA DE BAGAÇO, VINHAÇA E MISTURA BAGAÇO E VINHAÇA COM E SEM ADIÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO. ....                                                                                                                           | 49 |
| <b>FIGURA 9.</b> IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DOS CARVÕES HIDROTÉRMICOS OBTIDOS DE BAGAÇO, VINHAÇA E MISTURA DE BAGAÇO E VINHAÇA COM E SEM ADIÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO. IMAGENS DO CARVÃO EM (B) POSSUEM UMA MAIOR MAGNITUDE DO QUE EM (A). ....                                                                                          | 51 |
| <b>FIGURA 10.</b> ESPECTRO DE $^1\text{H}$ RMN NO ESTADO LÍQUIDO DA AMOSTRA DE VINHAÇA.....                                                                                                                                                                                                                                                               | 52 |
| <b>FIGURA 11.</b> ESPECTRO DE CP-MAS $^{13}\text{C}$ RMN DO BAGAÇO (MATÉRIA PRIMA) E DOS CARVÕES HIDROTÉRMICOS PRODUZIDO COM BAGAÇO, VINHAÇA COM E SEM ADIÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO. ....                                                                                                                                                                    | 53 |
| <b>FIGURA 12.</b> TERMOGRAMAS (—TG) E CURVA DA PRIMEIRA DERIVADA (—DTG) DE BAGAÇO E VINHAÇA (BIOMASSA) E DOS CARVÕES HIDROTÉRMICOS OBTIDOS PELO PROCESSO DE CARBONIZAÇÃO COM E SEM ADIÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO NO MEIO REACIONAL.....                                                                                                                       | 56 |
| <b>FIGURA 13.</b> ESPECTROS CP-MAS $^{13}\text{C}$ RMN DAS SUBSTÂNCIAS TIPO HÚMICAS (STH) EXTRAÍDAS DOS CARVÕES HIDROTÉRMICOS PRODUZIDOS COM BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E VINHAÇA COM E SEM ADIÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO.....                                                                                                                                  | 59 |
| <b>FIGURA 14.</b> TERMOGRAMAS (—TG) E CURVA DA PRIMEIRA DERIVADA (—DTG) DAS STH EXTRAÍDAS DOS CARVÃO HIDROTÉRMICOS OBTIDOS PELO PROCESSO DE CARBONIZAÇÃO COM E SEM ADIÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO NO MEIO REACIONAL. ....                                                                                                                                      | 61 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>FIGURA 15.</b> COMPONENTE 1 (A) E COMPONENTE 2 (B) IDENTIFICADOS POR MEIO DE CP/PARAFAC NAS MATRIZES DE EMISSÃO-EXCITAÇÃO DE FLUORESCÊNCIA DAS STH EXTRAÍDAS DOS CH OBTIDOS DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E VINHAÇA COM E SEM ADIÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 62 |
| <b>FIGURA 16.</b> CONTRIBUIÇÃO FLUORESCENTES DAS COMPONENTES/FLUORÓFOROS IDENTIFICADOS POR MEIO DE CP/PARAFAC EM CADA STH EXTRAÍDAS DOS CH DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E VINHAÇA COM E SEM ADIÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 63 |
| <b>FIGURA 17.</b> PRINCIPAIS CLASSES DE COMPOSTOS IDENTIFICADO NAS STH EXTRAÍDAS DOS CH PRODUZIDOS POR MEIO DE CARBONIZAÇÃO HIDROTÉRMICA COM E SEM ADIÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO. OS COMPOSTOS IDENTIFICADOS FORAM CLASSIFICADOS COMO: BD= DERIVADOS DE BENZENO; HN=NITROGÊNIO HETEROCÍCLICOS; ES=ESTERS ALIFÁTICOS; CC=COMPOSTOS CÍCLICOS; HS=ENXOFRE HETEROCÍCLICOS; PH=FENOL; HO=OXIGÊNIO HETEROCÍCLICO; PHA=HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS; AL= ALCANOS/ALCENOS/ALCINOS; DA=ÁCIDOS DICARBOXÍLICOS; AC=ÁLCOOL; SE=ESTERÓIDES; ST=ESTEROL. .... | 65 |
| <b>FIGURA 18.</b> PLOTAGENS DA ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DAS CLASSES DE COMPOSTOS OBTIDOS POR <i>THERMOCHEMOLYSIS</i> GC-MS, ANÁLISE ELEMENTAR E RMN DE SUBSTÂNCIAS DO TIPO HÚMICAS. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 66 |
| <b>FIGURA 19.</b> ELEMENTOS PRESENTES NAS FRAÇÕES DE SOLO TERRA PRETA DE ÍNDIO E DE ÁREA ADJACENTE. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 69 |
| <b>FIGURA 20.</b> TERMOGRAMAS (—TG) E CURVA DA PRIMEIRA DERIVADA (—DTG) DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS EXTRAÍDAS DAS FRAÇÕES DOS PERFIS DOS SOLOS TPI E DE SOLO ADJACENTE. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 75 |
| <b>FIGURA 21.</b> ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA BIDIMENSIONAL NA MODALIDADE DE EMISSÃO PARA AMOSTRAS DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS NAS FRAÇÕES DE (—) 0-20 CM, (—)20-40 CM, (—)40-60 CM, (—)60-80 CM, (—)80-100 CM DOS SOLOS TERRA PRETA DE ÍNDIO (A) E DE SOLO DE ÁREA ADJACENTE (B). ....                                                                                                                                                                                                                                                                      | 77 |
| <b>FIGURA 22.</b> COMPONENTE 1 (A) E COMPONENTE 2 (B) IDENTIFICADOS POR MEIO DE CP/PARAFAC NAS MATRIZES DE EMISSÃO DE EXCITAÇÃO DE FLUORESCÊNCIA DAS SH DE AMBOS OS PERFIS DE SOLOS (TERRA PRETA DE ÍNDIO E ÁREA ADJACENTE). ..                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 78 |
| <b>FIGURA 23.</b> CONTRIBUIÇÃO DA INTENSIDADE DE FLUORESCÊNCIA DOS COMPONENTES 1 (C1) E COMPONENTE 2 (C2) DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS EXTRAÍDAS DOS SOLOS (A) TERRA PRETA DE ÍNDIO E (B) ADJACENTE. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 79 |
| <b>FIGURA 24.</b> ESPECTROS CP-MAS <sup>13</sup> C RMN DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS EXTRAÍDAS DOS SOLOS TPI E DE ÁREA ADJACENTE. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 81 |
| <b>FIGURA 25.</b> PRINCIPAIS CLASSES DE COMPOSTOS IDENTIFICADO NAS SUBSTÂNCIAS TIPO HÚMICAS EXTRAÍDAS DOS CARVÃO HIDROTÉRMICO PRODUZIDOS POR MEIO DE CARBONIZAÇÃO HIDROTÉRMICA COM E SEM ADIÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO. OS COMPOSTOS IDENTIFICADOS FORAM CLASSIFICADOS COMO: BD= DERIVADOS DE BENZENO; HN=NITROGÊNIO HETEROCÍCLICOS; ES=ESTERS ALIFÁTICOS; CC=COMPOSTOS CÍCLICOS; HS=ENXOFRE HETEROCÍCLICOS; PH=FENOL; HO=OXIGÊNIO HETEROCÍCLICO; KE=CETONAS; AD= AMIDAS; IM=IMINAS; HPA=HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS; AL=                      |    |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ALCANOS/ALCENOS/ALCINOS; DA=ÁCIDOS DICARBOXÍLICOS; AC=ÁLCOOL;<br>SE=ESTERÓIDES. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 85 |
| <b>FIGURA 26.</b> GRÁFICO DOS SCORES (FIGURA 26A) E LOADS (FIGURA 26B) DA COMPONENTE PRINCIPAL 1 (PC1) VERSUS COMPONENTE PRINCIPAL 2 (PC2) APLICADO AOS DADOS DE ANÁLISE ELEMENTAR E DAS ÁREAS RELATIVAS DAS CLASSES DOS COMPOSTOS IDENTIFICADOS POR <i>THERMOCHEMOLYSIS GC-MS</i> E RMN NAS AMOSTRAS STH EXTRAÍDAS DOS CH E SH DE SOLOS.....                                                                                           | 87 |
| <b>FIGURA 27.</b> COMPRIMENTO DO COLEÓPTILO, DA RADÍCULA E RAÍZES LATERAIS (CM) COM APLICAÇÃO DE 1, 10 E 50 MG L <sup>-1</sup> DE COT DE STH DE CH. AS COLUNAS (MÉDIA ± D.P.) SEGUIDAS DE ASTERISCO (*) INDICAM DIFERENÇA ESTATÍSTICA COM P <0,05 ENTRE A STH E O CONTROLE, O TRIÂNGULO (Δ) INDICA DIFERENÇA ESTATÍSTICA ENTRE STH E SH DE TPI. NO CASO Δ PRESENTE NAS COLUNAS TPI, INDICA DIFERENÇAS COM A SH DO SOLO CIRCUNDANTE..... | 89 |
| <b>FIGURA 28.</b> SCORES (A) DA COMPONENTE PRINCIPAL 1 (PC1) VERSUS COMPONENTE PRINCIPAL 2 (PC2) E LOADS (B) APLICADO AOS DADOS DE ANÁLISE ELEMENTAR, ÁREA RELATIVA DAS CLASSES DOS COMPOSTOS IDENTIFICADOS POR <i>THERMOCHEMOLYSIS GC-MS</i> E INTEGRAÇÃO DAS ÁREAS DOS ESPECTROS DE RMN. 91                                                                                                                                           |    |
| <b>FIGURA 29.</b> ESTRUTURAS DAS STH COMPOSTA POR MOLÉCULAS MAJORITARIAMENTE HIDROFÓBICAS E STH COMPOSTA POR COMPONENTES HIDROFÓBICOS E HIDROFÍLICOS. ....                                                                                                                                                                                                                                                                              | 92 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>TABELA 1.</b> UMIDADE, MATÉRIA ORGÂNICA, CINZAS E VALORES DE pH DOS CARVÕES HIDROTÉRMICOS PRODUZIDOS POR MEIO DE CARBONIZAÇÃO HIDROTÉRMICA DE BAGAÇO DE CANA-DE- AÇÚCAR E VINHAÇA COM E SEM O EMPREGO DE ÁCIDO FOSFÓRICO NO MEIO REACIONAL. ....                                                                                                                                                          | 47 |
| <b>TABELA 2.</b> CONCENTRAÇÃO TOTAL DE CÁLCIO (CA), MAGNÉSIO (MG), FÓSFORO (P), SÓDIO (NA), FERRO (FE), MANGANÊS (MN), ZINCO (ZN), COBRE (CU) E ALUMÍNIO (AL) PRESENTE NOS CH COM E SEM ADIÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO.....                                                                                                                                                                                       | 47 |
| <b>TABELA 3.</b> COMPOSIÇÃO ELEMENTAR E RAZÕES ATÔMICAS DOS CARVÕES HIDROTÉRMICOS OBTIDOS A PARTIR DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E VINHAÇA COM E SEM ADIÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO. ....                                                                                                                                                                                                                           | 48 |
| <b>TABELA 4.</b> INTEGRAÇÃO DAS REGIÕES DE DESLOCAMENTO QUÍMICO (EM PPM) DOS ESPECTROS CP-MAS <sup>13</sup> C RMN DO BAGAÇO DE CANA DE AÇÚCAR (B) E DOS CARVÕES HIDROTÉRMICOS. ....                                                                                                                                                                                                                          | 54 |
| <b>TABELA 5.</b> COMPOSIÇÃO ELEMENTAR, RAZÕES ATÔMICAS, RAZÃO E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub> DAS SUBSTÂNCIAS DO TIPO HÚMICA EXTRAÍDAS DOS CARVÕES HIDROTÉRMICOS OBTIDOS A PARTIR DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E VINHAÇA COM E SEM ADIÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO.....                                                                                                                                              | 57 |
| <b>TABELA 6.</b> ÁREAS RELATIVAS INTEGRADAS (%) AO LONGO DO DESVIO QUÍMICO DOS PICOS PRINCIPAIS (PPM) DOS ESPECTROS DE CP-MAS <sup>13</sup> C RMN DAS SUBSTÂNCIAS TIPO HÚMICA (STH) EXTRAÍDAS DOS CARVÃO HIDROTÉRMICOS.....                                                                                                                                                                                  | 60 |
| <b>TABELA 7.</b> DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA, pH, TEOR DE MATÉRIA ORGÂNICA (MO) NAS FRAÇÕES DO SOLO DA TERRA PRETA DE ÍNDIO (TPI) E ÁREA ADJACENTE (ADJ). ....                                                                                                                                                                                                                                               | 67 |
| <b>TABELA 8.</b> CONCENTRAÇÃO DAS FORMAS DE FERRO E ALUMÍNIO NAS CAMADAS DA TERRA PRETA DE ÍNDIO E SOLOS ADJACENTES. FEO/ALO = CONCENTRAÇÃO FERRO/ALUMÍNIO DE ÓXIDOS AMORFOS, FED/ALD = CONCENTRAÇÃO FERRO/ALUMÍNIO DE ÓXIDOS PEDOGÊNICOS, CONCENTRAÇÃO DE FEP/ALP = FERRO/ALUMÍNIO LIGADA A MOS, FETOT/ALTOT = CONCENTRAÇÃO TOTAL DE FERRO/ALUMÍNIO E FEP + ALP = FERRO TOTAL E ALUMÍNIO LIGADOS A MOS..... | 71 |
| <b>TABELA 9.</b> COMPOSIÇÃO ELEMENTAR E RAZÕES ATÔMICAS DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS EXTRAÍDAS DAS CAMADAS DOS SOLOS TERRA PRETA DE ÍNDIO E ADJACENTE EM DIFERENTES PROFUNDIDADES.....                                                                                                                                                                                                                            | 73 |

|                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>TABELA 10.</b> ÁREAS RELATIVAS INTEGRADAS (%) AO LONGO DO DESVIO QUÍMICO DOS<br>PICOS PRINCIPAIS (PPM) DOS ESPECTROS DE CP-MAS $^{13}\text{C}$ RMN DAS SUBSTÂNCIAS<br>HÚMICAS EXTRAÍDAS DOS SOLOS TPI E DE ÁREA ADJACENTE..... | 82 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## LISTA DE ABREVIATURAS

CHT- Carbonização Hidrotérmica

CH- Carvão hidrotérmico

TPI-Terras Pretas de Índio (TPI)

ADJ- Solo adjacente

SH- Substâncias Húmicas

COT- Carbono orgânico total

HB- carvão hidrotérmico de bagaço

HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>-carvão hidrotérmico de bagaço com ácido fosfórico

HV-carvão hidrotérmico de vinhaça

HVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>- carvão hidrotérmico de vinhaça e ácido fosfórico

HBV- carvão hidrotérmico de bagaço e vinhaça

HBVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>- carvão hidrotérmico de bagaço e vinhaça com adição de ácido fosfórico

STH- substâncias do tipo húmica

STH\_HB- substâncias do tipo húmica extraída do carvão hidrotérmico de bagaço

STH\_HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>- substâncias do tipo húmica extraída do carvão hidrotérmico de bagaço com ácido fosfórico

STH\_HV- substâncias do tipo húmica extraída do carvão hidrotérmico de vinhaça

STH\_HVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>- substâncias do tipo húmica extraída do carvão hidrotérmico de vinhaça e ácido fosfórico

STH\_HBV- substâncias do tipo húmica extraída do carvão hidrotérmico de bagaço e vinhaça

STH\_HBVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>- substâncias do tipo húmica extraída do carvão hidrotérmico de bagaço e vinhaça com adição de ácido fosfórico

RMN- Ressonância Magnética Nuclear

HPA-hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

BD= derivados de benzeno

HN=nitrogênio heterocíclicos

ES= éster alifáticos

CC=compostos cíclicos

HS= enxofre heterocíclicos

PH=fenol

HO=oxigênio heterocíclico

KE=cetonas

AD= amidas

IM=iminas

AL= alcanos/alcenos/alcinos

DA=ácidos dicarboxílicos

AC=álcool

SE=esteroides

## Sumário

|                                                                                            |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1 Introdução.....                                                                          | 18        |
| 2 Revisão Bibliográfica.....                                                               | 20        |
| 2.1 Cenário de produção do bagaço da cana-de-açúcar e vinhaça.....                         | 20        |
| 2.2 Carbonização hidrotérmica (CHT).....                                                   | 21        |
| 2.3 Terra Preta de Índio .....                                                             | 24        |
| 2.4 Matéria Orgânica no solo.....                                                          | 26        |
| 2.4.1 Substâncias Húmicas.....                                                             | 27        |
| 2.4.2 Caracterização estrutural das substâncias húmicas .....                              | 29        |
| 3 Objetivos .....                                                                          | 32        |
| <b>3.1 Objetivos específicos .....</b>                                                     | <b>32</b> |
| 4 Material e método .....                                                                  | 32        |
| <b>4.1 Carbonização hidrotérmica e caracterização dos produtos obtidos .....</b>           | <b>32</b> |
| 4.1.1 Produção de carvões hidrotérmicos .....                                              | 32        |
| 4.1.2 Determinação do pH.....                                                              | 33        |
| 4.1.3 Determinação de umidade, cinzas e matéria orgânica .....                             | 34        |
| 4.1.4 Análise Elementar .....                                                              | 34        |
| 4.1.5 Determinação dos elementos totais (metais e não-metais) no carvão hidrotérmico ..... | 34        |
| 4.1.6 Análise Termogravimétrica .....                                                      | 35        |
| 4.1.7 Microscopia Eletrônica de Varredura .....                                            | 35        |
| 4.1.8 Estudos de RMN.....                                                                  | 35        |
| 4.1.8.1 <sup>1</sup> H RMN no estado líquido da vinhaça .....                              | 35        |
| 4.1.8.2 <sup>13</sup> C RMN no estado sólido .....                                         | 36        |
| <b>4.2 Coleta e caracterização dos solos .....</b>                                         | <b>36</b> |
| 4.2.1 Coleta dos solos Terra Preta de Índio e de solo adjacente .....                      | 36        |
| 4.2.2 Determinação do pH.....                                                              | 37        |
| 4.2.3 Análise Elementar .....                                                              | 38        |
| 4.2.4 Avaliação dos elementos (metais e não metais) totais nos solos .....                 | 38        |
| 4.2.5 Análise granulométrica dos solos .....                                               | 38        |
| <b>4.3 Substâncias húmicas e tipo húmicas: extração e caracterização .....</b>             | <b>39</b> |
| 4.3.1 Extração de SH dos solos e STH dos CH.....                                           | 39        |
| 4.3.2 Espectroscopia de Absorção e de Fluorescência de Luz UV-Visível .....                | 40        |
| 4.3.3 Análise Elementar .....                                                              | 41        |

|            |                                                                                                                       |            |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4.3.4      | Análise Termogravimétrica .....                                                                                       | 41         |
| 4.3.5      | RMN no estado sólido .....                                                                                            | 41         |
| 4.3.6      | <i>Thermochemolysis GC-MS</i> .....                                                                                   | 41         |
| 4.3.7      | Bioensaios em sementes de milho com concentrações de SH e STH.....                                                    | 42         |
| 5          | Resultados e discussão .....                                                                                          | 45         |
| <b>5.1</b> | <b>Produção de carvão hidrotérmico e caracterização .....</b>                                                         | <b>45</b>  |
| 5.1.1      | Rendimento .....                                                                                                      | 45         |
| 5.1.2      | Matéria Orgânica, pH e cinzas dos carvões hidrotérmicos .....                                                         | 46         |
| 5.1.3      | Composição elementar e razões atômicas dos carvões hidrotérmicos .....                                                | 47         |
| 5.1.4      | Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) dos carvões hidrotérmicos .....                                             | 50         |
| 5.1.5      | Análises da biomassa de partida e dos carvões hidrotérmicos por RMN .....                                             | 52         |
| 5.1.6      | Análises termogravimétricas dos carvões hidrotérmicos .....                                                           | 55         |
| <b>5.2</b> | <b>Caracterização de substâncias do tipo húmicas (STH) extraídas dos carvões hidrotérmicos.....</b>                   | <b>57</b>  |
| 5.2.1      | Análise elementar, razões atômicas e UV-Vis das STH .....                                                             | 57         |
| 5.2.2      | <sup>13</sup> C RMN das STH .....                                                                                     | 57         |
| 5.2.3      | Análise termogravimétrica das STH .....                                                                               | 60         |
| 5.2.4      | Fluorescência molecular das STH.....                                                                                  | 61         |
| 5.2.5      | <i>Thermochemolysis GC-MS</i> .....                                                                                   | 63         |
| <b>5.3</b> | <b>Caracterizações das camadas de solo (Terra Preta de Índio e de área adjacente) e das substâncias húmicas .....</b> | <b>67</b>  |
| 5.3.1      | Granulometria, pH, MO dos solos .....                                                                                 | 67         |
| 5.3.2      | Determinação dos elementos totais nos solos.....                                                                      | 68         |
| 5.3.4      | Análise elementar e razões atômicas das SH extraída dos solos .....                                                   | 72         |
| 5.3.5      | Análise termogravimétrica das SH extraídas dos solos .....                                                            | 73         |
| 5.3.6      | Fluorescência molecular das SH extraídas dos solos .....                                                              | 76         |
| 5.3.7      | RMN das SH dos solos.....                                                                                             | 79         |
| 5.3.8      | <i>Thermochemolysis GC-MS</i> .....                                                                                   | 83         |
| 5.3.9      | Análise de componentes principais (PCA) entre as STH e SH.....                                                        | 86         |
| 5.3.10     | Bioensaios em sementes de milho com aplicação de STH e SH .....                                                       | 87         |
| <b>6</b>   | <b>Conclusão .....</b>                                                                                                | <b>93</b>  |
|            | <b>Referências.....</b>                                                                                               | <b>94</b>  |
|            | <b>APÊNDICE A- Número de carbonizações e massa obtida.....</b>                                                        | <b>104</b> |

|                                                                                                                                                  |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>APÊNDICE B- Condições instrumentais para determinação dos elementos por espectroscopia de absorção atômica com atomização por chama .....</b> | <b>104</b> |
| <b>APÊNDICE C- Teste da melhor concentração de material húmico a ser empregado nas caracterizações por fluorescência molecular .....</b>         | <b>105</b> |
| <b>APÊNDICE D- Espectros de fluorescência no modo matriz emissão-excitação dos materiais húmicos .....</b>                                       | <b>107</b> |
| <b>APÊNDICE E- Cromatogramas típicos dos materiais húmicos e listas dos produtos identificados por <i>thermochemolysis GC-MS</i> .....</b>       | <b>109</b> |

## 1 Introdução

As Terra Preta de Índio (TPI) são solos de interesse devido sua alta fertilidade. Esses solos foram formados pela carbonização dos resíduos produzidos por comunidades indígenas, proporcionando um solo de alta fertilidade, rico em nutrientes como cálcio, magnésio e fósforo, e ainda com elevado teor de matéria orgânica (NOVOTNY et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2018). A fertilidade nas TPI foi atribuída à quantidade de matéria orgânica presente na forma recalcitrante e funcionalizada (ARCHANJO et al., 2014; KERN et al., 2019; NOVOTNY et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2009). Algumas pesquisas tentam pelo processo de pirólise e, recentemente, com carbonização hidrotérmica reproduzir as características funcionais da matéria orgânica (MO) das TPI consideradas como um modelo de MO fértil (GLASER et al., 2001; GLASER; BIRK, 2012; THINES et al., 2017).

A pirólise e a carbonização hidrotérmica (CHT) são exemplos de tratamento térmico dos resíduos de biomassa. Esses processos se diferenciam principalmente pelo meio de produção. A pirólise é feita em altas temperaturas (300–1000 °C) e na ausência ou baixa concentração de oxigênio. Já a carbonização hidrotérmica utiliza temperaturas menores (180 a 300 °C), dispensa a atmosfera inerte na reação e é realizada em meio aquoso (KAMBO; DUTTA, 2015; TITIRICI et al., 2012; WANG et al., 2018). O produto da pirólise é chamado de *pyrochar* e o da CHT de *hydrochar*, e quando a aplicação é para fins de melhorar a qualidade agrícola a denominação adotada para ambos é a de *biochar*, ou ainda, em português, têm-se adotado biocarvão. Neste trabalho a terminologia carvão hidrotérmico (CH) foi adotada como sinônimo de *hydrochar*.

A CHT evita a necessidade de secagem da biomassa por ser conduzida em meio aquoso. O uso das reações em ambiente aquoso causa o aumento natural da pressão no meio reacional. Portanto, as reações são conduzidas em temperaturas menores em relação aos processos de pirólise. Essas são algumas vantagens da CHT sobre outros processos de produção de carvão. Devido as menores temperaturas usadas na CHT a formação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) é diminuída. Esse problema já foi bem estudado na produção de *biochar* obtido por pirólise (KAMBO e DUTTA, 2015).

Dentre as biomassas disponíveis em grande quantidade destacam-se os subprodutos do setor sucroenergético: o bagaço de cana-de-açúcar e a vinhaça. Estudos

de CHT desses subprodutos foram conduzidos avaliando-se as temperaturas reacionais (180 e 230 °C), tempo de reação (13 e 40 horas) e a porcentagem de adição de ácido (0,1 e 4,0% v/v). Foi demonstrado que temperaturas maiores geraram um CH com maior teor de carbono (MELO et al., 2017). Também foi avaliada a incorporação de nutrientes no material sólido formado em função do tipo de aditivo empregado, tais como ácidos ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ), bases (KOH) e sais ( $\text{FeCl}_2$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ), mostrando que os aditivos podem imobilizar nutrientes da biomassa, bem como do próprio aditivo (MELO et al., 2017; SILVA et al., 2017).

As SH desempenham papel fundamental no ambiente, pois atuam na complexação de metais reduzindo toxicidade aos organismos aquáticos e do solo, na retenção de água e estruturação do solo evitando erosão (PICCOLO, 1996; PICCOLO et al., 2019a, 2019b; ROCHA; ROSA, 2003). A caracterização das SH extraídas das TPI e das substâncias do tipo húmicas do carvão hidrotérmico é importante para a comparação entre as suas características. Diferentes técnicas na caracterização de SH têm sido empregadas, tais como: ressonância magnética nuclear do isótopo de carbono de massa treze em estado sólido com rotação no ângulo mágico e transferência cruzada de polarização (CP-MAS/ $^{13}\text{C}$  RMN) para quantificar as espécies de carbono presente na amostra; reações de hidrólise e metilação termicamente assistidas acopladas à cromatografia gasosa e espectrometria de massas conhecida como *thermochemolysis GC-MS* e fracionamento químico sequencial (humeômica) para identificação da composição molecular além de análises termogravimétricas, composição elementar e fluorescência molecular (DROSOS; NEBBIOSO; PICCOLO, 2018; MONDA et al., 2017; TRAVERSA et al., 2014).

Produzir um novo material utilizando biomassa residual da indústria sucroenergética pela CHT que apresente características funcionais similares as encontradas na matéria orgânica das TPI é o fundamento científico necessário para a geração de um insumo biológico de uso agrícola altamente eficiente proporcionando, ao mesmo tempo, economia no uso de fertilizantes e diminuição de gastos e prejuízos ambientais.

## 2 Revisão Bibliográfica

### 2.1 Cenário de produção do bagaço da cana-de-açúcar e vinhaça

Os resíduos da agroindústria são gerados em grandes quantidades em todo o mundo. O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar, representa cerca de 50 % das indústrias sucroenergéticas mundiais, sendo produzido no ano de 2017 cerca de 758 milhões de toneladas de cana-de-açúcar para produção de etanol e açúcar (FAO, 2019). Com essa quantidade processada, o Brasil torna-se o maior produtor de açúcar e o segundo maior produtor de etanol do mundo, sendo os Estados Unidos o maior produtor de etanol. Estima-se que a cada tonelada de cana-de-açúcar processada são gerados cerca de 250 a 300 quilos de bagaço de cana-de-açúcar (BONASSA et al., 2015) e a cada litro de etanol produzido a partir da cana-de-açúcar restam 18 litros de vinhaça (SILVA; GRIEBELER; BORGES, 2007). O bagaço de cana-de-açúcar é o subproduto gerado após a moagem da cana-de-açúcar constituído principalmente por celulose (37,14 %), hemicelulose (24,66 %) e lignina (11,43 %) (SILVA et al., 2017). A vinhaça é o subproduto líquido gerado após a fermentação alcoólica, rica em matéria orgânica e contém grandes quantidades de ânions e cátions como nitratos, fosfatos, potássio e sódio, dentre outros (SILVA; GRIEBELER; BORGES, 2007; CHRISTOFOLETTI et al., 2013).

O etanol é produzido a partir de diferentes matérias-primas além da cana-de-açúcar, como o milho e a beterraba, principalmente pelos Estados Unidos. Mas outros países como Índia, Tailândia e Austrália utilizam a cana-de-açúcar como matéria-prima. Com isso, os resíduos de biomassa são gerados em grandes quantidades em todo o mundo. Mesmo com destinações já bem estabelecidas, como a queima do bagaço de cana-de-açúcar para geração de eletricidade, o uso da vinhaça na fertirrigação e a produção de etanol de segunda geração, há uma busca por novas tecnologias que agreguem valor dando-lhes diferentes aplicações.

Dentre as aplicações já estabelecidas, a aplicação da vinhaça no solo é a mais questionável, pois é rica em sais como sódio (Na), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e a aplicação excessiva pode ocasionar a salinização dos solos, a contaminação da água superficial e subterrânea. Também está associada à proliferação das moscas do estábulo que afeta a produtividade pecuária, outra questão é o fato de conter matéria orgânica considerada de fácil degradação, ou seja, uma forma lábil de carbono (LYRA;

ROLIM; SILVA, 2003; SILVA; GRIEBELER; BORGES, 2007; CHRISTOFOLETTI et al., 2013; JELVEZ SERRA et al., 2017).

A substituição dos combustíveis derivados de petróleo por combustíveis renováveis, como o etanol, tende a aumentar nos próximos anos devido o petróleo ser um recurso limitado e com potencial poluidor por retirar carbono estocado e lança-lo na atmosfera. Consequentemente, a geração de biomassa tende a acompanhar o aumento da produção agrícola, aumentando a necessidade de fertilizantes para suprir as necessidades do solo e manter a produtividade. A demanda de fertilizante para suprir as necessidades agrícolas é elevada, de acordo com a “*International Plant Nutrition Institute*” o consumo de fertilizantes no ano de 2017 no Brasil foi de 34 milhões de toneladas (IPNI, 2018). Além de o Brasil consumir grande quantidade de fertilizantes, a maioria destes é proveniente de importação (cerca de 70 %), aumentando o custo e a dependência da produção brasileira.

Assim, um fertilizante de origem nacional ou um condicionante de solo proveniente das biomassas agroindustriais seria interessante do ponto de vista econômico para as indústrias e também do ponto de vista ambiental.

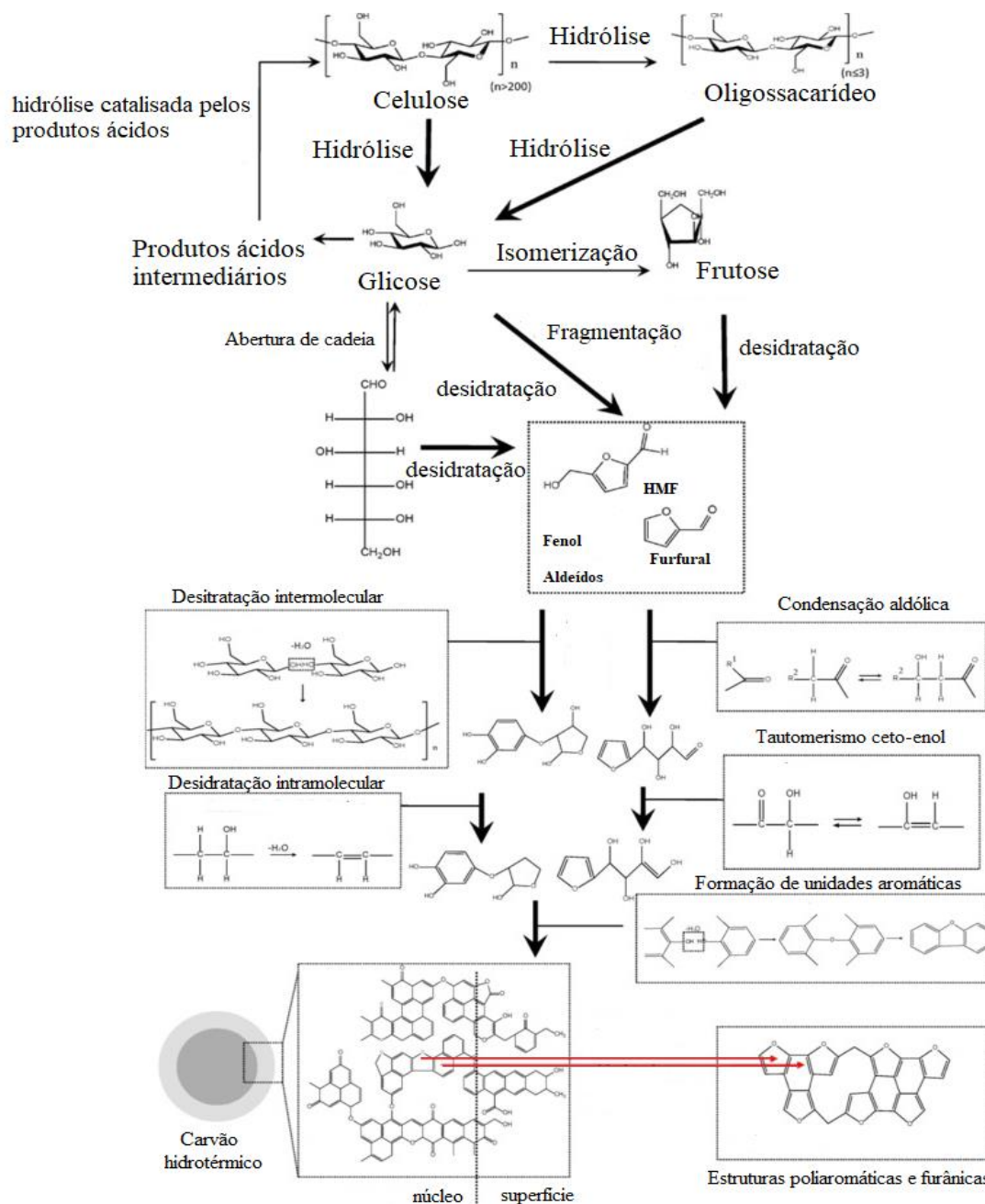
## 2.2 Carbonização hidrotérmica (CHT)

A CHT consiste em transformar a biomassa, úmida e/ou seca, em um material com elevado teor de carbono (WANG et al., 2018). Nesse processo as biomassas são aquecidas em meio aquoso, em sistema fechado, com temperaturas médias de 180 a 300 °C, na qual ocorre sua decomposição por diversas reações químicas, como hidrólise, desidratação, descarboxilação e condensação, formando um novo produto concentrado em carbono e possivelmente rico em nutrientes a depender do tipo de biomassa utilizada. Ao material carbonáceo formado a partir da CHT, dá-se o nome de carvão hidrotérmico (TITIRICI et al., 2012; KAMBO; DUTTA, 2015; WANG et al., 2018).

O mecanismo da CHT é complexo, como ilustra a Figura 1 da CHT da celulose. Primeiramente a celulose é degradada em oligômeros que são hidrolisados a monômeros de glicose, que posteriormente são isomerizados a frutose. Os monômeros são degradados em ácidos orgânicos, como acético, propanoico, levulínico e ácido fórmico na qual catalisam a desidratação dos compostos orgânicos dando origem aos intermediários como furfural, 5-hidroximetilfurfural, aldeídos e fenóis. A desidratação intermolecular e intramolecular dos intermediários, bem como reação de condensação,

tautomerismo ceto-enol levam a formação de unidades aromáticas (WANG et al., 2018). As esferas de CH são formadas por difusão e ligações com as funcionalidades químicas das esferas formadas com os compostos orgânicos em solução. No mecanismo proposto a formação do CH possui um núcleo aromático e hidrofóbico (contendo cetonas e éter) e uma superfície com funções oxigenadas (grupos carboxílicos)(WANG et al., 2018).

**Figura 1.** Mecanismo de formação de carvão hidrotérmico a partir de celulose



Reimpresso de *A review of the hydrothermal carbonization of biomass waste for hydrochar formation: Process conditions, fundamentals, and physicochemical properties*, v. 90, Wang, T.; Zhai, Y.; Zhu, Y.; Li, C.; Zeng, G., p. 223–247, Copyright (2018), com permissão da Elsevier (licença: 4600570228027).

O grande diferencial da CHT, em relação a outros processos de termoconversão, é a possibilidade de usar biomassas e resíduos com alto teor de umidade ou ainda efluentes líquidos, o que abre o campo de aplicabilidade para uma diversidade maior de matérias-primas (WANG et al., 2018). O meio aquoso da CHT combinado às temperaturas de reação, causa altas pressões que são autogeradas (2-10 MPa) o que pode gerar água no estado subcrítico, acelerando as reações de decomposição da biomassa para conversão em carvão hidrotérmico. A reação gera três produtos principais: água de processo (fase aquosa), gases (fase gasosa) e o carvão hidrotérmico (sólido). As diferenças de composição entre os carvões hidrotérmicos variam de acordo com as biomassas, temperatura e tempo de reação empregada no processo.

Biomassas lignocelulósicas, como o bagaço de cana-de-açúcar, têm sido carbonizadas hidrotermicamente gerando um material rico em carbono (CHEN; YE; SHEEN, 2012). A mistura de bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça na CHT foi estudada por Melo et al. (2017) que obteve um carvão hidrotérmico rico em carbono orgânico e também em nutrientes como N, P, Ca e Mg, produzido na temperatura de 230 °C com adição de 4% (v/v) de ácido fosfórico.

As aplicações do carvão hidrotérmico produzidos utilizando diferentes matérias-primas são bastante variadas: o uso como adsorventes de líquidos e gases, na catálise heterogênea, no armazenamento de energia em baterias e supercapacitores, em aplicações biológicas e para as aplicações agrícolas (KAMBO; DUTTA, 2015; REZA et al., 2014a; TITIRICI et al., 2012; WANG et al., 2018). A aplicação do *biochar* é bastante estudada e comprovadamente benéfica aos solos, melhorando a retenção de água, disponibilização de nutrientes, armazenamento de carbono, remediação e recuperação de áreas contaminadas (BEESLEY et al., 2011; MANGRICH et al., 2015; NARZARI et al., 2017; PRATIWI et al., 2016). Dentro das aplicações agrícolas, o uso do CH seria comparado ao uso do *biochar* nos sistemas de plantio. Bento et al. (2019) na aplicação de porcentagens de CH em colunas contendo argissolo e latossolo verificaram a liberação de nutrientes e carbono orgânico, bem como o acúmulo de carbono orgânico em latossolo, num efeito de curto prazo, além de aumentar a retenção de água. BARGMANN et al. (2014) verificou efeito positivo no crescimento de plantas com aplicação de CH, mas as respostas dependem da espécie da planta. No entanto, a literatura também relata efeitos negativos sobre o crescimento das plantas com aplicação de CH (RILLIG et al., 2010), bem como algumas limitações para a aplicação no solo, como a presença de compostos tóxicos e menor pH (BARGMANN et al., 2013;

REZA et al., 2014a). Os diversos impactos devem ser estudados para cada material, visto que cada biomassa carbonizada e condições de reação gera um material com diferentes propriedades.

O *biochar* obtido da pirólise tem apresentado semelhanças ao carbono pirogênico presente nos solos TPI em termos de estruturas aromáticas e poliaromáticas (GLASER e BIRK, 2012; NOVOTNY et al., 2015), pois a pirólise simula o processo de carbonização dos restos vegetais e animais que formou o carvão encontrado nos solos TPI. O processo de CHT também pode fornecer um modelo de matéria orgânica aromática e funcionalizada, utilizando condições amenas de temperatura. Se estruturas semelhantes à da MO da TPI são formadas, estas podem apresentar propriedades similares e o produto ser desejável agronomicamente.

### 2.3 Terra Preta de Índio

Os solos TPI são caracterizados pela presença do horizonte A antrópico definido no Manual Brasileiro de Classificação de Solos como o *“horizonte formado ou modificado pelo homem pelo uso prolongado, seja como lugar de residência, de descarte ou de cultivo, no qual haja sinais de adições de material orgânico de variada natureza, em mistura ou não com material mineral, cujas evidências possam ser comprovadas pela presença de artefatos cerâmicos e/ou líticos, ossos, conchas ou vestígios de ação do fogo (carvão e cinzas)”*. As TPI são conhecidas por sua alta fertilidade em comparação com outros solos tropicais com avançado estágio de intemperismo. A sua distribuição é ampla na região amazônica, sendo encontrado sítios com extensões de até 5 km<sup>2</sup>. Grande parte das TPI está localizada próxima aos rios de água branca (KERN et al., 2004). Estes solos são resultado de atividades antrópicas, provavelmente da ocupação por povos pré-colombianos que carbonizavam os resíduos de plantas e animais como forma de disposição, e que o acúmulo do material carbonizado durante os anos originou um solo rico em matéria orgânica, principalmente na forma de carbono pirogênico ou *black carbon* (KERN et al., 2019; TEIXEIRA et al., 2009). O carbono pirogênico é a denominação para o material derivado da carbonização parcial (pirólise) de biomassa e é composto por unidades poliaromáticas condensadas com diferentes níveis organizacionais e baixo teor de hidrogênio (NOVOTNY et al., 2009).

O carbono pirogênico não é exclusivo dos solos TPI. Sua formação é comum em ambientes nos quais ocorrem queima da vegetação, como é o caso do Cerrado brasileiro. É uma fração importante da matéria orgânica por apresentar alta recalcitrância e reatividade, favorecendo a capacidade de troca catiônica (CTC) dos solos tropicais que possuem argila de baixa atividade (NOVOTNY, 2009). A contribuição do carbono pirogênico frente ao carbono total nas TPI é alta quando comparado aos solos de área adjacente. A qualidade do carbono pirogênico pode ser avaliada por meio de marcadores tais como ácidos benzenopolicarboxílicos, no qual a maior identificação desses ácidos carboxílicos de natureza aromática sugere maior grau de policondensação (KERN et al., 2019).

A resiliência é uma das principais características das TPI, pois mesmo depois de cultivos sucessivos permanece com alta fertilidade (JORIO et al. 2010; MADARI et al., 2009; NOVOTNY et al., 2009). Essa propriedade das TPI pode ser atribuída ao alto teor de matéria orgânica mais estáveis/resistentes à degradação microbiana e com elevada CTC, proporcionando fertilidade aos solos por um período maior de tempo (MOREIRA, 2007; TEIXEIRA, 2007).

As TPI podem variar de acordo com o local, o tipo de uso e ocupação que o solo sofreu, podendo ser diferenciada pelo conhecimento tradicional em Terra Mulata e Terra Preta. A TPI é caracterizada principalmente pela alta concentração de nutrientes, principalmente fósforo (P), cálcio (Ca) e magnésio (Mg), material orgânico e contém artefatos do período pré-colombiano, pois foram lugares de moradia (GLASER; BIRK, 2012; LIMA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2018; SÖDERSTRÖM et al., 2016). Os solos TPI possuem espécies de fósforo associados a partículas de carbono (ARCHANJO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2018), e essas partículas de carbono são próximas em distância (40–70µm) comparada com os solos de área adjacente (centenas de micrometros). A Terra Mulata apresenta horizonte superficial menos espesso e coloração levemente mais clara, possui nível de fertilidade inferior as TPI, porém superior aos solos de áreas adjacentes e não apresentam fragmentos de cerâmicas, pois foram lugares de plantação (TEIXEIRA et al., 2009).

As características das TPI, tais como matéria orgânica aromática e reativa proporcionam maior tempo de vida dos compostos de carbono orgânico no solo, maior CTC e diversidade microbiológica. Esses fatores condicionam a alta fertilidade desses solos e tornam sua matéria orgânica modelo a ser atingido nos solos agrícolas.

## 2.4 Matéria Orgânica no solo

A matéria orgânica (MO) é um componente amplamente distribuído nos compartimentos ambientais, apresentando características bastante diversificadas e exercendo importante influência nos ambientes. Atua em reações de complexação, seja de espécies inorgânicas ou orgânicas, nos ciclos redox, no ciclo do carbono, nas reações fotoquímicas e microbiológicas (PICCOLO, 1996; PICCOLO et al., 2019a). A matéria orgânica dos solos (MOS) refere-se a todo o conteúdo orgânico presente no solo incluindo a serrapilheira, resíduos de plantas em diferentes estágios de decomposição, biomassa microbiana, compostos orgânicos solúveis e matéria orgânica refratária (húmus) (STEVENSON, 1994).

A MOS pode ser separada em dois grupos:

- I) Materiais inalterados: que incluem resíduos recentemente depositados no solo;
- II) Produtos transformados ou húmus que sofreram mudanças conformacionais.

A MOS está envolvida nas propriedades biológicas, físicas e químicas do solo, sendo (VAN-CAMP et al., 2004):

- Propriedades físicas: coloração do solo, regulação da temperatura, retenção de água, formação de agregados no solo entre material orgânico e inorgânico e habitat para os microrganismos.
- Propriedades químicas: aumento da capacidade de troca de cátions pela presença de grupos funcionais, manutenção do pH do solo, é a principal fonte de elétrons para as reações redox.
- Propriedades biológicas: fonte de nutrientes e de energia para plantas e microrganismos proporcionando diversidade biológica.

A dinâmica da MOS é complexa, e é controlada por diversos fatores de formação do solo, como tempo, topografia, material de origem, vegetação e clima (JENNY, 1994; STEVENSON, 1994) e, principalmente, uso do solo. A MOS pode ser decomposta em componentes mais simples ou sofrer mineralização total liberando produtos como dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), metano ( $\text{CH}_4$ ) e óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) ou ainda transformada em SH com o processo de humificação.

### 2.4.1 Substâncias Húmicas

As substâncias húmicas (SH) são compostos naturais formados com os produtos da degradação química e microbiológica dos tecidos vegetais e animais (PICCOLO, 1996). São resultantes da agregação de precursores orgânicos como açúcares, celulose, hemiceluloses, ligninas, proteínas, ceras e lípidos. Sua formação varia em função das condições ambientais como presença de vegetação natural, relevo, clima, população microbiológica dentre outros. A visão tradicional que considerava a natureza macropolimérica das SH foi substituída por um novo consenso a respeito do processo de humificação, na qual considera a natureza química do processo como resultado da formação de uma estrutura supramolecular dos compostos orgânicos no solo.

Com base em algumas propriedades das SH, tais como composição elementar, propriedades óticas e massa molecular e, principalmente, após a análise dos seus produtos da hidrólise ácida (HCL, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), foi postulado uma possível natureza polimérica das SH (KONONOVA, 1966; PICCOLO, 2001; STEVENSON, 1994). Essa abordagem postulava o processo de humificação como resultado de reações de condensação entre os produtos de degradação dos resíduos de plantas e animais (monômeros) com formação de ligações covalentes dando origem a uma nova substância polimérica, que se difere dos seus precursores, denominada de SH. Por exemplo, os polifenóis oriundos da degradação de ligninas podem ser oxidados biótica ou abioticamente até quinonas que, por sua vez, ao reagirem com compostos nitrogenados dão origem as SH. As ligações covalentes das SH confeririam alta estabilidade ou recalcitrância, permanecendo por longo tempo no ambiente.

Essa visão da composição molecular das SH resultou na publicação de Lehmann e Kleber (2015) na qual criticam o processo de humificação, sugerindo que o processo não ocorre no solo, além de criticarem o meio alcalino de extração, sugerindo não ser adequado para isolar esse tipo de substâncias. Sendo assim, propõe um modelo contínuo de decomposição da MOS. Assim, alguns autores publicaram perspectivas e a visão sobre as SH, mostrando através de uma revisão de artigos que mostram o acúmulo de MO no solo e que o modelo contínuo de decomposição proposto por Lehmann e Kleber (2015) é falho ( JANZEN, 2019; KLEBER; LEHMANN, 2019; MYNENI, 2019; OLK et al., 2019).

A visão polimérica foi abandonada diante de uma série de evidências experimentais que descreveram a natureza não polimérica das SH. Mais do que polímeros como considerava a visão antiga, as SH podem ser definidas como uma

associação supramolecular complexa de moléculas orgânicas heterogêneas de tamanho molecular relativamente pequeno mantidas por forças de natureza fracas predominantemente hidrofóbicas (Wan der Waals, ligações do tipo  $\pi$ - $\pi$  e CH- $\pi$ ) ligações H e por pontes metálicas intramoleculares (PICCOLO 2002, PICCOLO et al., 2012; PICCOLO et al., 2018).

A estabilização da estrutura húmica em solução aquosa depende do pH e do caráter hidrofóbico. Além disso, as interações dessas moléculas pequenas formam uma estrutura supramolecular de diferentes tamanhos que variam da natureza de formação, ou seja, as SH sofrem variação de um ambiente para outro. A recalcitrância do húmus no solo não necessariamente pode ser atribuída à energia química armazenada nas ligações covalentes. Mas, pode ser atribuído ao acúmulo de unidades hidrofóbicas, que sofrem interações com os minerais formando agregados (HUANG et al., 2018; LAL, 2014). A acumulação do húmus no solo é resultado do acesso restrito dos microrganismos e suas exoenzimas solúveis em água, devido à proteção física exercida pelos aglomerados e também proteção química causada pela hidrofobidade (DUNGAIT et al., 2012; PICCOLO et al., 2018). O processo de humificação foi redefinido por PICCOLLO et al. (2018) como resultado da segregação progressiva de compostos hidrofóbicos da fase aquosa do solo, derivados da transformação biótica e abiótica de biomoléculas liberadas com a morte das células. Esses compostos hidrofóbicos tais como C-alquílicos e C-aromáticos são então adsorvidos na superfície de aluminossilicatos por forças de natureza fraca e dispersiva. A afinidade mútua por outros compostos de natureza hidrofóbica dirige a adsorção progressiva em multicamadas hidrofóbicas, nos quais persistem por longo tempo devido à proteção química exercida pela exclusão da água e das enzimas solúveis (PICCOLO et al., 2018).

As SH foram classificadas com base na solubilidade em função do pH, em três diferentes frações: ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) e huminas (H). Os AH são solúveis em pH básico e sub-neutro, os AF são solúveis em meio aquoso em qualquer faixa de pH e as H são insolúveis em meio aquoso independente da faixa de pH. Com uma nova abordagem da classificação das SH o fracionamento pode ser reconsiderado não só apenas pela solubilidade em meio aquoso, mas levando em consideração as interações em termos químicos. Sendo que os AF podem ser considerados associações de moléculas hidrofílicas que possuem quantidade de grupos funcionais polares suficientes para manter-se solúvel em água em qualquer faixa de pH. Os AH podem ser considerados estruturas constituídas principalmente por compostos

hidrofóbicos e sua conformação cresce com a formação de ligações de hidrogênio em valores de baixo pH até a sua respectiva floculação (PICCOLO, 2001, 2002). As H podem ser completamente isoladas do solo e os compostos analisados depois da conveniente separação da fração mineral com NaOH e ureia, ou ainda com solventes polares apróticos como DMSO em meio ácido ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  6% v/v) (SONG et al., 2011).

As SH atuam na complexação de metais reduzindo toxicidade aos organismos aquáticos e do solo, na retenção de água e estruturação do solo evitando erosão (LAL, 2019; PICCOLO et al., 2019a; ROCHA; ROSA, 2003). Podem influenciar a capacidade de tamponamento do solo, umidade e condicionar a atividade microbiológica o que pode favorecer a fixação biológica de nitrogênio, proporcionando maior crescimento das plantas. Possuem uma grande quantidade de grupos funcionais em suas estruturas que favorecem o aumento da CTC, que podem tanto complexar ou liberar nutrientes aos solos quanto adsorver compostos orgânicos, como os pesticidas (PICCOLO et al., 2019b; STEHLICKOVA et al., 2009). Conforme as SH vão sendo oxidadas aumentam-se os grupos funcionais favorecendo o aumento da CTC no solo.

As SH apresentam diferentes vias de formação dependendo do ambiente em que está presente. Tadini et al. (2018) verificaram as diferentes vias na formação de AH nos horizontes de podzol da região amazônica a qual apresentou diferente composição em profundidade. Identificaram que as estruturas de AH não foram correlacionadas com a idade e sofreram variações que permitiram a classificação em 4 tipos: recalcitrante, humificada e antiga; lábil e jovem; humificada e jovem; e pouco humificada e antiga.

Visto que as SH exercem diferentes funções no solo, a dinâmica bem como a composição das mesmas são investigadas para a criação de novas tecnologias com diferentes propostas de aplicação, como na medicina, no setor de cosméticos, tratamento de efluentes, energias renováveis até mesmo em alimentos (ISLAM et al., 2018). Logo, algumas técnicas são empregadas na caracterização das SH, e o uso conjunto de múltiplas técnicas auxiliam no entendimento das características moleculares das mesmas.

#### **2.4.2 Caracterização estrutural das substâncias húmicas**

A caracterização das SH pode ser feita utilizando diversas técnicas e procedimentos. Porém, a total elucidação da estrutura das SH ainda é um desafio, e estas são variáveis para cada ambiente. As técnicas espectroscópicas mais empregadas

para acessar a funcionalidade química das SH são: espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV), na região do infravermelho (IV), Fluorescência Molecular e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) do isótopo de carbono de massa treze (DE MASTRO et al., 2019; PRIMO; MENEZES; SILVA, 2011). Métodos que permitem identificar os componentes moleculares tais como as reações de hidrólise e metilação termicamente seguida da identificação de compostos por GC-MS conhecida como *Thermochemolysis GC-MS* e o fracionamento químico sequencial também vem sendo empregados na caracterização das SH (DROSOS; NEBBIOSO; PICCOLO, 2018; NEBBIOSO; PICCOLO, 2012; SPACCINI; PICCOLO, 2009a, 2009b).

A espectrofotometria por UV-Vis tem sido utilizada para inferir o grau de aromaticidade presente nas SH, assim como a fluorescência molecular que fornece algumas características que permitem inferir a aromaticidade ou grupos de substituintes (DE MASTRO et al., 2019; ORAZIO; TRAVERSA, 2014; SENESI; MIANO, 1991). A fluorescência no modo matriz emissão-excitação tem sido utilizada para inferir características estruturais (TRAVERSA et al., 2014), bem como a aplicação de análise de fatores paralelos (PARAFAC) um tipo de tratamento estatístico para verificar quais são os componentes fluorescentes da amostra (TADINI et al., 2015a). A técnica de infravermelho permite inferir os grupos funcionais polares presentes nas SH, tais como os grupos carbonila, hidroxilas, amidas e ligações simples (C-H) ou duplas (C=C) (DE MASTRO et al., 2019; RODRÍGUEZ; NÚÑEZ, 2011).

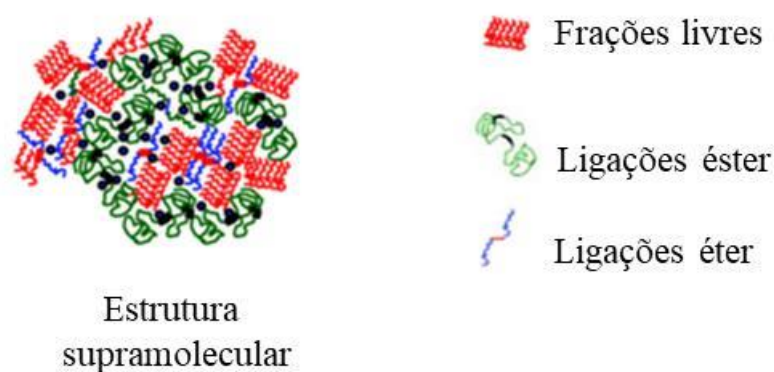
Os espectros de CP/MAS  $^{13}\text{C}$  RMN fornecem informações quantitativas sobre as espécies de C tais como a quantidade de carbono, alifático e aromático, presença de grupos fenólicos e carboxílicos na estrutura das SH (MONDA et al., 2017; SPACCINI; PICCOLO, 2009a; TADINI et al., 2015b).

A análise da composição molecular das SH pode ser realizada com a *Thermochemolysis GC-MS* e o fracionamento sequencial. A caracterização por *Thermochemolysis GC-MS* consiste em um processo de pirólise, na presença de um derivatizante químico, e tem sido utilizada como um método para caracterização da composição molecular de materiais por GC-MS (MONDA et al., 2018; SPACCINI et al., 2019; SPACCINI; PICCOLO, 2009a; TADINI et al., 2015c). A realização da *Thermochemolysis GC-MS* no modo *offline* torna possível aumentar a quantidade de massa da amostra, além disso a adição de hidróxido tetrametilamônio causa hidrólise e metilação de ligações do tipo éter e éster, o que mantém a estabilidade térmica dos grupos funcionais polares e evita rearranjos estruturais com os produtos do processo

pirolítico (SPACCINI et al., 2013). Logo, a *thermochemolysis GC-MS* vem sendo empregada para acompanhar o estágio de maturidade de biocomposto, acompanhar a degradação da lignina, inferir a origem da matéria orgânica como também a de extratos orgânicos de *biochar*, para avaliar a influência do extrato em ensaios de germinação (MONDA et al., 2017; SPACCINI et al., 2019; SPACCINI; PICCOLO, 2009b; SUN et al., 2017).

O fracionamento sequencial, chamado de humeômica, foi proposto por Nebbioso e Piccolo (2011) considerando a conformação estrutural das SH mantida por interações do tipo fracas, interação com água e íons metálicos como mostra a Figura 1. Visto que as estruturas são mantidas por interações fracas, o fracionamento rompe essas interações para o melhor entendimento estrutural de cada fração por meio da adição de diferentes extratores (DROSOS; NEBBIOSO; PICCOLO, 2018; DROSOS; PICCOLO, 2018; NEBBIOSO; PICCOLO, 2011, 2012). Cada extrator age em um tipo de ligação, removendo desde ligações fracas a ligações fortes, podendo ser obtido informações sobre os extratos fracionados por meio de técnicas cromatográficas, como cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS), *Thermochemolysis* e RMN.

**Figura 2.** Estrutura supramolecular proposta por Nebbioso e Piccolo (2011).



Reimpresso (adaptado) com permissão de (Nebbioso, A.; Piccolo, A. Basis of a humeomics science: Chemical fractionation and molecular characterization of humic biosuprastructures. *Biomacromolecules*, v. 12, n. 4, p. 1187–1199, 2011). Copyright (2011) American Chemical Society.

### 3 Objetivos

Este trabalho teve como objetivo realizar a caracterização das substâncias tipo húmicas de carvão hidrotérmico, produzido a partir da carbonização hidrotérmica do bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça, e de SH extraída de uma Terra Preta de Índio da Amazônia visando comparar as suas características.

#### 3.1 Objetivos específicos

- a) verificar as diferenças estruturais das substâncias húmicas dos solos TPI e de uma área adjacente em profundidade;
- b) Estudar a diferença molecular entre os solos TPI e solos de área adjacente;
- c) Verificar as diferenças moleculares entre os extratos húmicos de carvão hidrotérmico e as substâncias húmicas naturais, bem como avaliar a bioatividade de ambos;

### 4 Material e método

#### 4.1 Carbonização hidrotérmica e caracterização dos produtos obtidos

##### 4.1.1 Produção de carvões hidrotérmicos

Foram produzidos seis carvões hidrotérmicos (CH) por meio de carbonização hidrotérmica (CHT), em um reator de teflon com capacidade de 600 mL, revestido de aço inox, utilizando bagaço de cana-de-açúcar, vinhaça e ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ). O número de carbonizações realizadas e a massa obtida para cada condição se encontra na Tabela 1A do apêndice. A Figura 3 ilustra o processo de carbonização e os produtos obtidos. A melhor condição de temperatura (230 °C) foi estudada previamente por Melo et al., (2017) e patentado por Melo et al. (2016). Os CH neste estudo foram obtidos nas seguintes condições:

- 1) **HB**: Mistura de 19,2 g de bagaço de cana-de-açúcar e 400 mL de água destilada;
- 2) **HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>**: Mistura de 19,2 g de bagaço de cana-de-açúcar, 384 mL de água e 16 mL de ácido fosfórico (85% v/v);
- 3) **HV**: 400 mL de vinhaça;
- 4) **HVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>**: Mistura de 384 mL de vinhaça e 16 mL de ácido fosfórico (85% v/v);

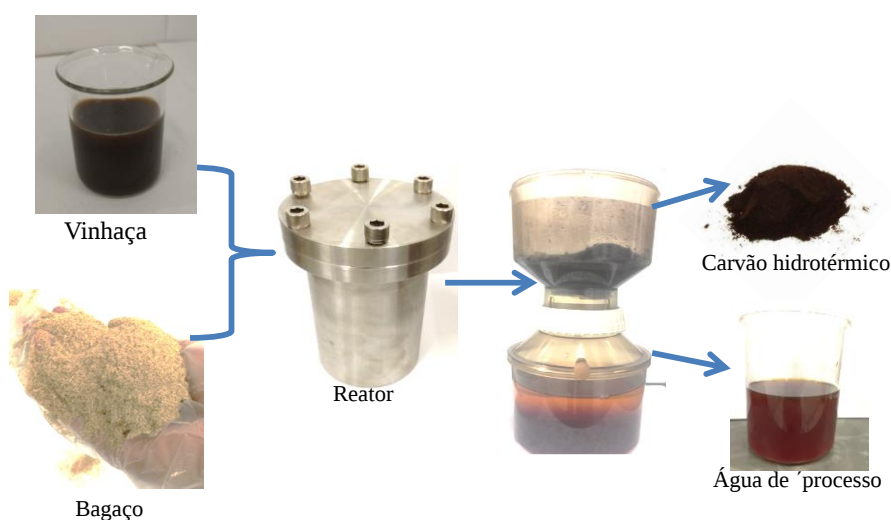
- 5) **HBV**: Mistura de 400 mL de vinhaça e 19,2 g de bagaço de cana-de-açúcar;
- 6) **HBVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>**: Mistura de 384 mL de vinhaça, 19,2 g de bagaço de cana-de-açúcar e 16 mL de ácido fosfórico (85% v/v);

Após o término da reação, o CH foi separado da fase aquosa por filtração a pressão reduzida, lavado com água destilada, sendo em seguida seco em estufa a 50 °C, e depois armazenado.

A massa de carvão hidrotérmico foi calculada de acordo com a Equação I, considerando a massa das biomassas empregadas em cada reação, bem como a massa de ácido adicionado (se adicionado).

$$\text{Rendimento em massa (\%)} = \frac{\text{massa do CH obtido}}{\text{massa da biomassa de partida}} \times 100 \text{ Equação (I)}$$

**Figura 3.** Esquema representativo do processo de carbonização hidrotérmica de bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça, filtragem e produtos obtidos (carvão hidrotérmico e água de processo).



Fonte: Autoria Própria

#### 4.1.2 Determinação do pH

O pH do CH foi medido em água (1:10, m/v) em potenciômetro equipado com eletrodo de vidro da MARCONI, modelo PA200 (US EPA, 2015).

#### 4.1.3 Determinação de umidade, cinzas e matéria orgânica

O teor de umidade, matéria orgânica e cinzas foram determinados nas amostras de CH utilizando método ASTM D 2974-87 (ASTM, 2014). Foi utilizado 0,3 gramas de amostra para os carvões hidrotérmicos.

**Umidade:** Previamente aqueceu-se os cadinhos em estufa na temperatura de 110 °C durante 1 hora. Após, os cadinhos foram resfriados em dessecador por 1 hora. Pesou-se os cadinhos e adicionou-se cerca de 0,3 gramas de CH. As amostras foram colocadas na estufa durante 16 horas. A umidade foi determinada como mostra a Equação II.

**Cinzas:** as amostras foram submetidas em forno mufla, previamente aquecido, à temperatura de 750 °C por 6 horas. Após, foram resfriadas em cadinhos por 1 hora. As cinzas foram determinadas como mostra a Equação III.

**Matéria Orgânica:** Após os procedimentos realizados anteriormente descritos, esse método considera-se o teor de matéria orgânica a massa perdida entre 110 e 750 °C. A matéria orgânica foi determinada como mostra a Equação IV.

$$\text{Umidade} = \frac{(A-B) \times 100}{A} \text{ (Equação II)}$$

$$\text{Cinzas} = \frac{C \times 100}{B} \text{ (Equação III)}$$

$$\text{Matéria orgânica (\%)} = 100 - D \text{ (Equação IV)}$$

A= Massa inicial

B= Massa após 110 °C

C= Massa após 750 °C

D= teor de cinzas em porcentagem

#### 4.1.4 Análise Elementar

A análise elementar das amostras foi realizada empregando um analisador elementar CE Instruments, modelo EA 1110. O oxigênio foi estimado pela diferença das cinzas, carbono, hidrogênio e nitrogênio. O valor de cinzas considerado foi a porcentagem obtida no tópico 4.1.3.  $O (\%) = 100 - (\text{cinzas} + \% C + \% H + \% N)$ .

#### 4.1.5 Determinação dos elementos totais (metais e não-metais) no carvão hidrotérmico

As amostras de CH foram submetidas à decomposição ácida seguindo o método 3050B (USEPA, 1996). As amostras foram decompostas em Erlenmeyers utilizando

uma chapa de aquecimento a temperatura de 95 °C, com adição de ácido nítrico 65% (v/v) e peróxido de hidrogênio 30% (v/v). A quantificação dos elementos potássio (K), sódio (Na), cálcio (Ca), magnésio (Mg), alumínio (Al), zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn) e ferro (Fe) foram feitas empregando um espectrofotômetro de absorção atômica com atomização por chama (FAAS) da marca Varian modelo AA24OFS. Os elementos K e Na foram feitos no modo de emissão atômica e os demais elementos no modo de absorção atômica. A concentração de P foi determinada pelo método espectrofotométrico do amarelo de vanadato 4500-P C (APHA/AWWA/WEF, 2012) usando espectrofotômetro de absorção na região do visível (Fento, 700 Plus, Brasil) com leitura no comprimento de onda de 420 nm.

As condições experimentais usadas na determinação dos elementos no espectrofotômetro de absorção atômica constam na Tabela 2A do apêndice. Foi realizada digestão ácida de amostra de solo certificada (San Joaquin soil) e amostra de tecido vegetal MRV-17 da EMBRAPA, na qual os resultados obtidos foram satisfatórios.

#### **4.1.6 Análise Termogravimétrica**

A degradação térmica das biomassas (bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça) e carvão hidrotérmico foi realizada utilizando uma balança termogravimétrica PerkinElmer TGA-4000, empregando 4 mg de cada amostra em atmosfera de oxigênio. As amostras foram estabilizadas por 1 min a 30 °C e aquecida a uma taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup> até 900 °C.

#### **4.1.7 Microscopia Eletrônica de Varredura**

As imagens de microscopia eletrônica de varredura foram obtidas empregando um microscópio FEG Quanta 450 (FEI Company, Czech Republic).

#### **4.1.8 Estudos de RMN**

##### **4.1.8.1 <sup>1</sup>H RMN no estado líquido da vinhaça**

Previamente foi realizada uma tentativa de obter o espectro de RMN no estado sólido, com liofilização e secagem da vinhaça em estufa. Não foi obtido êxito pela textura pastosa do material, provavelmente pela presença de sais. Então, foi empregado

espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear no estado líquido para amostra de vinhaça. Para isso, 20 mg de vinhaça foram dissolvidas em 20 mL de água deuterada ( $D_2O$ ) ( $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e colocados em um tubo de quartzo de 5,0 mm. O espectro de  $^1H$ -RMN foi adquirido empregando o espectrômetro Bruker Avance de 400 MHz (Bruker, Billerica, MA, EUA), equipado com uma sonda Bruker BBI (Broad Band Inversa) de 5 mm.

#### 4.1.8.2 $^{13}C$ RMN no estado sólido

Foi empregada a espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear do isótopo de carbono de massa treze ( $^{13}C$  RMN) com transferência cruzada de polarização (CP) e rotação no ângulo mágico (MAS) (CP-MAS/  $^{13}C$  RMN) nas amostras de bagaço de cana-de-açúcar e dos CH. Os espectros foram adquiridos utilizando um aparelho Bruker AV-300 MHz (Bruker, Billerica, MA, EUA) equipado com uma sonda Magic Angle Spin (MAS) com largura de 4,0 mm. Cerca de 80 mg da amostra foram empacotadas em rotores cilíndricos de zircônio de 4,0 mm de diâmetro e selados com uma tampa Kel-F®. Os espectros de carbono foram adquiridos a partir de uma frequência de rotação no rotor de 10 kHz, 1 s de tempo de recirculação, 1 milissegundo de tempo de contato, 20 milissegundos de tempo de aquisição e 4000 varreduras.

A hidrofobicidade, aromaticidade e a razão de alquila foram calculadas como mostram as Equações V, VI e VII:

$$\text{Índice de hidrofobicidade (IH)} = \frac{(0-45 \text{ ppm}) + (110-160 \text{ ppm})}{(45-60 \text{ ppm}) + (60-110 \text{ ppm}) + (160-190 \text{ ppm})} \text{ (Equação V)}$$

$$\text{Índice de aromaticidade (IA)} = \frac{(110-160 \text{ ppm})}{(0-45 \text{ ppm}) + (60-110 \text{ ppm})} \text{ (Equação VI)}$$

$$\text{Razão Alquil/O-Alquil (Al/O-Al)} = \frac{(0 \text{ to } 45 \text{ ppm})}{(60 \text{ to } 110 \text{ ppm})} \text{ (Equação VII)}$$

## 4.2 Coleta e caracterização dos solos

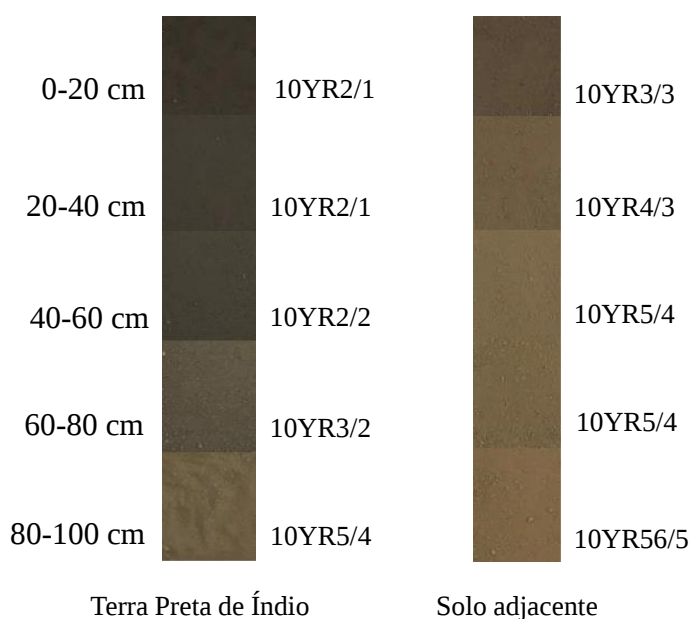
### 4.2.1 Coleta dos solos Terra Preta de Índio e de solo adjacente

As amostras da TPI foram coletadas na área da comunidade Santa Maria dos Caiaúes, localizada na Floresta Nacional do Pau Rosa, no município de Maués – AM (Autorização de coleta SISBio nº 50042-2 e cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGen) número

A0018C2). A coleta foi realizada com recursos do projeto FAPESP (Processo FAPESP 2015/22954-1).

Duas amostras em profundidade foram coletadas, sendo uma de solo TPI (S 04°04'51.9" W 058°24'50.7") e uma de área adjacente (S 04°00'05.4" W 058°24'49.0") como mostra a Figura 4. A distância entre o sítio de TPI amostrado e do solo de área adjacente neste estudo é em torno de 10,4 km. A coleta foi realizada em profundidade de 1 metro em camadas sequenciais de 20 centímetros, sendo as amostras nomeadas em cinco frações (F1 = 0 a 20 cm; F2 = 20 a 40 cm; F3 = 40 a 60 cm; F4 = 60 a 80 cm e F5 = 80 a 100 cm). As amostras de solo foram secas em temperatura ambiente, homogeneizadas, peneiradas a 2 mm (para remoção de folhas, raízes e cerâmicas) e armazenadas em sacos plásticos. As amostras foram classificadas de acordo sua coloração seguindo a carta Munsell de cores para solo.

**Figura 4.** Imagens reais da coloração de cada camada em profundidade pertencente ao solo Terra Preta de Índio e do solo de área adjacente e suas respectivas cores seguindo a carta de cores Munsell.



Fonte: Autoria Própria

#### 4.2.2 Determinação do pH

O pH do CH foi medido em água (1:2,5, m/v) em potenciômetro equipado com eletrodo de vidro da marca MARCONI, modelo PA200 (EMBRAPA, 2017).

#### **4.2.3 Análise Elementar**

As análises elementares das amostras foram realizadas de acordo com o tópico 4.1.4.

#### **4.2.4 Avaliação dos elementos (metais e não metais) totais nos solos**

As amostras de solos foram submetidas à decomposição ácida seguindo o método 3050B e quantificadas empregando um espectrofotômetro de absorção atômica com atomização por chama (FAAS) como descrito no tópico 4.1.5. Os procedimentos foram realizados em triplicata e quantificados os metais potássio (K), sódio (Na), cálcio (Ca), magnésio (Mg), alumínio (Al), zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn) e ferro (Fe) e o não-metal fósforo (P).

#### **4.2.5 Análise granulométrica dos solos**

Nos solos TPI e de área adjacente foram realizada análise granulométrica segundo o método proposto pela EMBRAPA (2017). Primeiramente as amostras foram tratadas com peróxido de hidrogênio 30% (v/v) para remoção de matéria orgânica e carbonatos. A areia fina e areia grossa foram separadas através de peneira, sendo a fração silte e argila determinada pelo método da pipeta.

#### **4.2.6 Determinação de matéria orgânica**

A matéria orgânica dos solos TPI e de área adjacente foram realizadas como descritas no tópico 4.1.3, utilizando 1,0 grama de cada amostra de solo.

#### **4.2.7 Formas de ferro e alumínio nas frações dos solos**

O ferro e alumínio em óxidos amorfos (Feo e Alo, respectivamente) foram extraídos das camadas do solo com oxalato de amônio  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  em pH 3,0 (SCHWERTMANN, 1964). 100 mL de oxalato de amônio foram adicionados em 3,0 g de solo, após agitação em mesa agitadora por duas horas foi feita filtração em  $0,45 \mu\text{m}$ .

O ferro e alumínio em óxidos pedogênicos (Fed e Ald, respectivamente) foram extraídos usando o método Na-ditionito-citrato-bicarbonato com cinco extrações por camada, combinando os extratos para posterior análise (MEHRA; JACKSON, 1960). A extração foi feita com 2,0 g de solo, na qual foram adicionados 40,0 mL de citrato de sódio  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$  e 1,0 g de ditionito de sódio. As amostras foram mantidas em banho maria a  $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 15 minutos. Logo após, as amostras foram centrifugadas com

solução de cloreto de sódio saturado para floculação das argilas e foram filtradas em 0,45  $\mu\text{m}$ .

As formas de ferro e alumínio ligadas a MOS foram extraídas usando o método do pirofosfato de sódio (0,1 mol L<sup>-1</sup>) (MCKEAGUE; BRYDON; MILES, 1971). A extração foi conduzida sob agitação durante duas horas, ficando em repouso por 12 horas seguindo de uma nova agitação por mais duas horas. As amostras foram centrifugadas e filtradas em 0,45  $\mu\text{m}$ .

Os procedimentos foram realizados em triplicata e as formas de ferro e alumínio descritas acima foram sucessivamente quantificadas por espectroscopia de absorção atômica com atomização por chama (Varian, AA240FS, EUA).

### **4.3 Substâncias húmicas e tipo húmicas: extração e caracterização**

#### **4.3.1 Extração de SH dos solos e STH dos CH**

A extração de SH foi realizada seguindo o método descrito pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS). O método, resumidamente, consiste na extração das substâncias húmicas em 100,0 g de solo com 1,0 L de solução extratora (NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>) durante 4 h em atmosfera de nitrogênio. Após a extração as amostras foram centrifugadas a 10 000 rpm, a parte insolúvel é a humina e o sobrenadante são os ácidos húmicos e fúlvicos (fração estudada). Utilizou-se de diálise contra água deionizada (18 M $\Omega$ ) para purificação das SH até em que não houvesse alteração da condutividade. Em seguida as amostras foram liofilizadas para posterior caracterização.

No carvão hidrotérmico as substâncias foram denominadas como tipo húmica, pois não sofreram processo de humificação ou alteração microbiológica como as SH sofrem naturalmente no solo. As substâncias tipo húmicas (STH) foram extraídas em solução alcalina (NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>) empregando a razão 1/10 massa/extrator. A extração foi realizada 4 vezes no mesmo material, sob atmosfera de nitrogênio, sendo o tempo de cada extração de 4 h. Após a extração as amostras foram centrifugadas a 10 000 rpm e o sobrenadante foi purificado através de diálise para remoção de sais. As amostras após purificação foram liofilizadas e caracterizadas.

#### 4.3.2 Espectroscopia de Absorção e de Fluorescência de Luz UV-Visível

Primeiramente, antes de utilizar Espectroscopia de Absorção e de Fluorescência de luz UV-Visível, foram realizados testes de concentrações com as amostras de substâncias húmicas, a fim de evitar o efeito de filtro interno. Para o teste foram preparadas amostras com a concentração 0, 5, 10, 15, 20, 25, 50 e 100 mg L<sup>-1</sup> de carbono orgânico total (COT), dados apresentados na Figura 1A e 2A do apêndice. A melhor concentração obtida foi de 10 mg L<sup>-1</sup>, tanto para a TPI, área adjacente e STH extraídas do carvão hidrotérmico. A melhor concentração foi uma das que se enquadraram dentro da faixa da linearidade entre a concentração (eixo x) contra a intensidade fluorescente (eixo y). As amostras húmicas foram preparadas em uma solução de bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) 0,05 mol L<sup>-1</sup>, com concentração de 10 mg L<sup>-1</sup> de COT e o pH foi ajustado para 8,0. As medidas foram realizadas empregando um Espectrofluorímetro modelo Lumina da marca Thermo Scientific.

As análise de fluorescência molecular foram feitas no modo emissão e no modo matriz excitação-emissão (MEE). No modo MEE foram empregados os comprimentos de onda de 300-600 nm para emissão e de 250-500 nm para excitação. Os espectros no modo emissão foram feitos com varredura de 380 a 600 nm com um comprimento de onda de excitação fixo em 360nm.

Os gráficos EEM, que foram plotados como mapas de contorno a partir de dados espectrais, também foram tratados usando um método matemático conhecido como *Canonical Polyadic/Parallel Factor Analysis* (CP/PARAFAC), que decompõe estatisticamente os vetores tridimensionais em componentes (BRO, 1997; LUCIANI et al., 2009; MOUNIER et al., 1999, 2011). O número de componentes foi identificado por meio do núcleo de consistência de diagnóstico conhecida como CORCONDIA, que nada mais é do que a contribuição em porcentagem dos componentes identificados para a reconstrução da matriz. O *score* de cada componente é a contribuição fluorescente na amostra analisada, na qual podem ser verificadas as diferentes contribuições fluorescentes entre as amostras.

As análises por UV-Vis (UV-2600, Shimadzu) foram feitas através de uma varredura do espectro nos comprimentos de onda de 200 a 800 nm. A aromaticidade das amostras foram avaliadas por meio da relação E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> (absorbâncias em 465 nm e 665 nm).

#### 4.3.3 Análise Elementar

A análise elementar das amostras de STH e SH foram determinadas empregando um analisador elementar Perkin Elmer, modelo 2400 Series II CHNS/O, USA. O oxigênio foi estimado pela diferença das cinzas, carbono, hidrogênio e nitrogênio, em que as cinzas foram determinadas em balança termogravimétrica como descrito no tópico 4.3.4.  $O (\%) = 100 - (\text{cinzas} + \% C + \% H + \% N)$ . O conteúdo de C, H, N e O foram recalculados em uma base livre de cinzas.

#### 4.3.4 Análise Termogravimétrica

A degradação térmica foi realizada em atmosfera de oxigênio utilizando uma balança termogravimétrica PerkinElmer TGA-4000, com a metodologia adaptada de DE MELO BENITES et al.( 2005), usando 3,3 mg de cada amostra. As amostras foram estabilizadas por 1 min a 30 °C e aquecida a uma taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup> até 700 °C.

#### 4.3.5 RMN no estado sólido

Os espectros de RMN das amostras de STH e SH foram obtidos de acordo com o tópico 4.1.8.2.

#### 4.3.6 *Thermochemolysis GC-MS*

Reações de hidrólise e metilação termicamente assistidas acopladas à cromatografia gasosa e espectrometria de massas foram conduzidas com 100 mg de cada amostra em um tubo de quartzo, umedecidos com 300 a 600 µL de solução de hidróxido de tetrametilamônio (25% em metanol). A quantidade de hidróxido de tetrametilamônio foi variável, pois foi aplicada uma quantidade para que cobrisse toda a superfície da amostra. Depois da secagem da mistura, a amostra foi introduzida em um reator tubular da marca Tube Furnace modelo F21100 e aquecida a 400 °C. Os produtos liberados da *thermochemolysis GC-MS* foram continuamente transferidos por um fluxo de hélio (50 mL min<sup>-1</sup>) para dois Erlenmeyers sucessivos contendo 100 mL clorofórmio cada (como mostrado na Figura 5). As soluções de clorofórmio foram combinadas em um balão e concentradas por rotoevaporação. A amostra foi recuperada e colocada em um vial, posteriormente foi seca em nitrogênio. Todas as amostras secas tiveram seus respectivos volumes aferidos com 500 µL de clorofórmio, que seguiu para análise por

cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas GC-MS (PerkinElmer, Auto System XL) usando uma coluna capilar RTX-5MS WCOT, (Restek, 30 m×0,25 mm; fase estacionária 5% diphenyl/95% dimethyl polysiloxane com 0,25 µm de espessura), acoplada a um espectrômetro de massa do tipo quadrupolo PE Turbomass-Gold. A temperatura de entrada foi de 250 °C e o programa de aquecimento iniciou-se a 60 °C (mantido por 1 min) e foi elevado a 100 °C (taxa de aquecimento 7 °C min<sup>-1</sup>), depois a 300 °C (taxa de aquecimento 4 °C min<sup>-1</sup>) e mantido por 10 min. O hélio foi utilizado como gás carreador a 1,00 mL min<sup>-1</sup>, com split de 1:30. Os espectros de massa foram obtidos no modo EI (70 eV), varrendo na faixa de 45-650 m/z, com um tempo de ciclo de 0,2 s. O processo pirolítico foi realizado em duplicata para cada amostra, sendo o cromatograma submetido à interpretação conforme banco de dados NIST.

**Figura 5.** Processo de *thermochemistry* GC-MS em reator sob fluxo de hélio que encaminha os produtos liberados para os Erlenmeyers contendo clorofórmio.



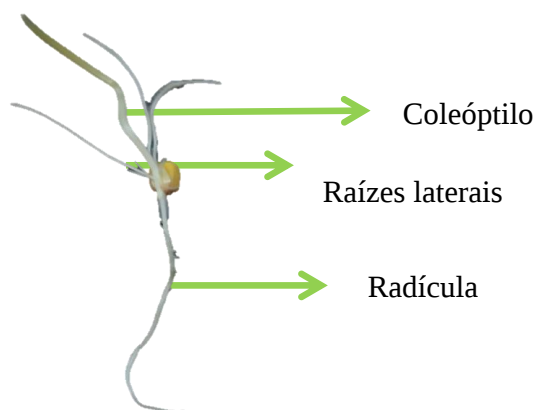
Fonte: A autoria Própria

#### 4.3.7 Bioensaios em sementes de milho com concentrações de SH e STH

Os testes de germinação foram realizados em uma câmara de germinação do tipo B.O.D. (MA 403, Marconi), por 5 dias (120 horas), a 25 °C e na ausência de luz. Os experimentos foram realizados em placas de petri em meio agarose (Sigma Aldrich), como feito por Fregolente et al. (2018). As sementes de milho (*Zea mays*, Poaceae) foram adquiridas comercialmente (Seminis, 85% germinação) e foram esterilizadas por

imersão em hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,0 % (m/v) por 10 min, em seguida as sementes foram lavadas para completa remoção do NaClO e imersas em água por 12 h para quebra da dormência da semente. O meio de agarose foi preparado usando água deionizada em uma proporção agarose/solução 1:100 (m/v). 100 mg de cada HLS e HS foram dissolvidas em água deionizada e analisados por COT (Shimadzu, TOC-VCSN, Japão). A solução concentrada foi diluída em soluções de 1, 10, 50 mg L<sup>-1</sup> de COT e o pH foi corrigido para 6,0 utilizando soluções de hidróxido de potássio (KOH) e ácido clorídrico (HCl) ambos na concentração de 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Para estes ensaios, 10 sementes foram colocadas em cada placa de petri (10 cm de diâmetro) e foram realizadas 5 repetições para cada concentração. Após os experimentos, foram tiradas fotografias das plântulas e medido o comprimento radicular, das raízes laterais e do coleóptilo para cada semente nas placas de Petri, utilizando o software ImageJ (versão 1.51i). Cada fotografia foi tirada juntamente a uma régua de 30 cm, pois o programa utiliza a contagem de pixels presente em 1 cm para informar a dimensão das partes avaliadas. A Figura 6 ilustra as partes da plântula de milho utilizadas para a avaliação da bioatividade dos materiais.

**Figura 6.** Coleóptilo, raízes laterais e radícula das sementes de milho.



Fonte: Autoria Própria

#### 4.3.8 Análise de dados

A diferença estatística no alongamento das sementes de milho com aplicação dos extratos húmicos em relação ao controle foi verificada por teste ANOVA. Primeiro foi

verificado se os dados eram paramétricos ou não paramétricos. Os dados apresentaram distribuição normal, então ANOVA one-way e teste Tukey foram utilizados para validação. Os testes que obtiveram  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente diferentes.

Foi realizada uma análise exploratória entre os dados de extratos húmicos utilizando a Análise de Componentes Principais (PCA). Onde a matriz de dados (X) foi auto escalonada e os scores e os loads foram calculados usando o software Octave. Variáveis significativas foram escolhidas tomando valores (em módulo).

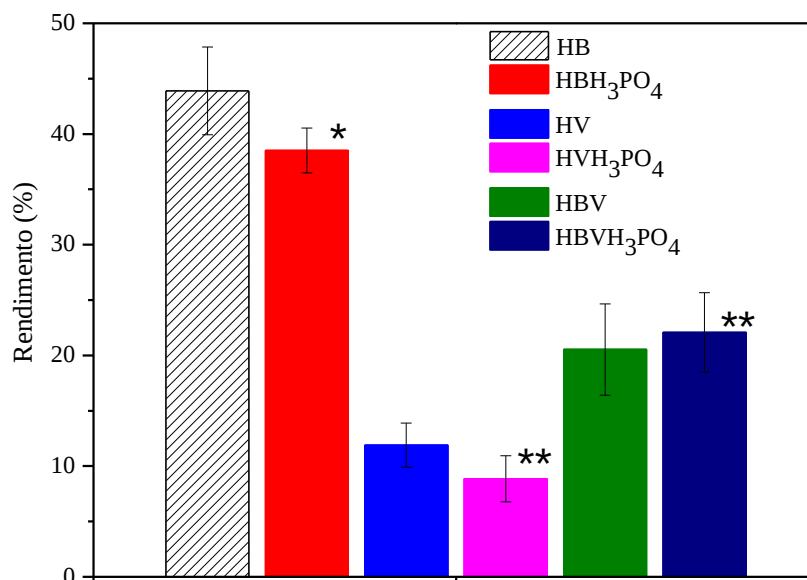
## 5 Resultados e discussão

### 5.1 Produção de carvão hidrotérmico e caracterização

#### 5.1.1 Rendimento

A Figura 7 ilustra a massa de CH obtidos pelo processo de CHT. O número de carbonizações realizadas que geraram o desvio padrão do gráfico constam na Tabela 1A do apêndice. Pode ser observado que a adição de ácido fosfórico diminuiu o rendimento do carvão  $\text{HBH}_3\text{PO}_4$  ( $p < 0,05$ ) enquanto que a adição de ácido no carvão da vinhaça não afetou o rendimento ( $p > 0,05$ ). Na mistura de bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça embora o rendimento aparente ser maior com adição de ácido fosfórico ( $\text{HBVH}_3\text{PO}_4$ ) não houve significância estatística. Os CH obtidos a partir da carbonização de bagaço foram os que apresentaram maior rendimento em relação ao de vinhaça e o carvão da mistura das biomassas. Em trabalhos anteriores foi verificado que a degradação das estruturas polissacarídicas e formação de CH com unidades mais aromáticas (maior grau de carbonização), o rendimento em massa do CH tendeu a diminuir. Lu; Flora; Berge (2014) mostraram que a adição de ácido clorídrico (HCl) e ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) no meio reacional diminuíram o rendimento devido maior dissolução da celulose em meio ácido. Zhou et al. (2017) também verificaram a diminuição do rendimento com o aumento das porcentagens de ácido fosfórico no meio reacional, na CHT de casca de banana a 230 °C. Melo et al. (2017) verificaram que com a adição de ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) na mistura de bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça, com a adição de 1 a 4 % de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (v/v) a diminuição do rendimento de 46 a 44 % em massa. Embora, tenha verificado a precipitação de inorgânicos na forma de fosfatos.

**Figura 7.** Rendimento em massa de carvão hidrotérmicos obtidos da carbonização hidrotérmica de bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça com e sem adição de ácido fosfórico nas seis condições empregadas. Dados validados com ANOVA a nível de significância 0,05. (\*) apresentou nível de significância (\*\*) não apresentou diferença estatística.



Fonte: Autoria Própria

### 5.1.2 Matéria Orgânica, pH e cinzas dos carvões hidrotérmicos

A Tabela 1 mostra a porcentagem de umidade, matéria orgânica e cinzas em cada carvão hidrotérmico e seus respectivos valores de pH. A quantidade de cinzas para os carvões hidrotérmicos HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> e HVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> diminuíram o que refletiu no rendimento (Figura 7). Enquanto para o carvão hidrotérmico das misturas de biomassas teve um aumento nas cinzas, como constatado por MELO et al. (2017) causado pela precipitação de fases inorgânicas como estruvita K (MgKPO<sub>4</sub>•6H<sub>2</sub>O). O pH do carvão hidrotérmico formado reduz drasticamente com a adição de ácido. O que para sua aplicação ao solo, se faz necessário à adição de corretivos de acidez, como a calagem ou até mesmo a aplicação dos CH anteriormente ao plantio para ambientalização do material no solo, pois RILLIG et al. (2010) aplicando doses de 2, 4, 10, 20, 30 e 80% (v/v) de um carvão hidrotérmico com pH=4,1 observou o aumento do pH com o tempo e de acordo com o aumento da dose. Os autores atribuíram principalmente aos microrganismos, pois em solos autoclavados esse comportamento não foi verificado. Resultado inesperado, pois sabe-se que o ambiente da rizosfera é ácido(CANELLAS et al., 2019; GREGORY, 2006; WHITE et al., 2017)

**Tabela 1.** Umidade, Matéria Orgânica, cinzas e valores de pH dos carvões hidrotérmicos produzidos por meio de carbonização hidrotérmica de bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça com e sem o emprego de ácido fosfórico no meio reacional.

| Carvão hidrotérmico               | Umidade (%) | Matéria Orgânica (%) | Cinzas (%) | pH       |
|-----------------------------------|-------------|----------------------|------------|----------|
| HB                                | 2,36±0,00   | 86,26±0,40           | 11,37±0,40 | 3,5±0,03 |
| HBH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | 3,57±0,31   | 86,05±0,51           | 10,37±0,83 | 2,1±0,03 |
| HV                                | 2,35±0,01   | 72,84±0,19           | 24,79±0,18 | 5,9±0,03 |
| HVH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | 2,86±0,18   | 83,24±0,75           | 13,88±0,56 | 2,7±0,00 |
| HBV                               | 2,61±0,04   | 79,30±0,98           | 18,07±0,93 | 5,1±0,00 |
| HBVH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> | 3,22±0,18   | 75,74±0,76           | 21,03±0,95 | 2,8±0,01 |

Fonte: Autoria Própria

### 5.1.3 Composição elementar e razões atômicas dos carvões hidrotérmicos

A Tabela 2 demonstra as concentrações totais dos elementos presentes nos CH. O ácido fosfórico foi utilizado nesse trabalho com o intuito de imobilizar nutrientes além do uso como um reagente catalisador no processo de CHT. Como pode ser observado na CHT das biomassas isoladas, a adição de ácido diminuiu o conteúdo dos metais presente no HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> e HVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, aumentando somente o conteúdo de fósforo. Sugerindo que o ácido fosfórico não atuou como o esperado na função de imobilizar nutrientes na carbonização das biomassas separadas. Mas na CHT da mistura de vinhaça e bagaço houve aumento de magnésio e fósforo em uma quantidade não observada para as biomassas isoladas, embora o conteúdo de potássio diminua drasticamente.

**Tabela 2.** Concentração total de cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P), sódio (Na), Ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), cobre (Cu) e alumínio (Al) presente nos CH com e sem adição de ácido fosfórico.

|                                  | Elementos Totais (g kg <sup>-1</sup> ) |       |        |       |      |      |      |      |       |      |
|----------------------------------|----------------------------------------|-------|--------|-------|------|------|------|------|-------|------|
|                                  | Ca                                     | Mg    | K      | P     | Na   | Fe   | Mn   | Zn   | Cu    | Al   |
| HB                               | 0,18                                   | 0,17  | 0,12   | 1,97  | 0,95 | 1,91 | 0,05 | 0,04 | 0,008 | 4,15 |
|                                  | ±                                      | ±     | ±      | ±     | ±    | ±    | ±    | ±    | ±     | ±    |
|                                  | 0,07                                   | 0,01  | 0,00   | 0,67  | 0,9  | 0,06 | 0,00 | 0,00 | 0,00  | 0,07 |
| HBH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> | 0,17                                   | 0,13  | 0,07   | 9,43  | 1,20 | 0,08 | 0,03 | 0,03 | 0,010 | 1,15 |
|                                  | ±                                      | ±     | ±      | ±     | ±    | ±    | ±    | ±    | ±     | ±    |
|                                  | 0,09                                   | 0,01  | 0,00   | 1,00  | 0,13 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00  | 0,12 |
| HV                               | 39,03                                  | 20,08 | 92,80  | 11,12 | 0,77 | 2,18 | 0,40 | 0,11 | 0,077 | 0,12 |
|                                  | ±                                      | ±     | ±      | ±     | ±    | ±    | ±    | ±    | ±     | ±    |
|                                  | 1,65                                   | 0,84  | 3,09   | 0,85  | 0,17 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00  | 0,02 |
| HVH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> | 22,73                                  | 7,88  | 81,56  | 15,15 | 0,75 | 0,63 | 0,08 | 0,03 | 0,048 | 0,02 |
|                                  | ±                                      | ±     | ±      | ±     | ±    | ±    | ±    | ±    | ±     | ±    |
|                                  | 3,92                                   | 0,29  | 2,13   | 2,13  | 0,09 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,00  | 0,09 |
| HBV                              | 22,94                                  | 5,93  | 136,37 | 7,21  | 0,75 | 1,75 | 0,19 | 0,06 | 0,045 | 0,06 |
|                                  | ±                                      | ±     | ±      | ±     | ±    | ±    | ±    | ±    | ±     | ±    |
|                                  | 0,90                                   | 0,09  | 9,64   | 0,51  | 0,03 | 0,02 | 0,00 | 0,00 | 0,00  | 0,00 |

|                                   |                    |                    |                   |                    |                   |                   |                   |                   |                    |                   |
|-----------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| HBVH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> | 20,86<br>±<br>5,26 | 25,18<br>±<br>0,57 | 2,17<br>±<br>0,04 | 30,74<br>±<br>2,10 | 1,09<br>±<br>0,06 | 1,85<br>±<br>0,00 | 0,26<br>±<br>0,00 | 0,05<br>±<br>0,00 | 0,036<br>±<br>0,00 | 2,98<br>±<br>0,23 |
|-----------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|

Fonte: Autoria Própria

A Tabela 3 mostra a composição elementar dos CH obtidos e também suas respectivas razões atômicas. Na carbonização do bagaço com a adição de ácido, foi privilegiada a incorporação de carbono e nitrogênio. Já para HVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> em relação HV houve diminuição de carbono e aumento de nitrogênio. Nos CH das misturas de biomassa, a porcentagem de carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio diminuíram.

A razão H/C indica a aromaticidade do material, mostrando que a adição de ácido tornou o HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> e HBVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> mais aromático, exceto para HVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> que teve aumento da razão em relação à HV. A razão atômica O/C é utilizada para prever a estabilidade e o tempo de vida de *biochar* no solo (SPOKAS, 2010). Valores entre 0,2 e 0,6 indicam um tempo de meia vida entre 100 e 1000 anos enquanto que razões inferiores a 0,2 indicam tempo de meia vida superior a 1000 anos. As razões dos CH produzidos se enquadram nos valores de meia vida intermediária, exceto o carvão hidrotérmico HV que pode possuir tempo de meia vida maior no solo, por estes parâmetros de classificação.

**Tabela 3.** Composição elementar e razões atômicas dos carvões hidrotérmicos obtidos a partir de bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça com e sem adição de ácido fosfórico.

|                                   | C (%)        | H (%)       | N (%)     | O (%)      | H/C  | C/N    | O/C  | H/O   |
|-----------------------------------|--------------|-------------|-----------|------------|------|--------|------|-------|
| HB                                | 52,88 ± 0,04 | 5,29 ± 0,02 | 0,22±0,00 | 30,23±0,02 | 1,19 | 240,39 | 0,43 | 2,78  |
| HBH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | 64,26 ± 1,37 | 4,95 ± 0,08 | 0,27±0,00 | 20,14±1,45 | 0,92 | 233,69 | 0,24 | 3,90  |
| HV                                | 59,75 ± 0,22 | 5,51 ± 0,06 | 2,48±0,01 | 7,46±0,31  | 1,10 | 24,04  | 0,09 | 11,73 |
| HVH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | 52,43 ± 1,10 | 5,54 ± 0,16 | 3,32±0,08 | 24,82±1,35 | 1,26 | 15,79  | 0,36 | 3,55  |
| HBV                               | 56,90 ± 0,86 | 5,80 ± 0,86 | 2,93±0,05 | 16,29±0,98 | 1,22 | 19,42  | 0,21 | 5,65  |
| HBVH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> | 55,63 ± 0,32 | 5,08 ± 0,32 | 2,17±0,01 | 16,09±0,29 | 1,09 | 25,64  | 0,22 | 5,01  |

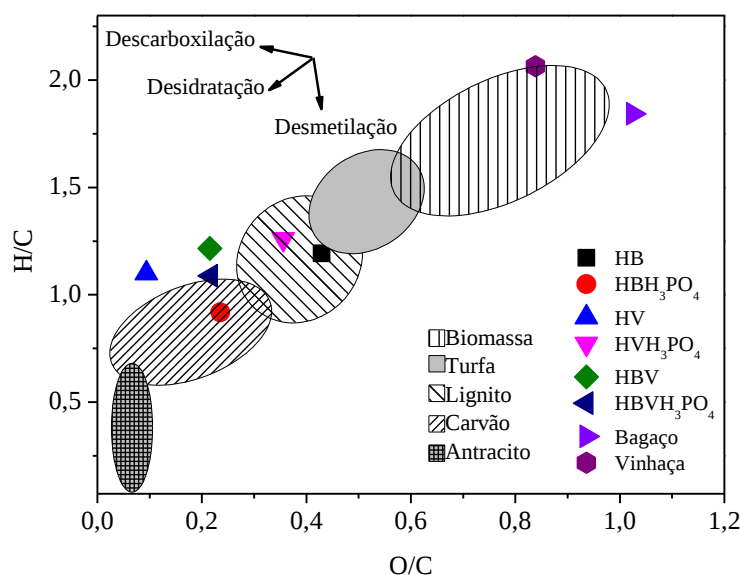
Fonte: Autoria Própria

O diagrama de Van Krevelen ilustrado na Figura 8 mostra o deslocamento das razões atômicas dos CH em relação à biomassa de partida e por meio do deslocamento das razões foi possível observar as reações que ocorreram no processo de CHT. O

decréscimo das razões atômicas H/C e O/C estão relacionados a reações de desidratação, o decréscimo da razão atômica H/C é devido a reações de desmetilação e o decréscimo da razão atômica O/C com reações de descarboxilação (KEILUWEIT et al., 2010; VAN KREVELEN, 1984). Para comparação com os CH foram adicionados ao gráfico regiões que são características de biomassa, turfa, lignito, carvão e antracito (VAN KREVELEN, 1984)

Os CH produzidos seguem as direções vetoriais que correspondem às reações de descarboxilação, desidratação e desmetilação. Pode-se observar que com a adição de ácido fosfórico o  $\text{HBH}_3\text{PO}_4$  teve deslocamento das razões atômicas H/C e O/C, sendo o CH que apresentou maior grau de carbonização estando localizado na região de carvão no gráfico. O  $\text{HVVH}_3\text{PO}_4$  em relação HV sofreu principalmente oxidação (aumento da razão atômica O/C) e deslocamento para a região de lignito. Já o  $\text{HBVH}_3\text{PO}_4$  em relação HBV teve deslocamento vetorial somente para a direção de desmetilação. As biomassas carbonizadas separadamente ou em mistura apresentaram deslocamentos diferentes no gráfico mostrando que as características do CH dependem da biomassa de partida.

**Figura 8.** Diagrama de Van Krevelen para as biomassas de partida e dos carvões hidrotérmicos obtidos da carbonização hidrotérmica de bagaço, vinhaça e mistura bagaço e vinhaça com e sem adição de ácido fosfórico.

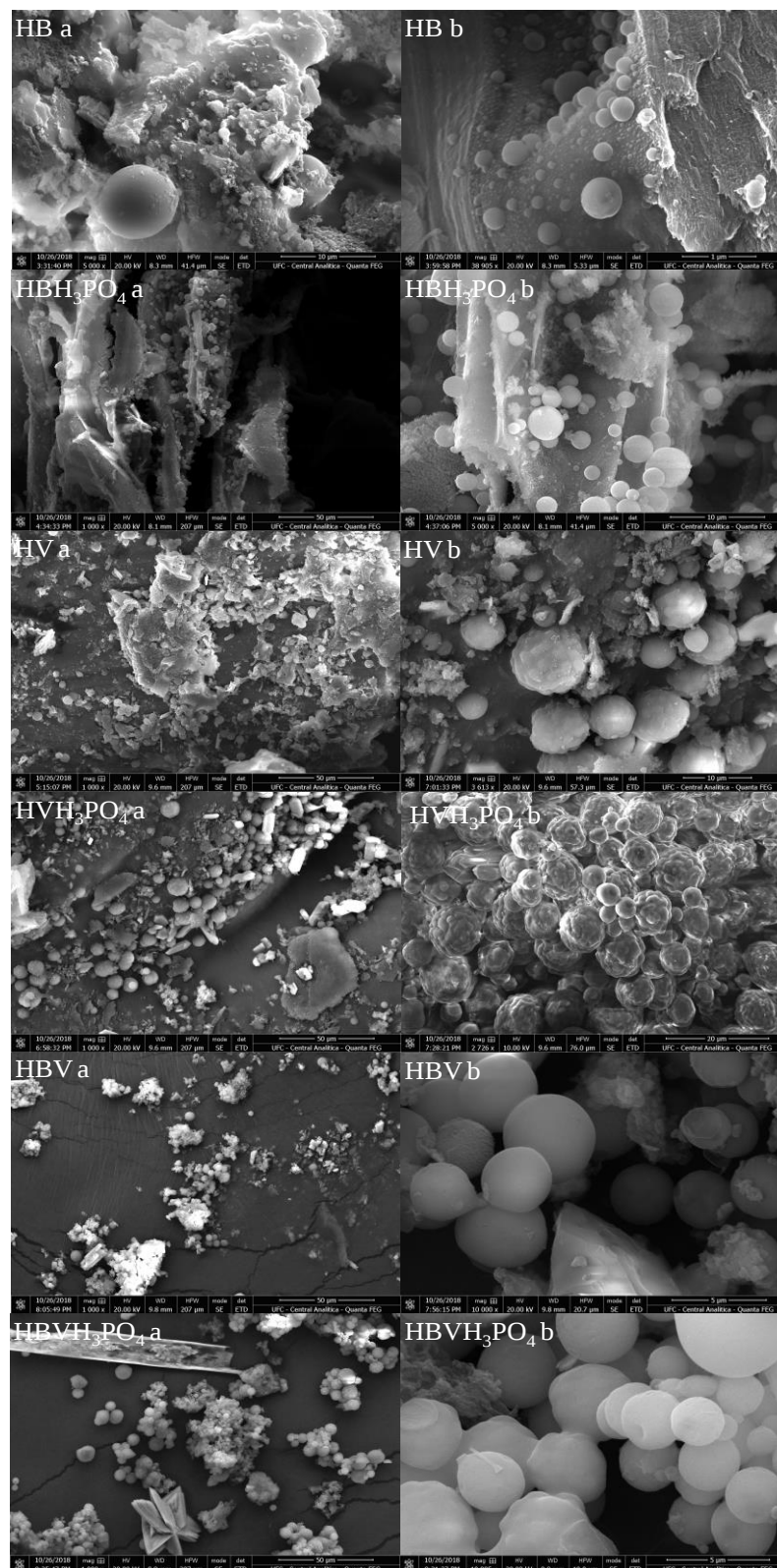


Fonte: Autoria Própria

#### **5.1.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) dos carvões hidrotérmicos**

A Figura 9 mostra as imagens de MEV do CH obtidos com e sem adição de ácido no meio reacional. Para cada carvão está ilustrada uma imagem de menor magnitude (a) e maior magnitude (b). Em geral, as imagens dos CH sem adição de ácido apresentaram maior irregularidade morfológica do que com a adição. O número de esferas obtidos nos CH com a adição de ácido fosfórico foram maiores, devido a maior degradação da hemicelulose e celulose, pois os produtos hidrolisados da biomassa, que estão solúveis no meio reacional também sofrem reações de desidratação e se policondensam em cadeias hidrofóbicas, que se agregam formando as esferas do CH (XU et al., 2018). A adição de ácidos causa o rompimento das ligações de hidrogênio da biomassa, acelerando a hidrólise dos produtos hidrolisados da celulose, agindo como um catalisador na formação das esferas (XU et al., 2018).

**Figura 9.** Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos carvões hidrotérmicos obtidos de bagaço, vinhaça e mistura de bagaço e vinhaça com e sem adição de ácido fosfórico. Imagens do carvão em (b) possuem uma maior magnitude do que em (a).

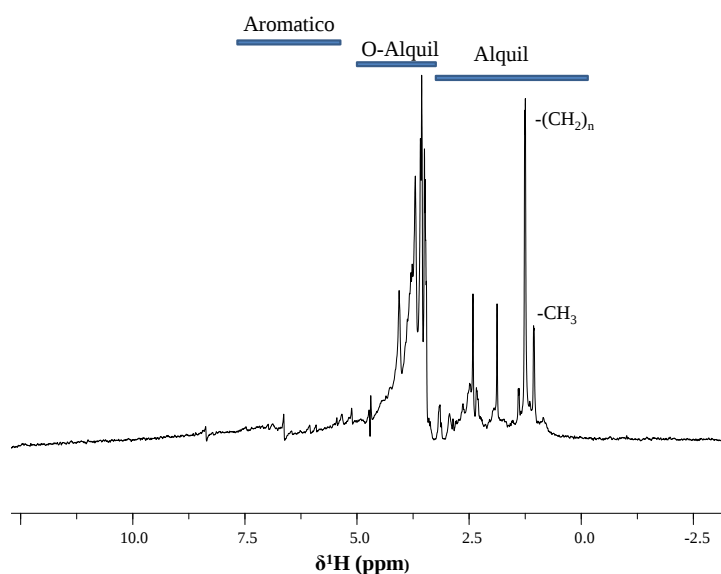


Fonte: Autoria Própria

### 5.1.5 Análises da biomassa de partida e dos carvões hidrotérmicos por RMN

A Figura 10 mostra os espectros de  $^1\text{H}$  RMN da vinhaça, uma das biomassas da CHT. O espectro foi caracterizado por duas regiões principais de ressonância: grupos alquílias (0-2,5 ppm) e O-alquil (3-4,5 ppm). A região típica de deslocamento químico de H em funções aromáticas (6,8-8,0 ppm) não foi observada. Na região de deslocamento de H alquílica, entre de 0,5-1,5 ppm, os picos observados são atribuídos ao deslocamento químico de H em sistemas R-CH<sub>3</sub> (metil) e à ressonância de prótons de grupos metila de cadeias lipídicas e na faixa de 1,0-2,5 ppm ao metileno das cadeias alquílicas (MONDA et al., 2017; SUN et al., 2017). A sobreposição de sinais de ressonância na região de deslocamento químico atribuídos a presença de grupos O-alquila pode ser considerada devido a presença de diferentes carboidratos, sendo que a vinhaça é produto residual da fermentação e pode conter açúcares. Também nesta região pode haver alguma contribuição do N-Alquila de aminas (SUN et al., 2017), que podem estar correlacionados com produtos de origem microbiana da fermentação, bem como de aminoácidos.

**Figura 10.** Espectro de  $^1\text{H}$  RMN no estado líquido da amostra de vinhaça.

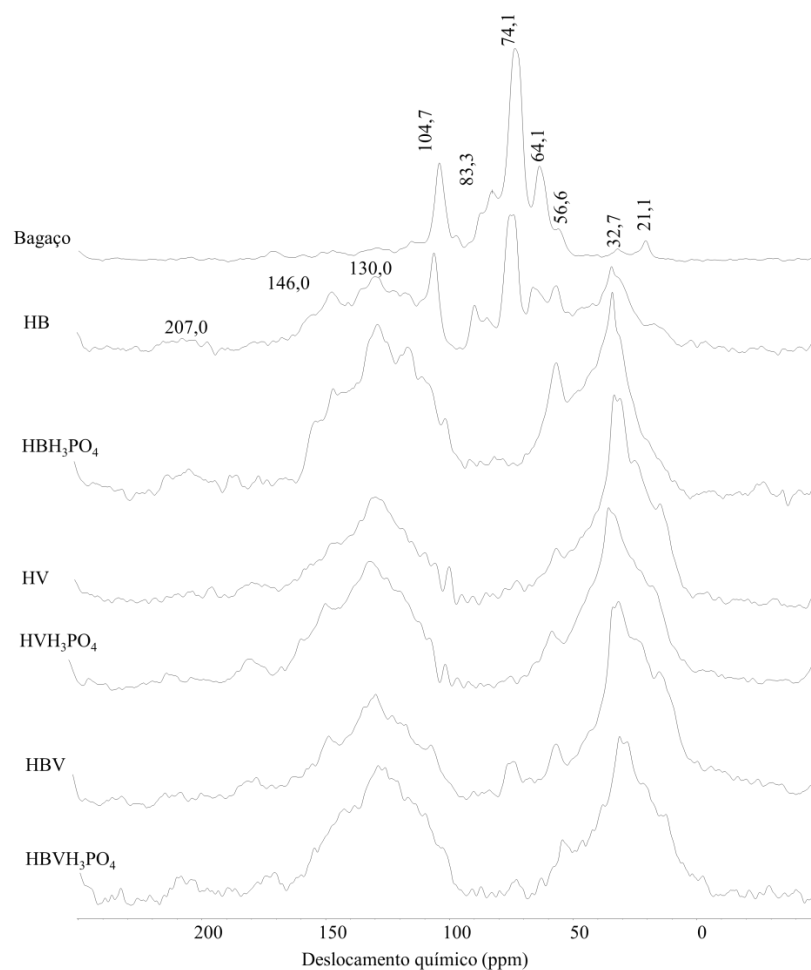


Fonte: Autoria Própria

A Figura 11 mostra os espectros de RMN de carbono do bagaço de cana-de-açúcar e dos CH produzidos. O espectro de bagaço de cana-de-açúcar contém o pico principal na região dos grupos O-alquila (60-110 ppm) devido a polissacarídeos (MONDA et al., 2017), sendo 93,0% da área total do espectro. O pico em torno de 74

ppm é atribuído à sobreposição dos carbonos C2, C3 e C5 da estrutura piranosídica da celulose e da hemicelulose, enquanto o sinal em torno de 104 ppm é atribuído ao carbono C1 da celulose (SPACCINI; PICCOLO, 2009b). O pico entre 0-45 ppm é correlacionado aos grupos metileno e metila das cadeias lipídicas, tais como ácidos graxos, ceras de tecidos vegetais e bio-poliésteres e os picos entre 45-60 ppm estão relacionados às unidades metóxi de guaiacil e siringil da lignina. Com a CHT os grupos O-alquil diminuíram, devido à degradação das estruturas dos polissacarídeos. O aumento de compostos alquílicos é resultado provavelmente da nova síntese de hidrocarbonetos, pois os produtos da degradação da matéria-prima estão envolvidos na reação de polimerização e condensação, resultando em novos compostos com estruturas de maior complexidade e com maior aromaticidade (CHEN et al., 2017).

**Figura 11.** Espectro de CP-MAS  $^{13}\text{C}$  RMN do bagaço (matéria prima) e dos carvões hidrotérmicos produzido com bagaço, vinhaça com e sem adição de ácido fosfórico.



Fonte: Autoria Própria

A Tabela 4 mostra a distribuição dos núcleos de carbono e os índices de hidrofobicidade (IH), aromaticidade (IA) e razão alquil/O-alquil. Os índices permitem inferir sobre a estabilidade do CH no solo. O HB é o CH menos carbonizado, pois apresenta menor aromaticidade e maior intensidade de grupos O-alquila. Além disso, o baixo valor para a relação Alquila/O-Alquil mostra a preservação de estruturas polissacarídicas. Em geral, a adição de ácido fosfórico no meio reacional aumenta o conteúdo aromático (índice IA), pois favorece a degradação das estruturas polissacarídicas, como pode ser observado entre o HB e o HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Ainda vale destacar a importância da mudança dos CH obtidos a partir da vinhaça, o HV e o HVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> mostraram que a CHT da vinhaça deixa o material com frações aromáticas antes composta apenas por unidades simples, como os carboidratos. O aumento de C-Arila (140-111 ppm) e C-Alquil (45-0 ppm) tem um significado importante para o estoque de carbono no solo. Por aumentar as estruturas hidrofóbicas, consideradas como recalcitrantes no solo pela proteção química exercida contra as enzimas solúveis microbianas (DUNGAIT et al., 2012; PICCOLO et al., 2018). O índice de hidrofobicidade (IH) leva em consideração as frações aromáticas e também as cadeias alifáticas frente às frações hidrofílicas, na qual um índice maior pode sugerir maior estabilidade da MO no solo (MONDA et al., 2018). A adição de ácido causou o aumento da hidrofobicidade do material, sugerindo por esses termos de avaliação maior permanência no solo.

**Tabela 4.** Integração das regiões de deslocamento químico (em ppm) dos espectros CP-MAS <sup>13</sup>C RMN do bagaço de cana de açúcar (B) e dos carvões hidrotérmicos.

|                                   | Deslocamento químico (ppm) |                         |                        |                        |                        |                                |                    | Índices estruturais |      |                    |
|-----------------------------------|----------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------------|--------------------|---------------------|------|--------------------|
|                                   | Carbonila<br>(δ 220-190)   | Ac.carb.<br>(δ 190-161) | O-Arila<br>(δ 160-141) | C-Arila<br>(δ 140-111) | O-Alquil<br>(δ 110-61) | O-CH <sub>3</sub><br>(δ 60-46) | Alquil<br>(δ 45-0) | IH                  | IA   | Aquil/O<br>-Alquil |
| B                                 | -                          | -                       | -                      | 3,35                   | 93,03                  | 3,62                           | -                  | 0,03                | 0,04 | -                  |
| HB                                | 1,59                       | 2,13                    | 11,04                  | 23,14                  | 31,35                  | 9,19                           | 21,57              | 1,26                | 0,69 | 0,65               |
| HBH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | -                          | -                       | 10,50                  | 38,00                  | 11,00                  | 13,50                          | 27,00              | 2,39                | 2,45 | 1,28               |
| HV                                | -                          | 2,97                    | 9,41                   | 25,25                  | 5,45                   | 7,43                           | 49,50              | 2,36                | 9,09 | 0,63               |
| HVH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | 0,86                       | 3,95                    | 11,84                  | 28,95                  | 4,82                   | 6,58                           | 43,86              | 5,22                | 9,09 | 0,84               |
| HBV                               | 0,96                       | 4,37                    | 8,25                   | 22,33                  | 10,19                  | 5,83                           | 49,03              | 3,73                | 4,81 | 0,52               |
| HBVH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> | 1,14                       | 2,68                    | 12,64                  | 32,18                  | 6,51                   | 6,90                           | 39,08              | 4,87                | 6,00 | 0,98               |

Fonte: Autoria Propria

### 5.1.6 Análises termogravimétricas dos carvões hidrotérmicos

A curva termogravimétrica (TG) e a primeira derivada (DTG) mostram a perda de massa em função da temperatura e os eventos/picos de perda de massa, respectivamente. A Figura 12 mostra o TG e DTG das biomassas de partida e dos CH com adição e sem adição de ácido. Quatro principais picos/eventos foram identificados através do DTG, sendo eles na faixa de: 30-100 °C, 250-350 °C, 380-475 °C e 475-600 °C.

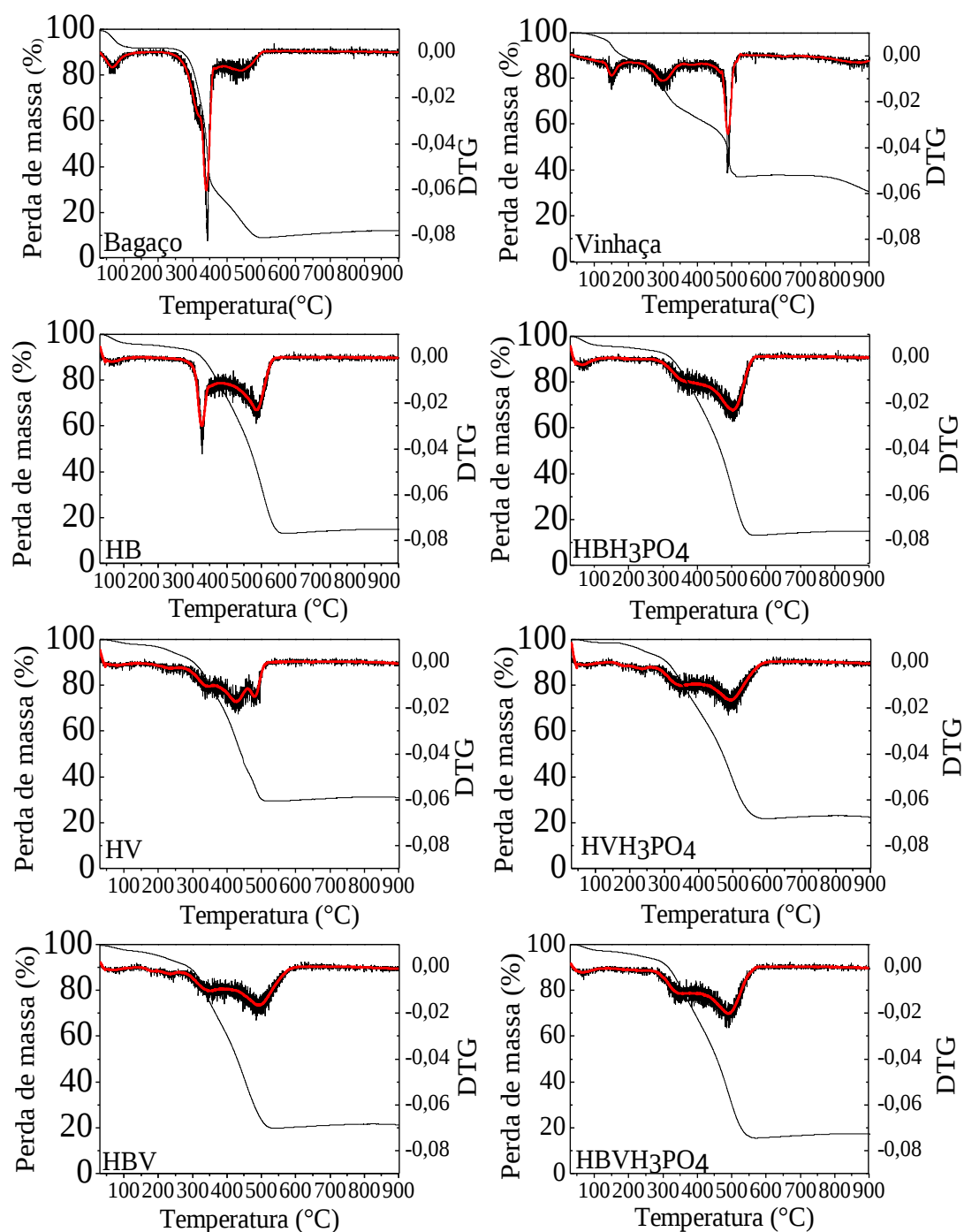
O primeiro pico está correlacionado com a perda de água (30-100 °C), o segundo pico (250-350 °C) com a degradação de compostos lábeis (estruturas alifáticas e carboidratos), o terceiro pico está correlacionado com a degradação de estruturas aromáticas como as de lignina e o último pico correlacionado à degradação de estruturas lipídicas e também a estruturas aromáticas policondensadas (LENG et al., 2019; MONDA et al., 2017).

O bagaço de cana-de-açúcar apresentou um pico intenso centrado em 350 °C e um de baixa intensidade em torno de 450 °C, corroborando com os dados de RMN mostrando que é composto principalmente por estruturas O-alquil e o segundo pico sugere presença de uma pequena fração mais complexa. Já a vinhaça apresenta um pico menos intenso em 300 °C e um pico de alta intensidade centrado em 490 °C relacionado principalmente, neste caso, a cadeias lipídicas.

O HB mostra um pico mais intenso em 326 °C e outro menos intenso a 484 °C, enquanto que o HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> mostra um pico em 501 °C e um ombro em 350 °C, mostrando que a adição de ácido no meio reacional possivelmente aumentou o número de estruturas aromáticas e diminuiu a presença de O-alquil da biomassa, devido a maior degradação. O HV mostrou picos de perda de massa em 333 °C, 423 °C (mais intenso) e 480 °C enquanto que o HVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> apresentou picos em 344 °C e 496 °C (mais intenso), sugerindo novamente que a adição de ácido fosfórico causou mudanças estruturais no CH, passando a ter domínios mais aromáticos. Os CH com a mistura das biomassas apresentaram curvas de decomposição bem similares, sendo que o HVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> apresentou um ligeiro incremento no pico de 496 °C.

Outro aspecto a ser observado é que as curvas (DTG) para as biomassas são bem mais estreitas e definidas enquanto que para os materiais carbonizados as curvas são mais largas. As curvas estreitas sugerem a degradação de estruturas moleculares iguais/semelhantes, na qual a degradação ocorre simultaneamente, enquanto que a curva larga sugere maior heterogeneidade/complexidade estrutural.

**Figura 12.** Termogramas (—TG) e curva da primeira derivada (—DTG) de bagaço e vinhaça (biomassa) e dos carvões hidrotérmicos obtidos pelo processo de carbonização com e sem adição de ácido fosfórico no meio reacional.



Fonte: Autoria Própria

## 5.2 Caracterização de substâncias do tipo húmicas (STH) extraídas dos carvões hidrotérmicos

### 5.2.1 Análise elementar, razões atômicas e UV-Vis das STH

Os resultados das análises elementares das substâncias do tipo húmicas (STH) extraídas do CH, razões atômicas e razão  $E_4/E_6$  constam na Tabela 5. As STH apresentaram composição similar (porcentagem de C e H), com alta presença de carbono (63,0 a 67%). A razão atômica H/C não difere entre as STH com e sem adição de ácido. Enquanto que a razão atômica C/N mostra menor presença de compostos nitrogenados nas STH extraídas de CH com adição de ácido fosfórico. A razão atômica O/C também é similar para as STH com e sem adição de ácido. A razão atômica H/O é utilizada para obter informações sobre a polaridade como também o grau de oxidação das STH, uma razão menor sugere presença de estruturas mais oxidadas, ou seja, mais polar do que hidrofóbica. Logo, as STH apresentam-se mais hidrofóbica do que as SH de solos (Tabela 9). A razão  $E_4/E_6$  diminuiu para as STH com a adição de ácido, sugerindo domínios aromáticos com maior grau de policondensation.

**Tabela 5.** Composição elementar, razões atômicas, razão  $E_4/E_6$  das substâncias do tipo húmica extraídas dos carvões hidrotérmicos obtidos a partir de bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça com e sem adição de ácido fosfórico.

|                                       | C (%)        | H (%)       | N (%)       | O (%)        | H/C  | C/N    | O/C  | H/O  | $E_4/E_6$ |
|---------------------------------------|--------------|-------------|-------------|--------------|------|--------|------|------|-----------|
| STH_HB                                | 63,13 ± 0,42 | 5,97 ± 0,02 | 0,58 ± 0,02 | 30,32 ± 0,45 | 1,13 | 126,57 | 0,36 | 3,16 | 4,58      |
| STH_HBH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | 63,82 ± 0,03 | 5,85 ± 0,41 | 0,25 ± 0,01 | 30,08 ± 0,37 | 1,09 | 295,74 | 0,35 | 3,11 | 4,30      |
| STH_HV                                | 63,10 ± 0,10 | 6,90 ± 0,21 | 4,44 ± 0,00 | 25,56 ± 0,11 | 1,30 | 16,65  | 0,30 | 4,30 | 4,68      |
| STH_HVH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | 67,48 ± 0,17 | 7,22 ± 0,02 | 2,85 ± 0,03 | 22,45 ± 0,22 | 1,27 | 27,76  | 0,25 | 5,14 | 4,05      |
| STH_HBV                               | 66,52 ± 0,10 | 7,26 ± 0,04 | 4,03 ± 0,01 | 22,19 ± 0,13 | 1,30 | 19,34  | 0,25 | 5,22 | 5,81      |
| STH_HBVH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> | 64,93 ± 0,10 | 6,76 ± 0,12 | 2,54 ± 0,01 | 25,77 ± 0,03 | 1,24 | 29,97  | 0,30 | 4,16 | 5,38      |

Fonte: Autoria Própria

### 5.2.2 <sup>13</sup>C RMN das STH

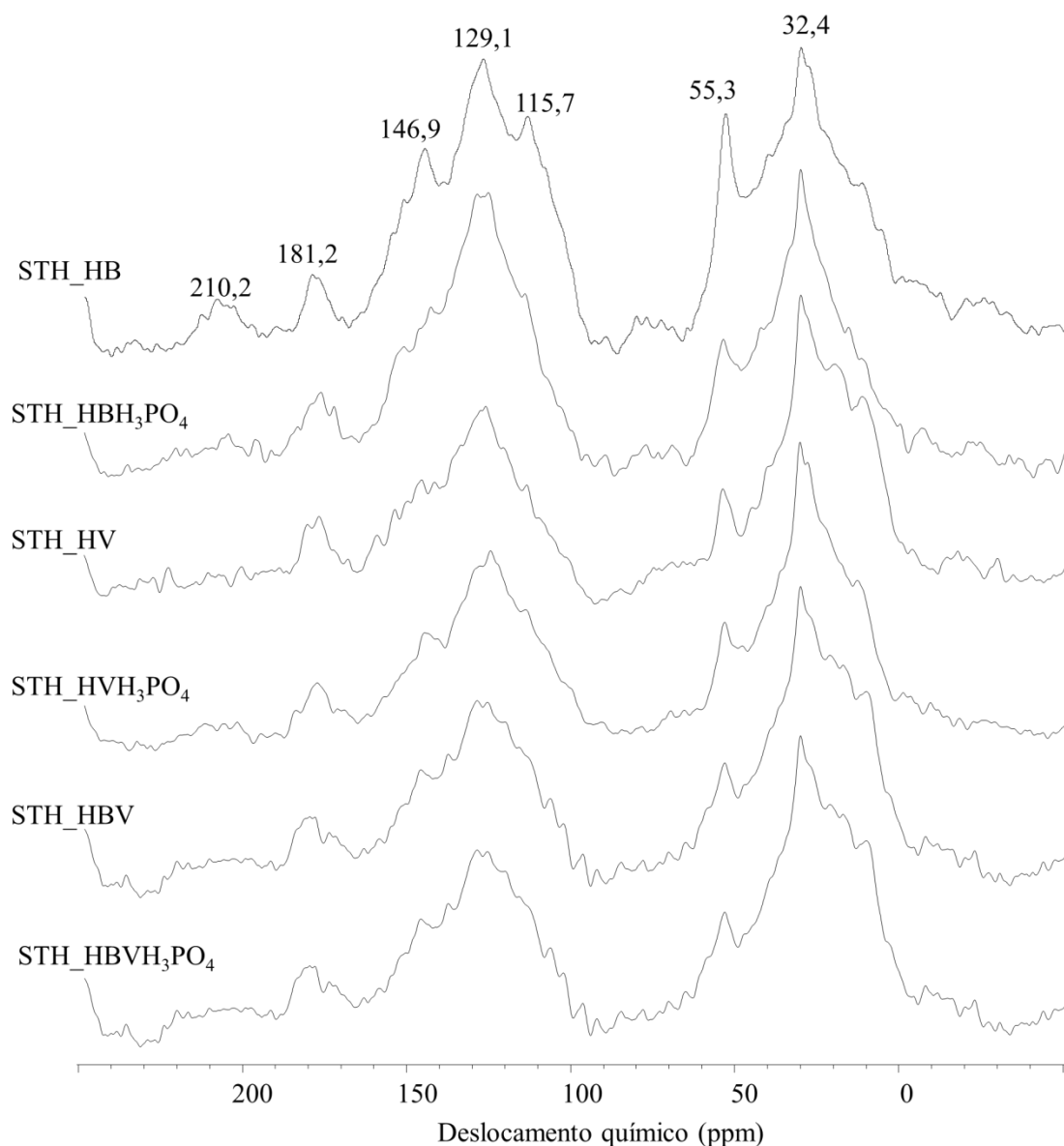
Os espectros de RMN das STH são apresentados na Figura 13. Assim como no CH, as STH extraídas dos CH com adição de ácido apresentam maior aromaticidade do que as STH extraídas dos CH sem adição de ácido. Além disso, como pode ser observado na Tabela 6 as STH apresentaram maior área relacionada à carbonilas e

ácidos carboxílicos do que o carvão hidrotérmico (Tabela 4). Isso pode ter ocorrido devido ao meio de extração que privilegiou o isolamento de moléculas polares.

As STH extraídas do carvão hidrotérmico apresentaram estruturas aromáticas e grupos oxigenados como os solos TPI apresentam. Nestes solos, a presença de grupos oxigenados é causada pela oxidação do carbono pirogênico e é a principal causa do aumento de CTC nos solos (NOVOTNY et al., 2009). As porções alifáticas do CH são maiores quando comparados ao *biochar* da pirólise e também aos ácidos húmicos dos solos TPI. Outra diferença é a presença de funções oxigenadas ligadas a estruturas aromáticas (O-Aril), na qual as STH dos CH aparentam ter baixa quantidade em relação às SH da TPI. Exceto as STH\_HB e STH\_HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> que apresentam sinal e área relativa maiores, que podem estar associados a compostos fenólicos.

Um aspecto interessante é que Sun et al. (2017) produziu dois *biochars*, um de milho e um de trigo, ambos a 450 °C. O *biochar* de milho apresentou frações alifáticas enquanto o de trigo não. Nos testes de germinação realizados o *biochar* com porções alifáticas causou crescimento enquanto o *biochar* somente com frações aromáticas causou inibição do crescimento de milho.

**Figura 13.** Espectros CP-MAS  $^{13}\text{C}$  RMN das substâncias tipo húmicas (STH) extraídas dos carvões hidrotérmicos produzidos com bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça com e sem adição de ácido fosfórico.



Fonte: Autoria Própria

A integração das regiões espectrais permitiu diferenciar a distribuição do carbono, bem como os índices, tais como (HI), (AI) e alquil/O-alquil (Tabela 6). Os índices são úteis para prever a estabilidade de diferentes materiais orgânicos (MONDA et al., 2017, 2018; SPACCINI et al., 2019). Os maiores valores de IH mostram mais frações hidrofóbicas, que são bioquimicamente mais estáveis no solo. Por esses conceitos a STH mais estável é a STH\_HVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> por possuir o maior índice de hidrofobicidade (3,12) e alta razão Alquil/O-Alquil (9,19) mostrando menor presença de estruturas polissacarídicas.

O índice de aromaticidade e da razão Alquil/O-Alquil indicou uma incorporação preferencial de frações aromáticas nas STH de CH do bagaço, enquanto a vinhaça forneceu principalmente uma inclusão de hidrocarbonetos na estrutura das STH (Tabela 6). Além disso, a mudança de compostos O-alkil para moléculas apolares alifáticas foi estimulada pela adição de ácido fosfórico nas STH da mistura de biomassa (aumento da proporção alquílica 0–45 ppm).

**Tabela 6.** Áreas relativas integradas (%) ao longo do desvio químico dos picos principais (ppm) dos espectros de CP-MAS  $^{13}\text{C}$  RMN das substâncias tipo húmica (STH) extraídas dos carvão hidrotérmicos.

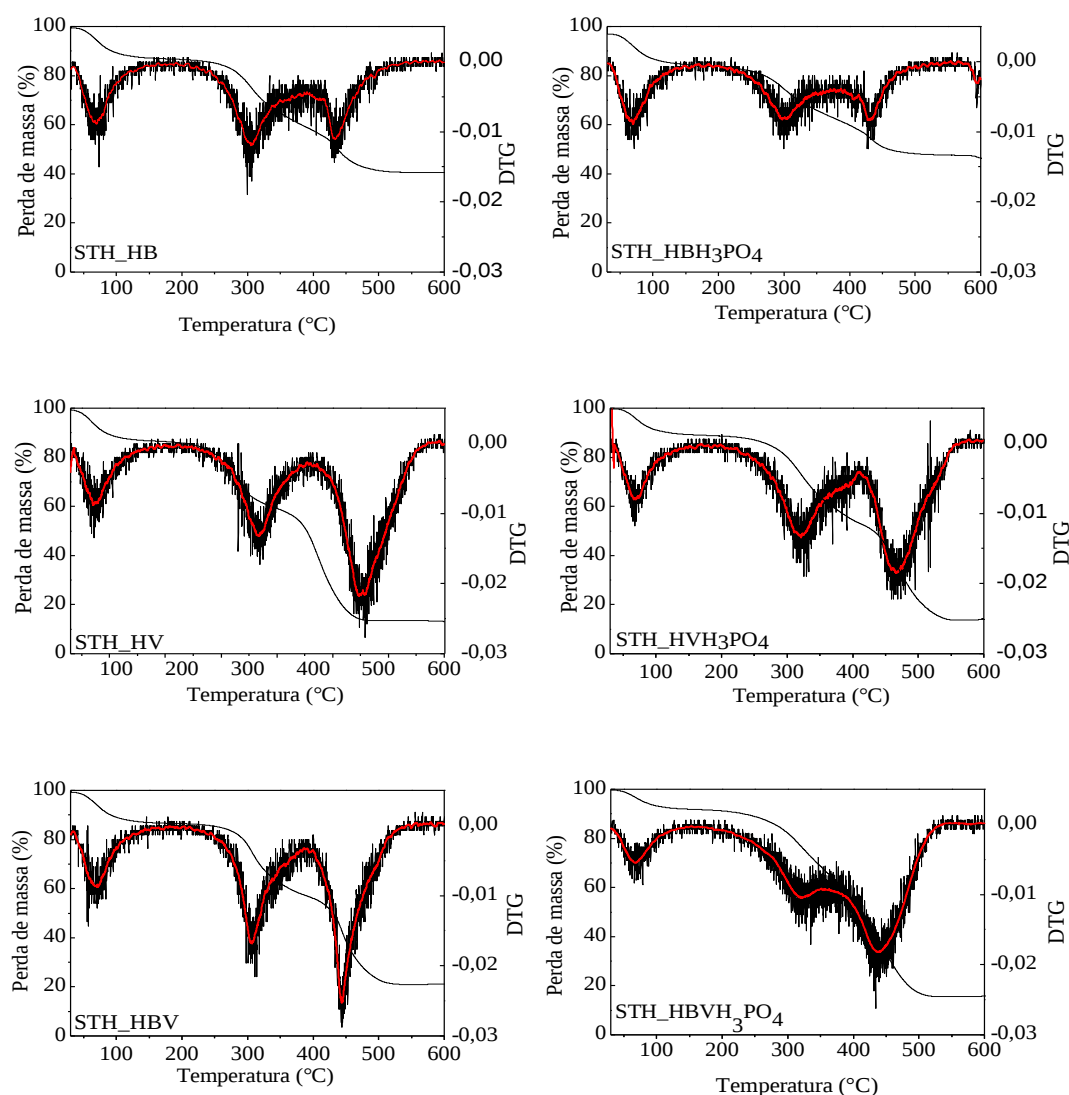
| STH                                   | Deslocamento químico (ppm)       |                                        |                                |                                |                                |                                        |                            | Índices estruturais |      |                 |
|---------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------|----------------------------|---------------------|------|-----------------|
|                                       | Carbônica<br>( $\delta$ 220-190) | Ac. Carboxílico<br>( $\delta$ 190-161) | O-Arila<br>( $\delta$ 160-141) | C-Arila<br>( $\delta$ 140-111) | O-Alquil<br>( $\delta$ 110-61) | O-CH <sub>3</sub><br>( $\delta$ 60-46) | Alquil<br>( $\delta$ 45-0) | IH                  | IA   | Alquil/O-Alquil |
| STH_HB                                | 3,45                             | 5,35                                   | 12,26                          | 27,67                          | 8,18                           | 10,06                                  | 33,02                      | 1,86                | 0,97 | 4,04            |
| STH_HBH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | 3,09                             | 7,10                                   | 12,65                          | 29,94                          | 6,48                           | 8,02                                   | 32,72                      | 2,02                | 1,09 | 5,05            |
| STH_HV                                | 3,70                             | 7,82                                   | 10,29                          | 22,22                          | 6,58                           | 6,58                                   | 42,80                      | 2,29                | 0,66 | 6,50            |
| STH_HVH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | 1,93                             | 5,83                                   | 10,79                          | 26,55                          | 4,61                           | 9,04                                   | 42,36                      | 3,12                | 0,80 | 9,19            |
| STH_HBV                               | 6,25                             | 6,42                                   | 9,34                           | 22,96                          | 7,00                           | 7,98                                   | 43,58                      | 2,61                | 0,64 | 6,22            |
| STH_HBVH <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> | 2,35                             | 7,51                                   | 9,86                           | 23,00                          | 5,63                           | 7,04                                   | 46,95                      | 2,76                | 0,63 | 8,33            |

Fonte: Autoria Própria

### 5.2.3 Análise termogravimétrica das STH

Na Figura 14 estão demonstradas as curvas de decomposição térmica e a primeira derivada da perda de massa (DTG). Através da DTG podem ser observados os eventos de perda de massa, sendo identificados dois eventos principais: um centrado em 300 °C e outro na faixa de 430–480 °C. O primeiro pico é correlacionado a estruturas mais simples como polissacarídeos, derivados de lignina, alcanos/alcenos e ácidos graxos (DE LA ROSA et al., 2008). As STH com maior área relativa relacionada a O-alkil (Tabela 6) apresentaram maior intensidade relativa no primeiro pico do termograma. O segundo pico é relacionado a presença de estruturas mais complexas, como estruturas aromáticas policondensadas que possuem maior estabilidade térmica.

**Figura 14.** Termogramas (—TG) e curva da primeira derivada (—DTG) das STH extraídas dos carvões hidrotérmicos obtidos pelo processo de carbonização com e sem adição de ácido fosfórico no meio reacional.



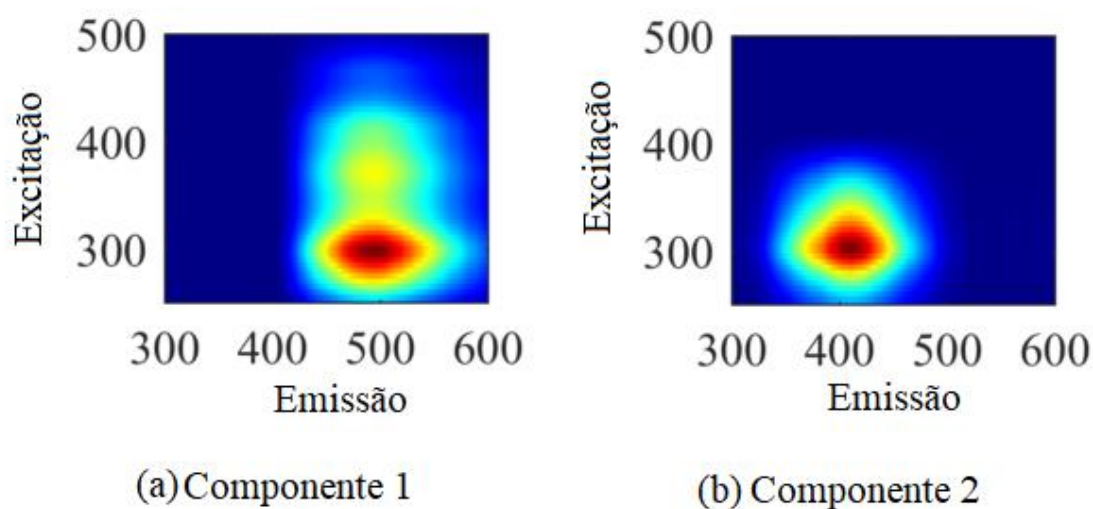
Fonte: Autoria Própria

#### 5.2.4 Fluorescência molecular das STH

A Figura 3A, apresentada no apêndice, mostra os espectros no modo matriz emissão-excitação para as STH extraídas do CH com e sem adição de ácido. A partir das matrizes emissão-excitação foi possível realizar o tratamento matemático conhecido como *Canonical Polyadic/Parallel Factor Analysis* (CP/PARAFAC) na qual foram obtidas duas componentes fluorescentes nas amostras de STH (Figura 15), com um **core consistency diagnostic** (CORCONDIA) de 90,3%. A componente 1 possui  $\lambda_{\text{excitação}}/\lambda_{\text{emissão}}$  em 300/490 e é caracterizada como um fluoróforo do tipo húmico. A componente 2 possui  $\lambda_{\text{excitação}}/\lambda_{\text{emissão}}$  em 300/410 e é uma componente de

estrutura mais simples, por estar deslocado para comprimento de onda menor (*blue shift*/deslocamento para o azul).

**Figura 15.** Componente 1 (a) e componente 2 (b) identificados por meio de CP/PARAFAC nas matrizes de emissão-excitação de fluorescência das STH extraídas dos CH obtidos de bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça com e sem adição de ácido fosfórico.



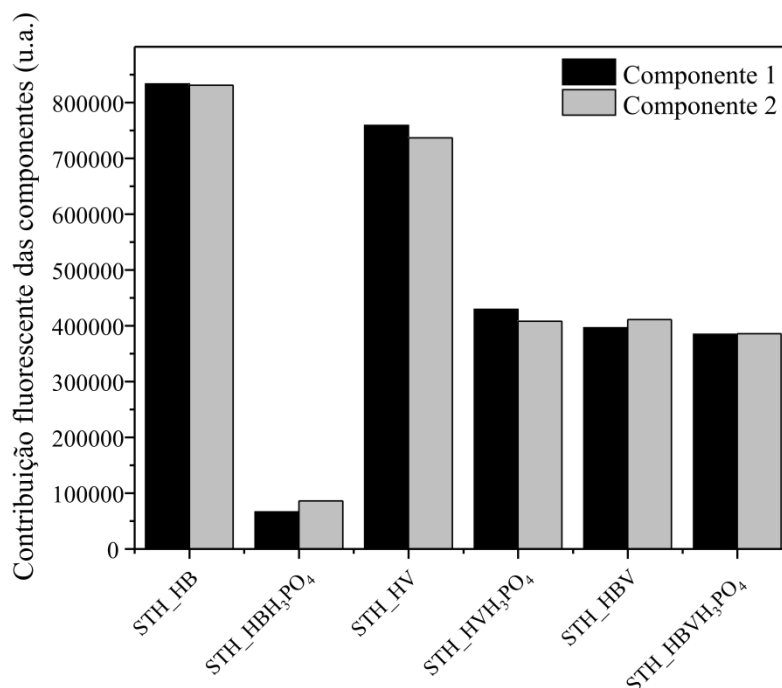
Fonte: Autoria Própria

A Figura 16 ilustra a contribuição fluorescente das componentes identificadas por CP/PARAFAC. Em geral a adição de ácido causou a diminuição da intensidade fluorescente das STH, exceto entre as STH\_HBV e STH\_HBVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> que essa diferença não foi observada. A diferença observada entre as contribuições fluorescentes estão correlacionadas com as diferenças estruturais das STH. As STH extraídas de CH com ácido parecem ter um arranjo mais linear, ou seja, composta por estruturas aromáticas policondensadas o que confere maior rigidez estrutural e contribui para a diminuição da intensidade fluorescente (DE MASTRO et al., 2019). O que corrobora com o índice estrutural de aromaticidade através dos espectros de <sup>13</sup>C RMN.

A presença dos substituintes como hidroxilas, metoxila e grupos nitrogenados em componentes estruturais de menor complexidade, tendem a aumentar a intensidade fluorescente (DE MASTRO et al., 2019; SENESI; MIANO, 1991; TRAVERSA et al., 2014). Possivelmente, a contribuição fluorescente para as STH extraídas dos CH sem adição de ácido no meio reacional, foram maiores devido à presença de estruturas de menor complexidade e maior grau de substituição. As estruturas da biomassa de partida foram menos degradadas nos CH sem adição de ácido no meio reacional, apresentando

ainda um arranjo molecular de estruturas menores como estruturas fenólicas, que podem contribuir com o aumento da intensidade de fluorescência.

**Figura 16.** Contribuição fluorescente das componentes/fluoróforos identificados por meio de CP/PARAFAC em cada STH extraídas dos CH de bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça com e sem adição de ácido fosfórico.



Fonte: Autoria Própria

### 5.2.5 Thermochemistry GC-MS

A Figura 17 mostra a intensidade relativa dos produtos liberados da *Thermochemistry GC-MS*. A quantidade de compostos identificados depende da amostra e os produtos foram classificados em classes de compostos. Na STH do CH foram identificados cerca de 150 compostos. A identificação foi baseada na biblioteca NIST e uma das listas dos produtos identificadas consta no apêndice (Tabela 3A).

As principais classes identificadas foram os derivados de benzeno, ésteres alifáticos e compostos fenólicos. Os derivados de benzeno e compostos fenólicos são derivados principalmente dos monômeros de lignina (hidroxifenila, guaiacil e siringil) (CAO et al., 2014). Esteróis, terpenos e alcanos são principalmente derivados de tecidos de plantas, como ceras e biopoliésteres (MONDA et al., 2018). A maior porcentagem

relativa de fenol no HLS\_HB e HLS\_HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> em relação aos demais STH está de acordo com os resultados de RMN, na qual demonstraram um pico mais intenso em 146,9 ppm relacionado à fenóis e estes picos são menos intensos para os demais. Os principais compostos fenólicos identificados foram o fenol-2-metil e o fenol-2,4-dimetil.

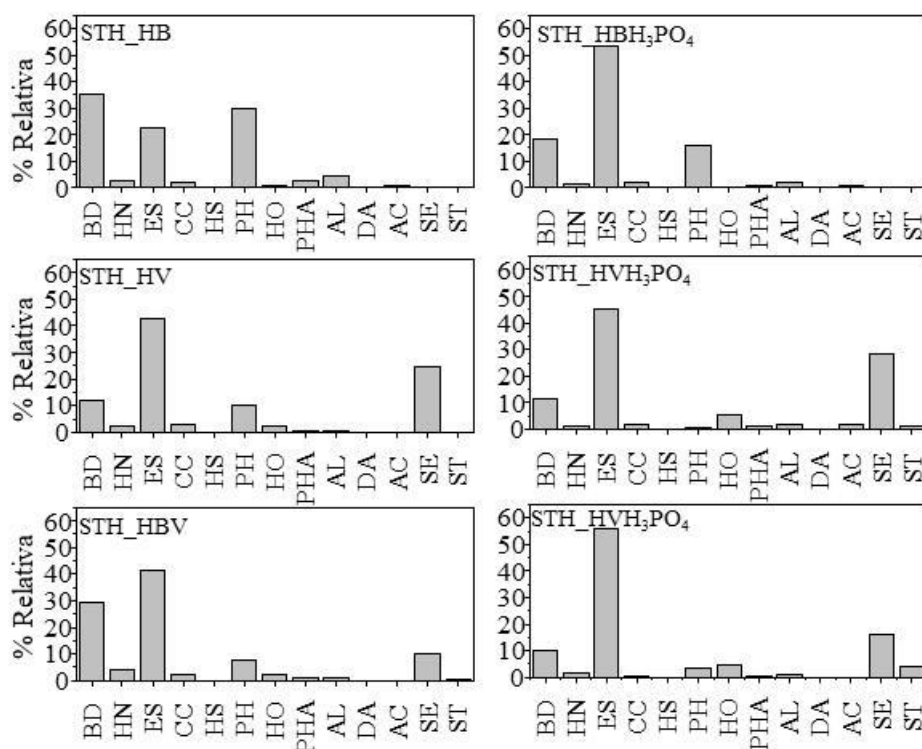
A presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) sugere a aromatização do material, visto que os polissacarídeos durante a CHT se degradam em furfural e sofrem reações de condensação, polimerização e aromatização (REZA et al., 2014b). Nas STH de CH foram identificados fenantreno, antraceno e naftaleno. Não há indícios se esses compostos estão “livres” para serem liberados ou se podem estar conectados nas estruturas policondensadas de anéis aromáticos (*black carbon*). Ainda, a porcentagem relativa de área para esses compostos são baixas frente às outras classes. Entretanto, os bioensaios, como o experimento de germinação, são úteis para avaliar os efeitos de materiais carbonizados para aplicação agrícola, embora a presença desses compostos já tenha sido apontada nas substâncias húmicas de solo (CHIAPINI et al., 2018; SCHELLEKENS et al., 2017).

Foi observado que as STH extraídas do CH com adição de ácido apresentou mais ésteres alifáticos, enquanto que sem adição de ácido apresentou mais derivados de benzenos e fenóis. Assim, os resultados são contrários às informações fornecidas por RMN dos CH, na qual pode ser devido ao arranjo estrutural dos materiais orgânicos carbonizados com e sem adição de ácido e a diferente resposta às técnicas analíticas utilizadas. Uma das razões pode ser devido ao tipo de estrutura do material com e sem adição de ácido: com a adição de ácido as estruturas do carvão hidrotérmico podem ter um maior ordenamento estrutural (maior grau de policondensação) observado pela baixa intensidade fluorescência (Figura 16) e maior aromaticidade (Tabela 6), não sendo a fração aromática mais complexa liberada durante o processo de *thermochemistry* devido a maior estabilidade térmica.

A presença de estruturas O-Alquil nos CH sem adição de ácido podem sofrer rearranjo pirolítico e aromatização durante o processo de *thermochemistry* (NEBBIOSO; PICCOLO, 2012). Logo, a porcentagem de derivados de benzenos e compostos fenólicos podem ser elevadas nas STH extraídas de CH sem adição de ácido. Enquanto a abundância relativa nas STH extraídas de CH produzido com ácido no meio reacional é menor, pois o ácido degradou mais as estruturas polissacarídicas durante o

processo de CHT e as unidades aromáticas estão ligadas de uma maneira termodinamicamente mais estável.

**Figura 17.** Principais classes de compostos identificado nas STH extraídas dos CH produzidos por meio de carbonização hidrotérmica com e sem adição de ácido fosfórico. Os compostos identificados foram classificados como: BD= derivados de benzeno; HN=nitrogênio heterocíclicos; ES=ésteres alifáticos; CC=compostos cíclicos; HS=enxofre heterocíclicos; PH=fenol; HO=oxigênio heterocíclico; PHA=hidrocarbonetos policíclicos aromáticos; AL= alcanos/alcenos/alcinos; DA=ácidos dicarboxílicos; AC=álcool; SE=esteroides; ST=esterol.



Fonte: Autoria Própria

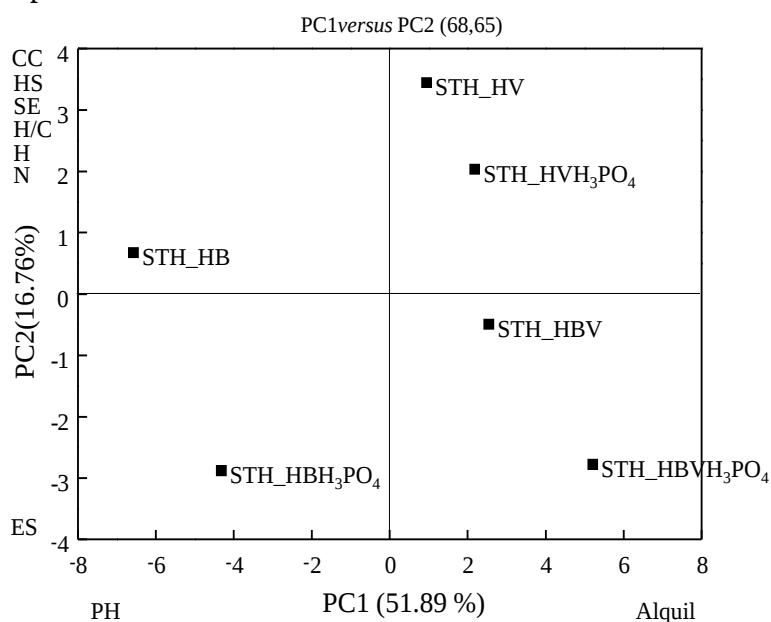
As STH apresentaram-se menos aromáticas do que os CH e mais oxidadas (presença maior de ácidos carboxílicos e carbonilas). As STH extraídas dos CH produzidos sem adição ácido no meio reacional possuem maior números de substituintes (oxigenados e nitrogenados) em relação às STH extraídas de CH com ácido, o que aumentou a intensidade fluorescente. Através da *thermochemistry GC-MS* foi verificado que esses substituintes estão principalmente na forma de hidroxilas de fenóis e nitrogênio em compostos heterocíclicos.

No geral as STH extraídas dos CH apresentaram características semelhantes às SH de solos: mesmos picos fluorescentes e também composição molecular (ácidos graxos, fenóis, derivados de benzenos, compostos cíclicos e HPA).

### 5.2.6 Análise dos componentes principais (PCA)

A Figura 18 mostra a análise de componentes principais (PCA) aplicada às classes de compostos identificados por GC-MS, análise elementar e áreas relativas integradas de RMN. O resultado do scores da PCA mostrou uma separação entre a composição química das STH. A primeira componente (PC1) corresponde a 51,89% da variância total e separou nitidamente a STH\_HB e a STH\_H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> pelos compostos fenólicos (scores pontuações negativas) das STH\_HV, STH\_HVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, STH\_BV e STH\_HVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> pelo conteúdo de alquila (scores positivos). O segundo componente (PC2) corresponde a 16,76% da variância total, as STH\_HB, STH\_HV e STH\_HVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> foram separadas positivamente pelo hidrogênio (H), nitrogênio (N), razão atômica H/C, compostos cíclicos (CC), enxofre heterocíclico (HS) e esteróides (SE). A STH\_HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, HL\_HBV e HL\_HBVH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> foi separada negativamente por ésteres alifáticos (ES).

**Figura 18.** Plotagens da análise dos componentes principais (PCA) das classes de compostos obtidos por *thermochemolysis* GC-MS, análise elementar e RMN de substâncias do tipo húmicas.



Fonte: Autoria Própria

### 5.3 Caracterizações das camadas de solo (Terra Preta de Índio e de área adjacente) e das substâncias húmicas

#### 5.3.1 Granulometria, pH, MO dos solos

A distribuição granulométrica e o pH das camadas do solo estão relatados na Tabela 7. A TPI apresenta textura arenosa e um pH que se diferencia em uma unidade do solo adjacente, enquanto o perfil da área circundante apresenta textura arenosa superficialmente com aumento da quantidade de argila em profundidade. Os solos brasileiros são tipicamente ácidos e os solos TPI possuem valores de pH mais elevado, sendo esta diferença devido à inserção de cinzas contendo sais básicos como cálcio e magnésio.

**Tabela 7.** Distribuição granulométrica, pH, teor de matéria orgânica (MO) nas frações do solo da Terra Preta de Índio (TPI) e área adjacente (ADJ).

| Frações<br>(cm) | Granulometria     |                     |              |               | pH               | MO   |
|-----------------|-------------------|---------------------|--------------|---------------|------------------|------|
|                 |                   |                     |              |               |                  | (%)  |
|                 | Areia fina<br>(%) | Areia grossa<br>(%) | Silte<br>(%) | Argila<br>(%) | H <sub>2</sub> O |      |
| TPI 0-20        | 39,56             | 43,53               | 11,88        | 5,02          | 5,9              | 6,14 |
| TPI 20-40       | 38,31             | 45,03               | 9,86         | 6,79          | 5,7              | 5,35 |
| TPI 40-60       | 36,68             | 46,60               | 9,51         | 7,21          | 5,7              | 3,71 |
| TPI 60-80       | 35,14             | 48,37               | 8,64         | 7,85          | 5,8              | 2,69 |
| TPI 80-100      | 35,11             | 48,72               | 7,63         | 8,54          | 5,6              | 3,50 |
| ADJ 0-20        | 45,62             | 30,38               | 12,53        | 11,47         | 4,5              | 4,87 |
| ADJ 20-40       | 44,01             | 24,80               | 14,42        | 16,77         | 4,4              | 5,45 |
| ADJ 40-60       | 40,62             | 25,56               | 4,86         | 28,96         | 4,4              | 5,35 |
| ADJ 60-80       | 37,28             | 27,34               | 13,15        | 22,23         | 4,4              | 5,57 |
| ADJ 80-100      | 35,61             | 27,42               | 3,97         | 33,00         | 4,4              | 5,75 |

Fonte: Autoria Própria

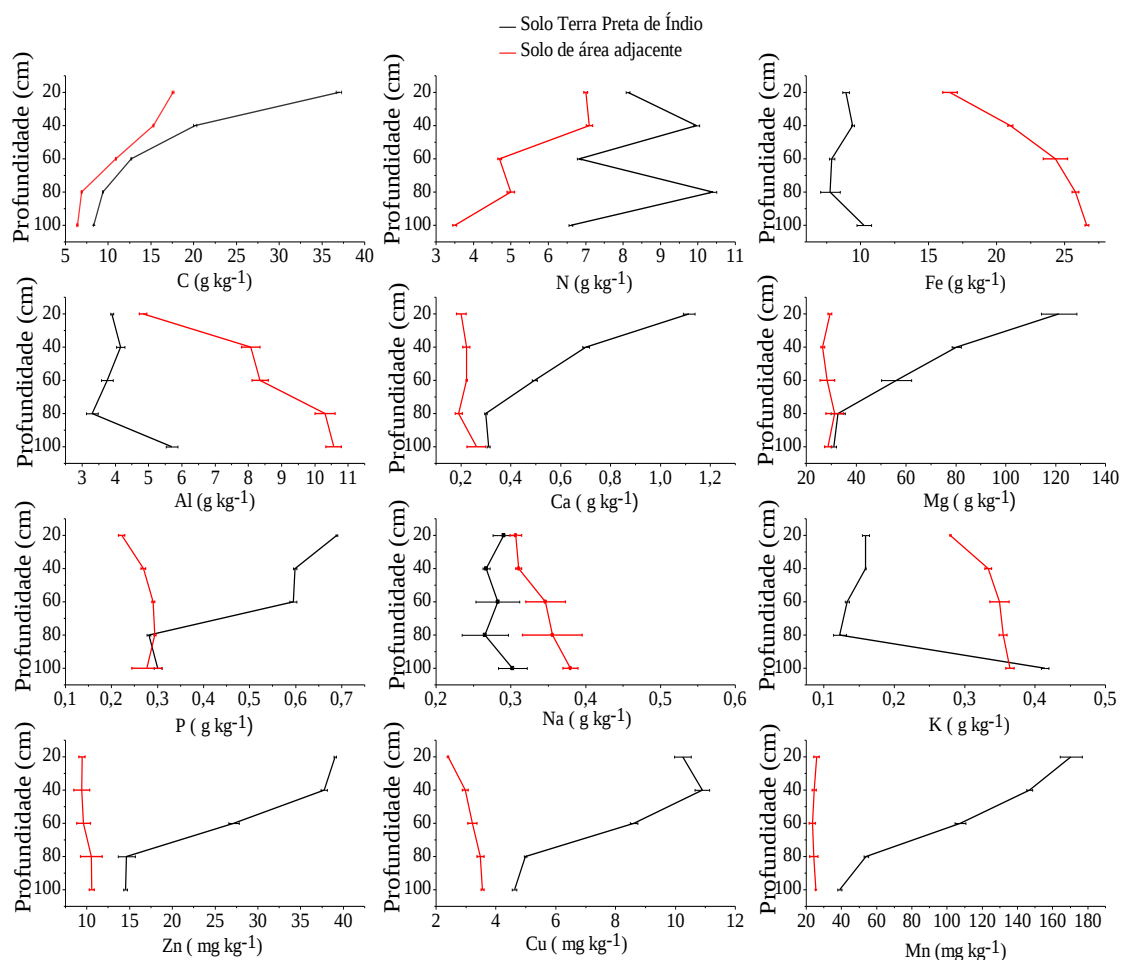
### 5.3.2 Determinação dos elementos totais nos solos

Como pode ser observado na Figura 19 os solos TPI apresentaram maior concentração de carbono, nitrogênio, cálcio, magnésio, fósforo, zinco, cobre e magnésio do que a área circundante. O solo adjacente têm concentrações de ferro, alumínio, sódio e potássio superiores aos solos TPI. A fração de 0-20 cm dos solos TPI é a que apresentou maior concentração de carbono e nutrientes, sendo superior 2,1 vezes em carbono, 1,1 vezes em nitrogênio, 5,5 em cálcio, 4,1 vezes em magnésio, 3,1 vezes em fósforo, 4,13 vezes em zinco e 4,2 vezes em cobre. As concentrações de ferro e alumínio são geralmente menores para os solos TPI, pois, como pode ser observado, o solo antropogênico apresenta menores concentrações de óxidos de ferro/alumínio de origem pedogênica (Tabela 8) e a maior presença de MO age como um efeito de diluição. Além disso, o potássio é maior no solo ADJ em todas as camadas e na camada de 80-100 cm TPI, provavelmente devido à presença de ilita (COSTA; KERN; KAMPF, 2003).

A maior concentração de nutrientes nos solos TPI em relação ao ADJ era esperada. A quantidade de nutrientes diminui em profundidade nas frações de solo, mostrando que o tipo de matéria orgânica dos solos TPI é responsável pela manutenção dos estoques de nutrientes. A diminuição de nutrientes também foi observada em perfil pelos autores PAGANO et al. (2016). Mostrando que o tipo de interação entre a MO e os nutrientes são diferentes entre os solos, isso se deve principalmente ao tipo da MO que aparenta ter um arranjo capaz de reter o aporte de nutrientes recebidos.

A maior concentração de cálcio presente nos solos TPI em relação ao solo adjacentes pode ser derivado de excretas de animais e humanas, bem como de outros resíduos orgânicos e inorgânicos (ARCHANJO et al., 2014; GLASER et al., 2001). Uma das possíveis fontes são os tecidos ósseos, ricos em cálcio. Além dos ossos, os tecidos humanos e animais contêm grandes quantidades de cálcio. Archanjo et al. (2014) relataram a interação do cálcio com as partículas de carbono presentes nos solos TPI, essas interações podem também exercer contribuição na estabilidade da MO da TPI no solo. A concentração de cálcio e magnésio também pode ser maior nos solos TPI devido à inserção de cinzas, principalmente de tecidos vegetais que são ricos desses nutrientes (NOVOTNY et al., 2009).

**Figura 19.** Elementos presentes nas frações de solo Terra Preta de índio e de área adjacente.



Fonte: Autoria Própria

### 5.3.3 Formas de ferro e alumínio nas camadas de solo

Os minerais desempenham um papel importante na estabilização da MOS, por isso foram realizadas extrações para avaliar o ferro/alumínio de baixa cristalinidade (Feo/Alo), os óxidos de ferro/alumínio de origem pedogênica (Fed/Ald) e o ferro/alumínio ligado a MOS (Fep/Alp) para comparar as diferenças entre os solos estudados. Os resultados estão relatados na Tabela 8. A concentração de Feo e Alo é maior na camada superior e diminui nas camadas mais profundas em ambos os solos, com uma concentração maior para TPI do que para o ADJ. A maior presença de MO sugere uma quantidade maior de ligantes, como os grupos carboxílicos, nos quais o ferro/alumínio pode ser ligado, reduzindo assim a cristalização (SCHWERTMANN, 1964). A concentração de Fed e Ald é menor para a TPI do que para ADJ, e os valores aumentam em profundidade devido ao maior teor de óxidos de ferro/alumínio. A camada TPI de 80-100 cm apresentou a maior concentração de ferro proveniente de

óxidos (relação Fed/Fetot) em relação às camadas superficiais, uma vez que esta camada é uma transição entre o horizonte antropogênico e o solo da região (indícios: mudança de coloração, diminuição de carbono e nutrientes).

O ferro ligado a MOS (Fep) é similar para a TPI e ADJ, e a maior concentração está nas camadas superiores e não em profundidade, enquanto que o Alp na TPI é três vezes mais ligado a MO do que no ADJ, mostrando que a MO presente na TPI (profundidade de 0 a 60 cm) tem preferência para ligar-se a alumínio em vez do ferro. Os valores da razão de Feo/Fed e Alo/Ald são maiores para os solos TPI do que para a ADJ, o que mostra que os óxidos de ferro e alumínio presentes na TPI apresentam menor cristalinidade em relação ao ADJ. No solo ADJ, há uma prevalência de óxidos de ferro cristalino (relação Feo/Fed menor que 0,04), típico de solos tropicais intemperizados como os Latossolos (POGGERE et al., 2018). O Alo e o Alp apresentaram uma correlação linear ( $r = 0,91$ ), sugerindo que o alumínio de menor cristalinidade é a forma ligada a MOS da TPI, o que gera uma proteção organo-mineral. Os resultados sugeriram que os óxidos de alumínio de baixa cristalinidade são mais eficazes na interação organo-mineral do que os óxidos bem ordenados/cristalinos (Ald), como já descrito para o ferro (HUANG et al., 2018).

Além disso, a soma do ferro e alumínio ligado a MOS (Fep + Alp) é útil como para prever a interação organo-mineral total de ferro e alumínio. A MO da TPI tem uma proteção mineral maior que a MO do ADJ (Tabela 8). A MOS ligada ao ferro e ao alumínio gera uma proteção física devido à formação de agregados que impedem a degradação microbiana (EUSTERHUES; RUMPEL; KÖGEL-KNABNER, 2005). O mecanismo físico-químico da proteção da MOS ainda não é claro; entretanto, sabe-se que o acúmulo da MO no solo é o resultado da restrição do acesso microbiológico, devido à adsorção ou incorporação de minerais ou mesmo à incorporação de partículas de diferentes tamanho formando aglomerados, resultando em uma proteção física que bloqueia o acesso microbiano (INCERTI et al., 2017; PICCOLO et al., 2018). Os resultados sugerem que os minerais têm importância na estabilização da MOS da TPI. Essas interações revelam que é uma importante abordagem para o sequestro de carbono, como a criação de novas tecnologias através do modelo da MO antropogênica. Neste contexto, também já foi demonstrado que os minerais no *biochar* é um fator determinante na sua estabilidade (YANG et al., 2018).

**Tabela 8.** Concentração das formas de ferro e alumínio nas camadas da Terra Preta de Índio e solos adjacentes. Feo/Alo = concentração ferro/alumínio de óxidos amorfos, Fed/Ald = concentração ferro/alumínio de óxidos pedogênicos, concentração de Fep/Alp = ferro/alumínio ligada a MOS, Fetot/Altot = concentração total de ferro/alumínio e Fep + Alp = ferro total e alumínio ligados a MOS.

|                      | Camadas (cm) | Fe <sub>o</sub><br>(g kg <sup>-1</sup> ) | Fe <sub>d</sub><br>(g kg <sup>-1</sup> ) | Fe <sub>p</sub><br>(g kg <sup>-1</sup> ) | Fe <sub>tot</sub><br>(g kg <sup>-1</sup> ) | Fe <sub>d</sub> /<br>Fe <sub>tot</sub> | Fe <sub>o</sub> /<br>Fe <sub>d</sub> | Al <sub>o</sub><br>(g kg <sup>-1</sup> ) | Al <sub>d</sub><br>(g kg <sup>-1</sup> ) | Al <sub>p</sub><br>(g kg <sup>-1</sup> ) | Al <sub>tot</sub><br>(g kg <sup>-1</sup> ) | Al <sub>d</sub> /<br>Al <sub>tot</sub> | Al <sub>o</sub> /<br>Al <sub>d</sub> | Fe <sub>p</sub> +Al <sub>p</sub> |
|----------------------|--------------|------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|
| Terra Preta de Índio | 0-20         | 0,38 ± 0,00                              | 6,71 ± 0,27                              | 0,70 ± 0,04                              | 8,94 ± 0,24                                | 0,75                                   | 0,05                                 | 1,07 ± 0,00                              | 2,28 ± 0,08                              | 0,57 ± 0,07                              | 3,89 ± 0,04                                | 0,58                                   | 0,47                                 | 1,27 ± 0,08                      |
|                      | 20-40        | 0,43 ± 0,05                              | 6,23 ± 0,35                              | 0,44 ± 0,01                              | 9,40 ± 0,11                                | 0,66                                   | 0,07                                 | 1,45 ± 0,17                              | 2,59 ± 0,10                              | 0,70 ± 0,05                              | 4,15 ± 0,12                                | 0,62                                   | 0,56                                 | 1,15 ± 0,05                      |
|                      | 40-60        | 0,35 ± 0,02                              | 5,66 ± 0,25                              | 0,44 ± 0,10                              | 7,81 ± 0,21                                | 0,72                                   | 0,06                                 | 1,32 ± 0,00                              | 2,40 ± 0,15                              | 0,55 ± 0,01                              | 3,75 ± 0,17                                | 0,64                                   | 0,55                                 | 1,00 ± 0,10                      |
|                      | 60-80        | 0,24 ± 0,01                              | 5,47 ± 0,20                              | 0,39 ± 0,14                              | 8,07 ± 0,71                                | 0,68                                   | 0,04                                 | 0,61 ± 0,03                              | 1,62 ± 0,10                              | 0,18 ± 0,00                              | 3,30 ± 0,17                                | 0,49                                   | 0,37                                 | 0,58 ± 0,14                      |
|                      | 80-100       | 0,26 ± 0,02                              | 8,63 ± 0,88                              | 0,46 ± 0,00                              | 8,79 ± 0,54                                | 0,98                                   | 0,03                                 | 0,47 ± 0,01                              | 2,21 ± 0,18                              | 0,11 ± 0,00                              | 5,70 ± 0,17                                | 0,38                                   | 0,21                                 | 0,57 ± 0,00                      |
| Área adjacente       | 0-20         | 0,22 ± 0,02                              | 11,58 ± 0,27                             | 0,62 ± 0,02                              | 15,06 ± 0,54                               | 0,76                                   | 0,019                                | 0,65 ± 0,11                              | 2,96 ± 0,06                              | 0,19 ± 0,00                              | 4,83 ± 0,11                                | 0,61                                   | 0,22                                 | 0,82 ± 0,02                      |
|                      | 20-40        | 0,22 ± 0,03                              | 15,12 ± 0,35                             | 0,54 ± 0,05                              | 21,11 ± 0,19                               | 0,71                                   | 0,014                                | 0,84 ± 0,20                              | 3,81 ± 0,17                              | 0,19 ± 0,00                              | 8,07 ± 0,27                                | 0,47                                   | 0,22                                 | 0,74 ± 0,05                      |
|                      | 40-60        | 0,18 ± 0,01                              | 17,63 ± 0,24                             | 0,46 ± 0,05                              | 24,78 ± 0,89                               | 0,71                                   | 0,010                                | 0,71 ± 0,00                              | 4,28 ± 0,00                              | 0,19 ± 0,00                              | 8,35 ± 0,24                                | 0,51                                   | 0,16                                 | 0,67 ± 0,05                      |
|                      | 60-80        | 0,16 ± 0,01                              | 18,62 ± 0,20                             | 0,38 ± 0,11                              | 25,73 ± 0,24                               | 0,73                                   | 0,008                                | 0,67 ± 0,00                              | 4,38 ± 0,27                              | 0,16 ± 0,02                              | 10,30 ± 0,30                               | 0,42                                   | 0,15                                 | 0,55 ± 0,02                      |
|                      | 80-100       | 0,16 ± 0,02                              | 19,37 ± 0,88                             | 0,50 ± 0,01                              | 28,97 ± 0,14                               | 0,67                                   | 0,008                                | 0,61 ± 0,00                              | 4,50 ± 0,37                              | 0,14 ± 0,00                              | 10,56 ± 0,23                               | 0,42                                   | 0,13                                 | 0,64 ± 0,01                      |

Fonte: Autoria Própria

#### 5.3.4 Análise elementar e razões atômicas das SH extraída dos solos

A composição elementar e as razões atômicas são relatadas na Tabela 9. Os resultados das análises elementares mostraram que a camada superior da TPI possui maior concentração de carbono, hidrogênio e nitrogênio. O teor de oxigênio é quase o mesmo para todas as frações do perfil dos solos TPI, enquanto no perfil da área adjacente há uma diferença entre 24,4% de O da camada superior até a profundidade. A razão atômica O/C permite estimar a abundância de oxigênio contido em grupos funcionais (BRAVARD; RIGHI, 1991), mostrando que as SH da TPI contêm menos grupos oxigenados na camada superficial e a área adjacente apresentou tendência oposta: maior presença de grupos oxigenados em superfície e diminuição em profundidade. A razão atômica H/O é usada como um índice da oxidação da MO, uma menor razão atômica H/O sugere moléculas com mais grupos oxigenados e mais polares do que hidrofóbicas (DE PAOLIS; KUKKONEN, 1997), mostrando que a SH da TPI é mais hidrofóbica superficialmente, enquanto a ADJ é mais polar superficialmente e mais hidrofóbica em profundidade. A hidrofobicidade é um parâmetro importante da estabilização do carbono no solo, os dados mostram uma SH mais estável superficialmente para a TPI enquanto para as SH de solo ADJ mais estável em profundidade. Através da razão atômica H/C, que diz sobre a aromaticidade, foi possível observar que as SH da TPI possui um conteúdo alifático maior em profundidade e a ADJ aumenta as porções aromáticas.

Assim, as razões atômicas H/C, H/O e O/C sugerem que a SH extraídas da camada superficial do perfil da TPI, apresentou uma estrutura mais complexa constituída por anéis aromáticos policondensados, é mais hidrofóbica do que polar e esta tendência se altera em profundidade. Enquanto as SH do perfil de solo ADJ apresentaram características de moléculas menores, ricas em estruturas alifáticas com mais grupos oxigenados. Ainda, apresentou-se mais polar do que hidrofóbicas superficialmente e houve mudanças composicionais em profundidade, sendo que a SH da fração mais profunda (80-100 cm) possui caráter mais aromático e mais hidrofóbico.

**Tabela 9.** Composição elementar e razões atômicas das substâncias húmicas extraídas das camadas dos solos Terra Pretas de Índio e adjacente em diferentes profundidades.

|                      | Camadas | C                  | H                 | N                 | O                  | H/C  | C/N   | O/C  | H/O  |
|----------------------|---------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|------|-------|------|------|
|                      | (cm)    | (%)                | (%)               | (%)               | (%)                |      |       |      |      |
| Terra Preta de índio | 0-20    | 52,07<br>±<br>0,07 | 5,10<br>±<br>0,01 | 3,63<br>±<br>0,04 | 39,20<br>±<br>0,10 | 1,17 | 16,82 | 0,57 | 2,07 |
|                      | 20-40   | 53,96<br>±<br>0,15 | 5,64<br>±<br>0,11 | 3,05<br>±<br>0,03 | 37,35<br>±<br>0,30 | 1,25 | 20,74 | 0,52 | 2,40 |
|                      | 40-60   | 51,75<br>±<br>0,13 | 5,10<br>±<br>0,02 | 2,57<br>±<br>0,01 | 40,57<br>±<br>0,12 | 1,18 | 23,61 | 0,59 | 2,00 |
|                      | 60-80   | 47,59<br>±<br>0,09 | 4,98<br>±<br>0,06 | 2,23<br>±<br>0,01 | 45,19<br>±<br>0,03 | 1,25 | 24,95 | 0,71 | 1,75 |
|                      | 80-100  | 43,22<br>±<br>0,08 | 5,82<br>±<br>0,08 | 2,33<br>±<br>0,01 | 48,63<br>±<br>0,18 | 1,60 | 21,75 | 0,84 | 1,90 |
|                      | 0-20    | 44,50<br>±<br>0,04 | 5,66<br>±<br>0,00 | 2,89<br>±<br>0,05 | 49,96<br>±<br>0,01 | 1,51 | 18,06 | 0,79 | 1,91 |
|                      | 20-40   | 45,38<br>±<br>0,16 | 5,59<br>±<br>0,01 | 2,62<br>±<br>0,02 | 46,41<br>±<br>0,15 | 1,47 | 20,30 | 0,77 | 1,91 |
|                      | 40-60   | 53,21<br>±<br>0,04 | 6,70<br>±<br>0,08 | 2,80<br>±<br>0,00 | 37,29<br>±<br>0,11 | 1,50 | 22,23 | 0,53 | 2,85 |
|                      | 60-80   | 47,22<br>±<br>0,06 | 5,86<br>±<br>0,06 | 2,43<br>±<br>0,00 | 44,48<br>±<br>0,00 | 1,48 | 22,72 | 0,71 | 2,09 |
|                      | 80-100  | 63,99<br>±<br>0,04 | 7,07<br>±<br>0,02 | 3,22<br>±<br>0,00 | 25,72<br>±<br>0,01 | 1,32 | 23,26 | 0,30 | 4,37 |

Fonte: Autoria Própria

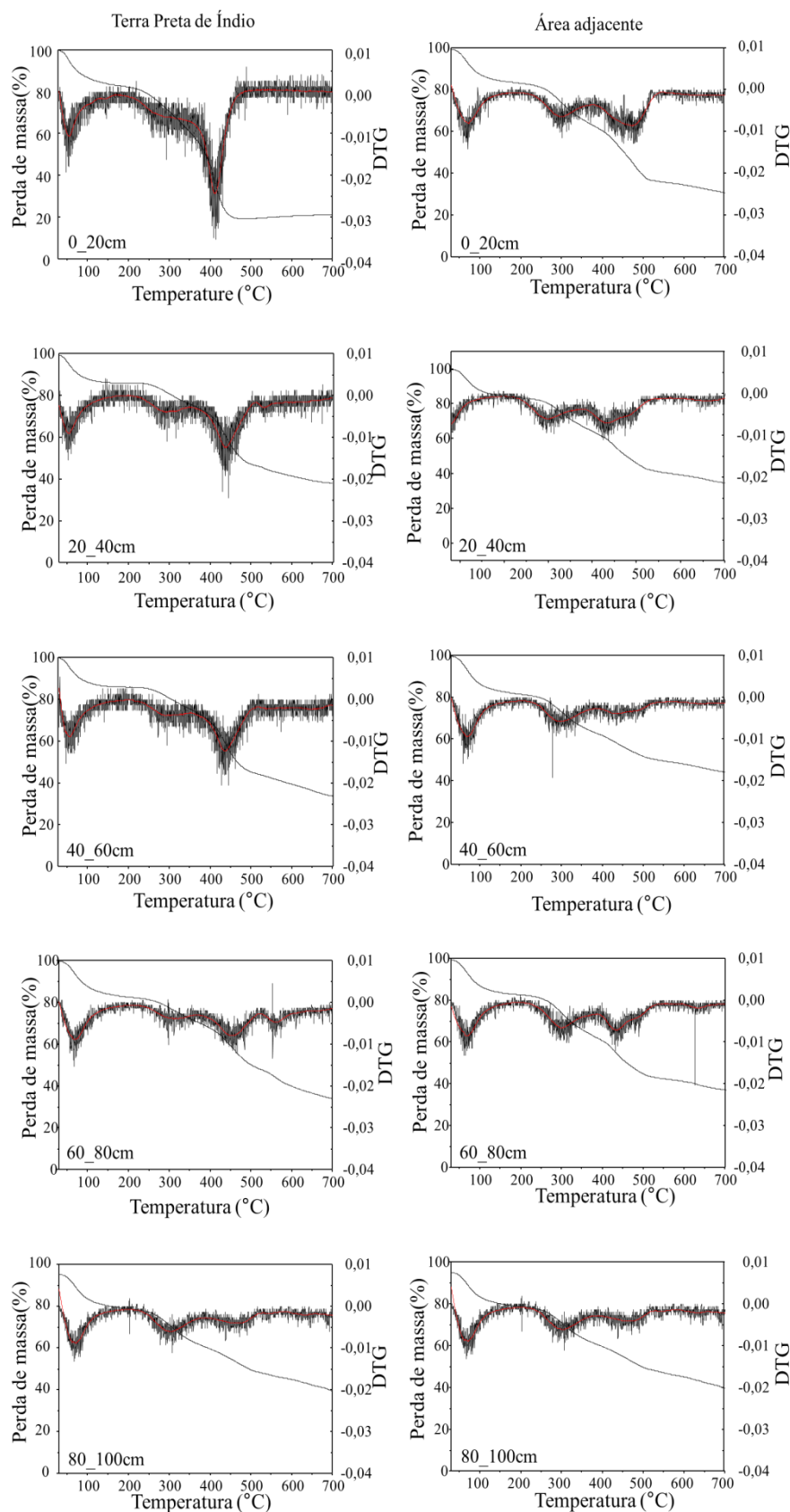
### 5.3.5 Análise termogravimétrica das SH extraídas dos solos

As curvas termogravimétricas (TG) e a primeira derivada da perda de massa (DTG) das SH dos solos TPI e adjacente são mostradas na Figura 20. Foram observados três eventos de queima, sendo o primeiro perda de água, o segundo (em torno de 300 °C) correlacionado a perda de grupos funcionais oxigenados, estruturas alifáticas e peptídeos, e o terceiro pico (entre 400–500 °C) relacionado à destruição das frações aromáticas (CUNHA et al., 2009). A partir dos termogramas foi possível observar que a

SH dos solos TPI é composta principalmente por frações aromáticas em todo o perfil, sendo que a camada superficial apresentou o maior pico relacionado à degradação dessas estruturas, sugerindo uma estrutura húmica com grande domínio aromático.

As SH da TPI da superfície é a que mais se assemelham as STH extraídas dos CH. Mostrando que as STH tem maior similaridade com as SH da TPI do que com as do ADJ.

**Figura 20.** Termogramas (—TG) e curva da primeira derivada (—DTG) de substâncias húmicas extraídas das frações dos perfis dos solos TPI e de solo adjacente.



Fonte: Autoria Própria

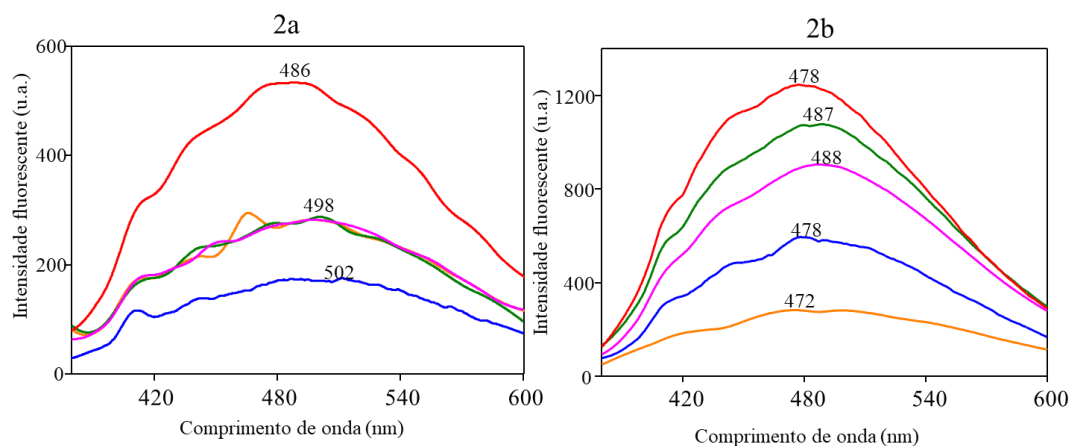
### 5.3.6 Fluorescência molecular das SH extraídas dos solos

Na Figura 21-a apresenta os espectros de emissão para as SH dos solos TPI, na qual os espectros apresentaram uma única banda, com exceção da fração de SH extraída de 20-40 que apresentou um ombro de maior intensidade em 466 nm. Pode ser observado que a SH extraída da fração de 0-20 cm dos solos TPI apresentaram menor intensidade fluorescente e a SH extraída da fração de 80-100 cm apresentou maior intensidade fluorescente. As maiores intensidades fluorescentes estiveram entre os comprimentos de onda de 466 a 502 nm, sendo que as SH da fração de 0-20 cm teve maior intensidade fluorescente em 502 nm e a SH da fração de 80-100 cm em 486 nm.

Na Figura 21-b apresenta o espectro de emissão das SH extraídas das frações de 0 a 100 cm de profundidade nos solos de área adjacente, em que pode ser observado que as máximas intensidades fluorescentes encontram-se entre a faixa de comprimento de 463 a 488 nm. As SH da fração de 20-40 cm também apresentaram um ombro em 463 nm de maior intensidade fluorescente. As SH da fração de 0-20 apresentaram maior intensidade fluorescente em relação à fração de 20-40 cm, comportamento contrário as das SH dos solos TPI. Ainda é possível observar que a SH dos solos de área adjacente apresentaram uma intensidade fluorescente cerca de 2 vezes maior em relação as SH dos solos TPI.

A presença de uma intensidade fluorescente (IF) menor para as SH extraídas dos solos TPI pode estar relacionada a estruturas mais complexas em comparação com as do ADJ de maior IF. A IF pode dizer sobre a complexidade das substâncias húmicas, sendo que uma IF alta em um comprimento de onda menor indica a presença de moléculas mais simples, com baixa quantidade de anéis aromáticos condensados e baixo nível de conjugação entre os cromóforos. Já a intensidade de fluorescência pode ser aumentada pelo número de substituinte como hidroxilas, metoxila e aminas em moléculas de baixo peso molecular por facilitar a transição entre o estado de maior energia para o estado fundamental (ORAZIO; TRAVERSA, 2014; SENESI; MIANO, 1991). A intensidade de fluorescência também pode ser reduzida pela presença de grupos retiradores de elétrons, como grupos carbonilas (ORAZIO; TRAVERSA, 2014).

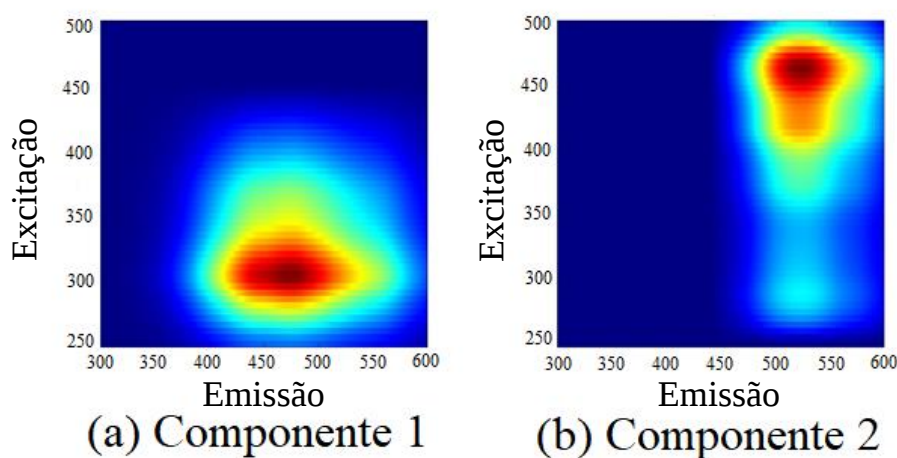
**Figura 21.** Espectros de Fluorescência bidimensional na modalidade de emissão para amostras de substâncias húmicas nas frações de (—) 0-20 cm, (—) 20-40 cm, (—) 40-60 cm, (—) 60-80 cm, (—) 80-100 cm dos solos Terra Preta de Índio (a) e de solo de área adjacente (b).



Fonte: Autoria própria.

Os espectros no modo matriz excitação-emissão (MEE) das SH do perfil de solo de TPI e área adjacentes estão ilustrados na Figura 4A do apêndice. As MEE das SH mostraram a presença dos mesmos dois fluoróforos nos pares de comprimento de excitação/emissão  $\lambda_{458-465}/\lambda_{530-539}$  e  $\lambda_{300-308}/\lambda_{494-520}$ , respectivamente. O CP-PARAFAC identificou dois componentes na amostra (corcondia de 96,4%) como mostra a Figura 22. O componente 1 ( $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ : 300/475) está relacionado com estruturas tipo ácido húmico, enquanto o componente 2 ( $\lambda_{ex} / \lambda_{em}$ : 475/530) mostra um deslocamento para comprimento de ondas maiores (*red shift*) sugerindo maior complexidade.

**Figura 22.** Componente 1 (a) e componente 2 (b) identificados por meio de CP/PARAFAC nas matrizes de emissão de excitação de fluorescência das SH de ambos os perfis de solos (Terra Preta de Índio e área adjacente).



Fonte: Autoria própria

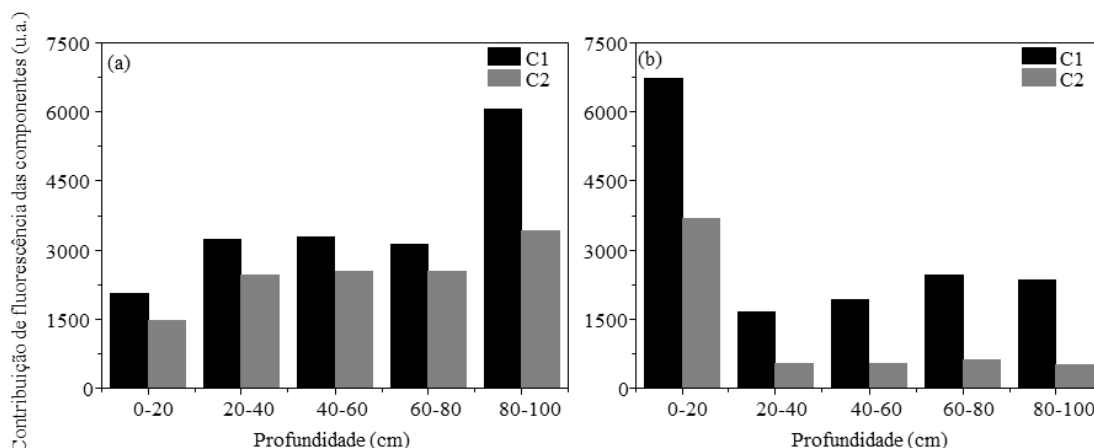
Pode ser observada na Figura 23 a variação da IF das componentes nas camadas dos solos TPI (a) e adjacente (b). Para as SH da TPI a intensidade de ambos os componentes aumentou com a profundidade, sugerindo uma maior quantidade de substituintes como hidroxila, metoxilas, grupos amino em domínios menos aromáticos que causam o aumento da intensidade de fluorescência, corroborando com o aumento da razão H/C e diminuição da intensidade do terceiro pico obtido pela derivada do termograma relacionado a frações aromáticas.

As SH do solo ADJ apresentou maior intensidade na camada superior diminuindo com a profundidade, sugerindo baixa aromaticidade, baixo peso molecular e presença de substituintes doadores de elétrons na camada superior (COCOZZA et al., 2003; SENESI; MIANO, 1991; TRAVERSA et al., 2014). Os resultados da fluorescência estão de acordo com as razões H/O, O/C e C/N do solo ADJ, que sugerem mais oxigênio e nitrogênio na camada superior.

Assim, as SH da TPI apresentaram estrutura mais complexa na camada superior, provavelmente porque foi a camada que sofreu a ação antropogênica, sendo mais impactada. As SH da TPI entre 20 e 80 cm de profundidade parecem conter as mesmas estruturas, enquanto a fração mais profunda (80-100 cm) é uma transição para o solo local. As SH do ADJ apresentaram porções mais alifáticas, principalmente na camada superior, causada pela deposição de matéria orgânica fresca. Com a decomposição da

MO em moléculas menores, essas moléculas migram para a profundidade até se estabilizarem em arranjos mais hidrofóbicos/estáveis.

**Figura 23.** Contribuição da intensidade de fluorescência dos componentes 1 (C1) e componente 2 (C2) das substâncias húmicas extraídas dos solos (a) Terra Preta de Índio e (b) adjacente.



Fonte: Autoria própria

### 5.3.7 RMN das SH dos solos

A Figura 24 apresenta os espectros de RMN obtidos para as SH em profundidade dos solos TPI e ADJ. O pico entre o deslocamento químico de 0 e 45 ppm, é atribuído a ressonância de carbono de metilenos e metil em cadeias alquílicas de lipídeos, como ceras e poliéster de tecidos vegetais (MONDA et al., 2017; SPACCINI et al., 2019). O pico centrado em 56 ppm pode ser uma combinação de ressonância de C metóxi (O-CH<sub>3</sub>) em anéis aromáticos das unidades de lignina (guaiacil e siringil), com contribuição de ligações C-N de peptídeos e aminoácidos (SPACCINI et al., 2008). A região entre 61 a 110 ppm é designada a O-alquil-C das unidades monoméricas de oligo e polissacarídeos. O pico em 73 ppm correspondem a sobreposição das ressonâncias do carbonos 2, 3 e 5, na estrutura pironosídica (SPACCINI et al., 2019). O ombro em 64 ppm é correspondente ao carbono na posição 6, entretanto o sinal de 106 ppm é atribuído ao carbono anomérico 1 da ligação glicosídica. A ressonância do carbono aromático entre 110–160 ppm incluem carbono não substituídos e substituídos; as ressonâncias em campo baixo 140–160 ppm são de C substituídos por hidroxila ou metóxi, como de compostos fenólico e das unidades da lignina, respectivamente. Os picos em campo baixo entre 161–190 ppm e 191–220 ppm podem ser atribuídos a

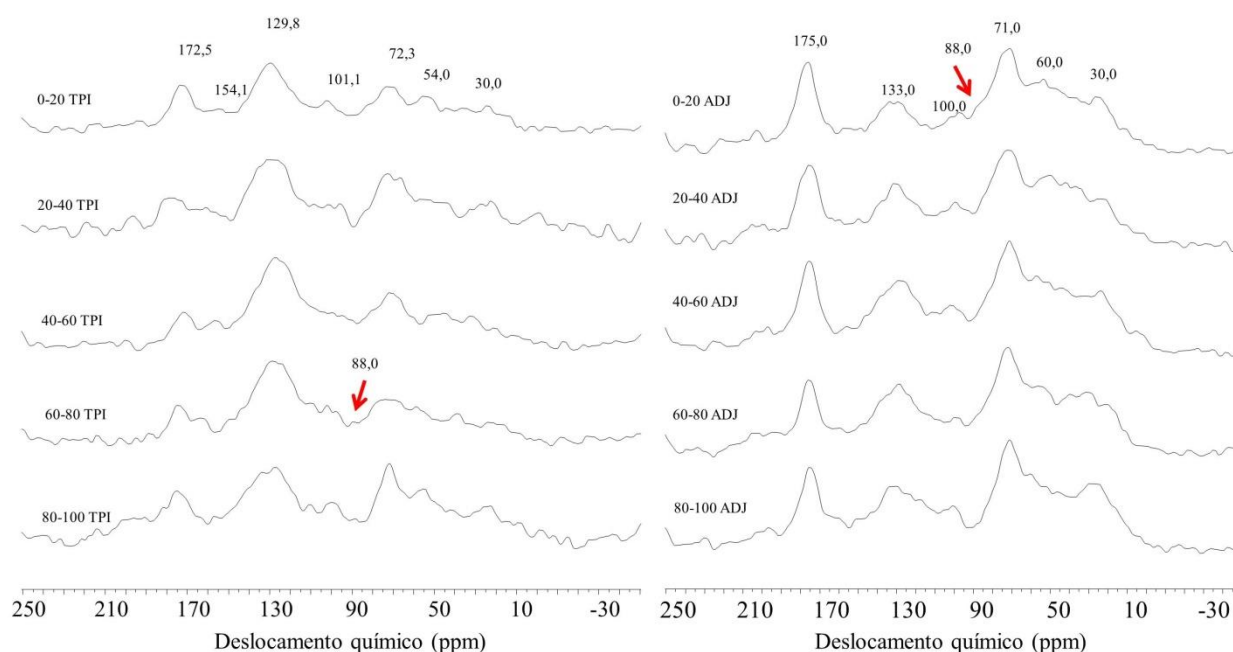
ácidos carboxílicos e outros grupos carbonílicos, como aldeídos e cetonas, respectivamente (DIGNAC; KNICKER; KOGEL-KNABNER, 2003).

As diferentes distribuições encontradas nas SH destacam a contribuição de O-alquil-C (61-110 ppm) e a abundância de compostos alquílicos (0-45 ppm), mostrando uma contribuição na matéria orgânica do solo de estruturas polissacarídica e lipídica de resíduos vegetais (Tadini et al., 2015a; Tadini et al., 2015b). Por outro lado, a ressonância de carbono aromático e carbonos oxidados, sugerem um avançado grau de humificação frente aos extratos tipos húmicos do carvão hidrotérmico. A falta dos sinais entre 82–88 ppm em algumas SH atribuídos a ressonância do carbono de ligações glicosídicas 1→4 das estruturas pironosídicas, sugerem a clivagem de ligações do tipo éter e a transformação das estruturas polissacarídicas em húmus (SPACCINI et al., 2019). A Figura 24 mostra que nas SH extraídas superficialmente do solo ADJ (frações 0-20 e 20-40) há um ombro em 88 ppm sugerindo a presença de ligações 1→4, enquanto em profundidade o pico em 71 ppm fica mais evidenciado. Nas SH da TPI de 0-60 há uma ausência desses picos, mostrando uma matéria orgânica mais humificada do que em 60-100 cm que sugere a presença da ligação das unidades pironosídicas.

O pico bem definido em 129,8 ppm da SH extraída da fração superficial de TPI (Figura 24), sugere a presença de um domínio aromático maior superficialmente, ou seja, maior presença de estruturas aromáticas policondensadas. Ao decorrer da profundidade, o aumento da largura dos picos pode estar associado a uma maior heterogeneidade dos núcleos de carbonos aromáticos ressonantes.

Os ambientes químicos com alta densidade eletrônica sentem um campo magnético efetivo menor, ou seja, ressonam em uma frequência mais baixa (em campo alto) (PAVIA et al., 2009). No caso de anéis aromáticos policondensados, a alta densidade eletrônica pode ocasionar o deslocamento químico em ppm para regiões de ressonância de menor frequência. O deslocamento dos picos entre as SH dos solos TPI e ADJ em torno de 3 ppm sugere diferentes domínios aromáticos. Mesmo sendo um deslocamento pequeno, o deslocamento das SH da TPI para campo alto sugere maior densidade eletrônica.

**Figura 24.** Espectros CP-MAS  $^{13}\text{C}$  RMN das substâncias húmicas extraídas dos solos TPI e de área adjacente.



Fonte: Autoria própria

As características moleculares das SH podem ser destacadas por meio de parâmetros estruturais, frequentemente utilizados para inferir sobre a estabilidade bioquímica de materiais orgânicos, como os índices de hidrofobicidade, índice de aromaticidade e razão alquil/O-alquil (MONDA et al., 2017, 2018; SPACCINI et al., 2019). Embora as áreas integradas demonstrem a distribuição relativa dos diferentes núcleos de carbono, como discutido anteriormente, o deslocamento do pico também indica diferenças estruturais nas SH.

Na Tabela 10 constam as distribuições das áreas integradas em porcentagem característica de cada núcleo de carbono e os índices estruturais. As SH da TPI apresentaram-se mais hidrofóbica, principalmente pela maior contribuição de C-Arila (maiores índices de hidrofobicidade e aromaticidade). Possivelmente, a maior atividade microbiana nos solos TPI causada pela presença de carvão (CENCIANI et al., 2009), auxiliam na degradação das estruturas polissacarídicas mais rapidamente, resultando em uma matéria orgânica mais humificada. As SH 80-100 cm da TPI possuem menor aromaticidade e hidrofobicidade como demonstrada pelas outras técnicas, sendo uma SH mais similar as SH de área adjacente.

**Tabela 10.** Áreas relativas integradas (%) ao longo do desvio químico dos picos principais (ppm) dos espectros de CP-MAS  $^{13}\text{C}$  RMN das substâncias húmicas extraídas dos solos TPI e de área adjacente.

|                      | Profundidade<br>(cm) | Deslocamento químico (ppm)       |                                |                                |                                |                                        |                            | Índices estruturais |      |                     |
|----------------------|----------------------|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------|----------------------------|---------------------|------|---------------------|
|                      |                      | Ac. Carb.<br>( $\delta$ 190-161) | O-Arila<br>( $\delta$ 160-141) | C-Arila<br>( $\delta$ 140-111) | O-Alquil<br>( $\delta$ 110-61) | O-CH <sub>3</sub><br>( $\delta$ 60-46) | Alquil<br>( $\delta$ 45-0) | IH                  | IA   | Alquil/<br>O-Alquil |
| Terra Preta de índio | 0-20                 | 13,8                             | 8,3                            | 29,7                           | 27,1                           | 8,7                                    | 12,2                       | 0,72                | 0,97 | 0,45                |
|                      | 20-40                | 12,1                             | 7,0                            | 30,3                           | 28,3                           | 8,1                                    | 14,1                       | 0,80                | 0,88 | 0,50                |
|                      | 40-60                | 2,7                              | 6,6                            | 47,3                           | 32,2                           | 6,4                                    | 4,7                        | 1,08                | 1,46 | 0,15                |
|                      | 60-80                | 9,1                              | 6,7                            | 39,4                           | 29,1                           | 7,0                                    | 8,5                        | 0,92                | 1,22 | 0,29                |
|                      | 80-100               | 13,6                             | 9,02                           | 25,6                           | 28,3                           | 9,6                                    | 13,8                       | 0,65                | 0,82 | 0,49                |
| Solo adjacente       | 0-20                 | 14,5                             | 5,8                            | 17,2                           | 30,7                           | 10,5                                   | 21,0                       | 0,62                | 0,45 | 0,69                |
|                      | 20-40                | 12,4                             | 5,5                            | 18,2                           | 32,9                           | 10,8                                   | 20,0                       | 0,62                | 0,45 | 0,61                |
|                      | 40-60                | 20,9                             | 17,7                           | 6,6                            | 11,9                           | 19,6                                   | 23,1                       | 0,42                | 0,69 | 1,93                |
|                      | 60-80                | 15,4                             | 6,2                            | 15,4                           | 31,5                           | 11,0                                   | 20,2                       | 0,56                | 0,42 | 0,64                |
|                      | 80-100               | 16,4                             | 5,6                            | 13,1                           | 32,9                           | 11,6                                   | 20,2                       | 0,50                | 0,35 | 0,61                |

Fonte: Autoria propria

### 5.3.8 *Thermochemolysis GC-MS*

A análise dos diferentes produtos da reação de hidrólise e metilação assistida termicamente das SH isoladas das diferentes camadas dos solos são ilustradas na Figura 25. A mesma classe de compostos observada para as STH dos CH foi observada para as SH das frações dos solos. As SH da camada superior da TPI pelas análises anteriores foi constatada ser a fração mais hidrofóbica, pois foi a mais impactada pela ação antropogênica (contribuição da queima). Os dados da *thermochemolysis* apresentaram menos frações aromáticas como derivados de benzenos em relação ao ADJ. Mostrando uma diferença estrutural entre as SH. Os BD nas SH das TPI provavelmente fazem parte das estruturas policondensadas da MO, que possuem uma certa rigidez estrutural e estabilidade térmica, não sendo produtos liberados na *thermochemolysis* realizada a 400 °C. Visto que, SCHELLEKENS et al. (2017) em pirólise em perfis de solo TPI, verificou a presença de estruturas mais aromáticas do que alifáticas, sendo que a principal diferença foi à temperatura empregada de 600 °C. Já na fração superficial dos solos ADJ foram identificados em maior porcentagem, pois são produtos derivados da lignina e celulose (NEBBIOSO; PICCOLO, 2012).

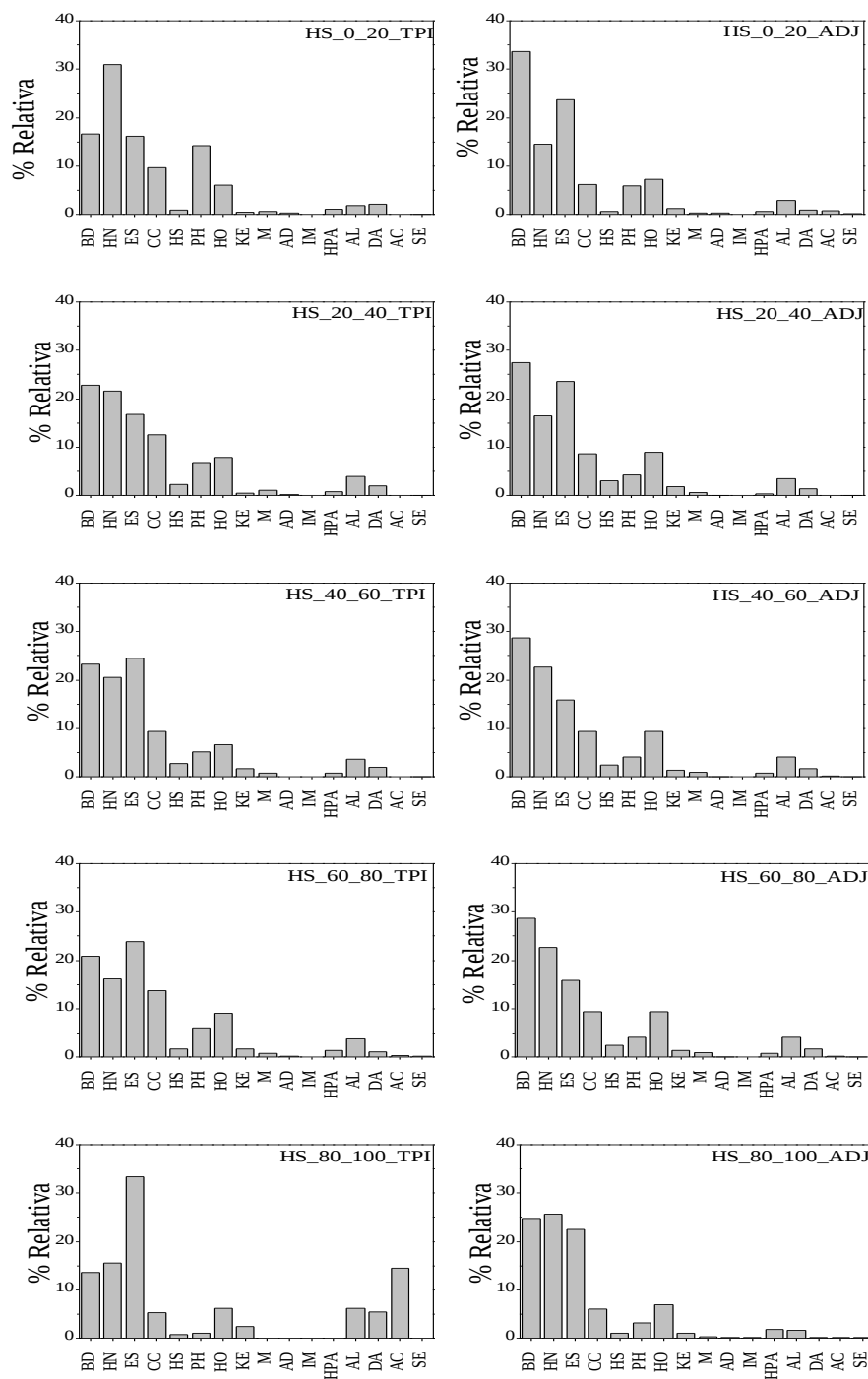
Os compostos fenólicos (PH) são mais altos nas SH da TPI até 80 cm de profundidade do que as camadas do ADJ. Isto está de acordo com outros resultados que mostraram que parte das unidades aromáticas estão ligadas a grupos oxigenados (NOVOTNY et al., 2009). A camada superficial da TPI também contém mais compostos cíclicos e a abundância relativa diminui com a profundidade. A intensidade relativa para HPA são maiores de 0-80 cm, na faixa 1,4-0,8% que é o dobro encontrado no solo ADJ, embora seja uma faixa pequena frente às demais classes de compostos.

Foi possível observar um conteúdo maior de compostos heterocíclicos nitrogenados e compostos fenólicos nas SH da TPI. As frações médias (20-40, 40-60 e 60-80cm) apresentaram a mesma composição e a fração mais profunda é composta por estruturas mais alifáticas. A fração 80-100 cm da TPI é a primeira camada abaixo do horizonte antropogênico, e a matéria orgânica apresenta-se completamente mais lábil constituída por ácidos graxos (ES), compostos alifáticos (AL), álcoois (AC) e ácidos dicarboxílicos (DA), corroborando com os dados de fluorescência, mostrando que a estrutura supramolecular é constituída por um arranjo de moléculas pequenas e com maior números de substituintes que aumentam o sinal de fluorescência.

Para as SH extraídas do solo ADJ, foi verificado que a intensidade relativa de BD varia de 33,0 a 18,0 %, na qual diminuem em profundidade e a intensidade relativa de HPA aumenta de 0,2 a 0,7% em profundidade.

SCHELLEKENS et al. (2017) em um estudo de pirólise-GC/MS em solos TPI de um campo experimental do Caldeirão (Iranduba, Amazônia, Brasil) mostraram que a parte hidrofóbica é principalmente devida à contribuição do carbono pirogênico. É também responsável pela estabilização da MO, porque esta parte da MOS está ligada às frações minerais. Taube et al. (2013) também mostraram, por meio da análise GC-MS, que os ácidos alifáticos estão presentes na fração “livre” da TPI (extraídos com  $\text{CHCl}_3$ :  $\text{Me}_2\text{CO}$ ) e as frações aromáticas foram encontradas apenas na fração “ligada” (extraída após transesterificação). Ambos alifáticos e aromáticos podem contribuir para a estabilização da MOS, pois a parte hidrofílica se não associada a minerais, pode ser degradada primeiramente o que gera um acúmulo de compostos de natureza hidrofóbica e a auto-associação desses compostos no solo é a principal razão pela qual a MOS se estabiliza (DUNGAIT et al., 2012; KLEBER et al., 2011; PICCOLO et al., 2018).

**Figura 25.** Principais classes de compostos identificado nas substâncias tipo húmicas extraídas dos carvão hidrotérmico produzidos por meio de carbonização hidrotérmica com e sem adição de ácido fosfórico. Os compostos identificados foram classificados como: BD= derivados de benzeno; HN=nitrogênio heterocíclicos; ES=ésteres alifáticos; CC=compostos cíclicos; HS=enxofre heterocíclicos; PH=fenol; HO=oxigênio heterocíclico; KE=cetonas; AD= amidas; IM=iminas; HPA=hidrocarbonetos policíclicos aromáticos; AL= alcanos/alcenos/alcinos; DA=ácidos dicarboxílicos; AC=álcool; SE=esteroides.



Fonte: Autoria Própria

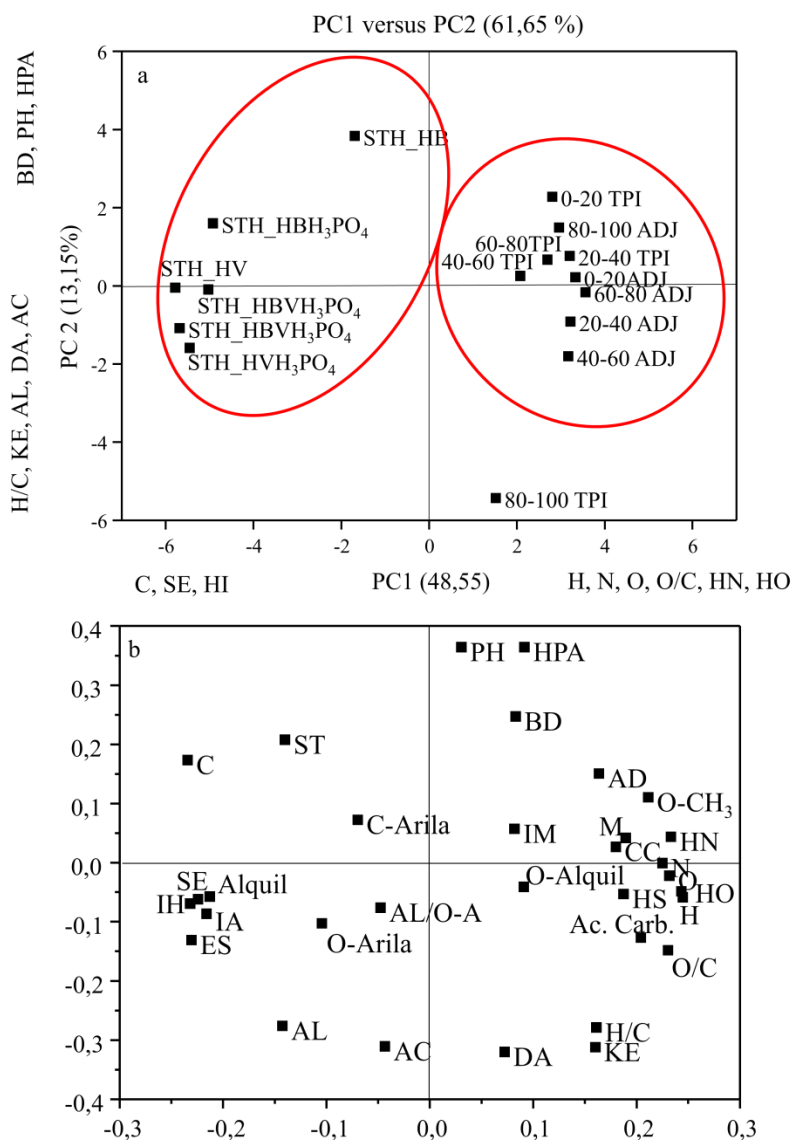
### 5.3.9 Análise de componentes principais (PCA) entre as STH e SH

A Figura 26 mostra a análise de componentes principais (PCA) aplicada aos dados de análise elementar, das áreas relativas integradas das classes de compostos identificados por meio da *thermochemistry GC-MS* e RMN nas amostras de STH dos CH e SH dos solos em profundidade. A primeira componente principal (PC1) correspondeu a 48,55 % da variância dos dados e a segunda componente (PC2) a 13,15 % da variação dos dados, sendo o gráfico contendo PC1 versus PC2 o de maior variância dos dados (61,65 %). As variáveis mais significativas foram escolhidas tomando-se valores (em módulo) acima de 0,22. Os resultados mostraram uma separação clara entre STH e SH somente com a PC1, como mostra os agrupamentos das amostras dentro dos círculos vermelhos. Os fatores que influenciaram a separação entre STH e SH pela componente 1 (scores negativos) foi a concentração de carbono (C), esteroides (SE) e hidrofobicidade (IH) que são superiores para as STH do que as SH. Os fatores que influenciaram a segregação das SH (scores positivos) foi o conteúdo maior de hidrogênio, nitrogênio e oxigênio presentes em compostos heterocíclicos nitrogenados (HN) e oxigenados (OH).

Os fatores que influenciaram positivamente a PC2 foi os derivados de benzeno (BD), compostos fenólicos (PH) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA). Os fatores que influenciaram negativamente foi a razão atômica H/C, cetonas (KE), compostos alifáticos (AL), ácidos dicarboxílicos (DA) e os álcoois (AC), ou seja, maior presença dessas classes de compostos e maior razão atômica H/C abaixo de 0 no eixo y (PC2). Logo, as frações de SH de 0-20 TPI, 20-40 TPI, 40-60 TPI, 60-80 TPI, 0-20 ADJ, 80-100 ADJ, STH\_HB, STH\_HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> e STH\_HBV foram influenciados positivamente pelos fatores da PC2. Em profundidade o score da PC2 para as SH da TPI diminuí, sugerindo menor aromaticidade para as camadas mais profundas. Outro fator a ser observado é que as SH da fração 0-20 TPI e 80-100 ADJ estão posicionadas em regiões próximas do gráfico, mostrando que possuem similaridades estruturais corroborando com os dados apresentados, que sugerem maior complexidade estrutural para as SH da TPI superficial e SH da ADJ em profundidade.

Quanto à similaridade esperada entre as SH e STH, os fatores que influenciam positivamente a CP2 sugerem que existe uma maior similaridade entre as STH\_HB e STH\_HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> com as SH dos solos. A similaridade observada se dá principalmente pelos BD, PH, HPA e baixa H/C, ou seja, está relacionada com a aromaticidade.

**Figura 26.** Gráfico dos scores (Figura 26a) e loads (Figura 26b) da componente principal 1 (PC1) versus componente principal 2 (PC2) aplicado aos dados de análise elementar e das áreas relativas das classes dos compostos identificados por *thermochemolysis* GC-MS e RMN nas amostras STH extraídas dos CH e SH de solos.



Fonte: Autoria Própria

### 5.3.10 Bioensaios em sementes de milho com aplicação de STH e SH

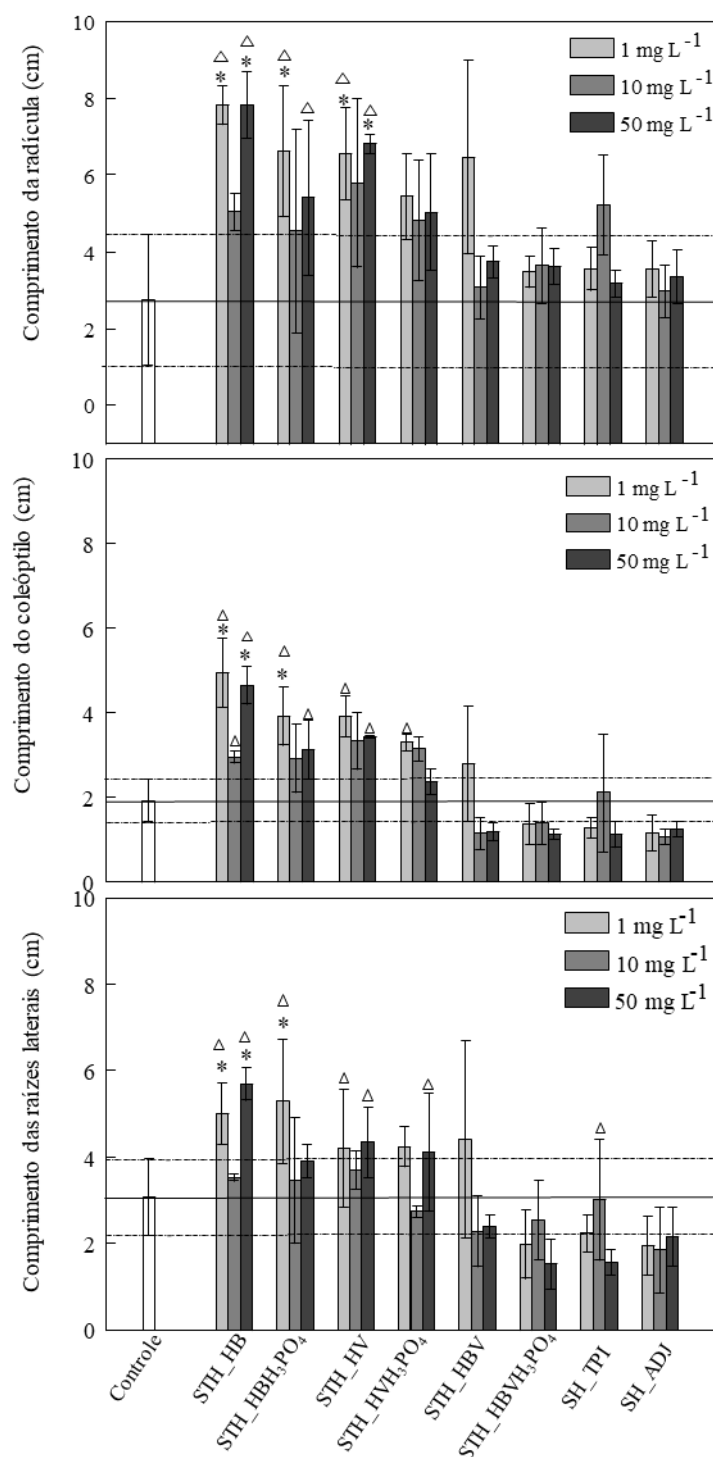
A Figura 27 mostra o comprimento do coleóptilo, radícula e raízes laterais com aplicações de STH e SH nas concentrações de 1, 10 e 50 mg L<sup>-1</sup> em termos de carbono orgânico total. A aplicação de STH\_HB (1 e 50 mg L<sup>-1</sup>) e STH\_HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (1 mg L<sup>-1</sup>) apresentou efeitos positivos no alongamento do coleóptilo, no comprimento da radícula e raízes laterais em relação ao controle. A STH\_HV apresentou um alongamento

positivo apenas na radícula na concentração de 1 e 50 mg L<sup>-1</sup>. Enquanto as outras STH não apresentaram qualquer diferença estatística em relação ao controle, ou seja, nem efeitos positivos nem negativos.

As SH de solo não apresentaram efeitos positivos no alongamento em relação ao controle, provavelmente pela concentração de ferro e alumínio ligados nos extratos húmicos do solo, enquanto que as STH têm baixa presença de componentes inorgânicos (baixo valor de cinzas) e os efeitos são causados pelo de carbono. A maior força iônica das soluções de SH pode ter limitado a capacidade de captação de raízes. Além disso, o Al e Fe ligados aumentam a rigidez molecular dos agregados húmicos, reduzindo assim a possível liberação de componentes bioativos (NEBBIOSO; PICCOLO, 2009).

Em geral, a STH mais bioativa foi a STH\_HB e a STH\_HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> que apresentaram alongamentos positivos em relações as demais STH, ao controle e as SH de solos. Embora alguns autores relatem efeitos negativos com a aplicação de CH em teste de germinação e aplicação diretamente no solo (BARGMANN et al., 2013, 2014), os resultados ressaltam que a biomassa, bem como as condições empregadas no processo HTC, produzem materiais com composições moleculares diferentes, sendo a composição molecular responsável pelos efeitos observados.

**Figura 27.** Comprimento do coleóptilo, da radícula e raízes laterais (cm) com aplicação de 1, 10 e 50 mg L<sup>-1</sup> de COT de STH de CH. As colunas (média ± D.P.) seguidas de asterisco (\*) indicam diferença estatística com p < 0,05 entre a STH e o controle, o triângulo (Δ) indica diferença estatística entre STH e SH de TPI. No caso Δ presente nas colunas TPI, indica diferenças com a SH do solo circundante.

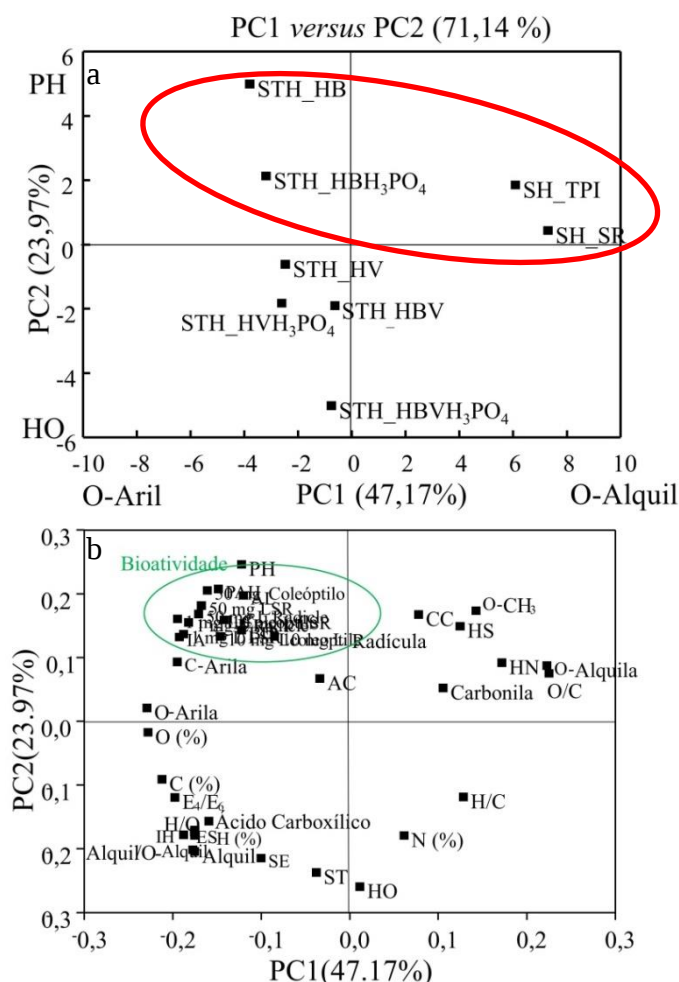


Fonte: Autoria própria

Foi realizada PCA entre a composição da STH e SH como ilustra a Figura 27 os scores (Figura 28a) e os loads (Figura 28b) que mostram a bioatividade causada pela composição das STH e SH. A PC1 corresponde a 47,17% da variância total e separou as SH dos solos pelo conteúdo O-aquil (scores positivos) e as HLS pelo conteúdo O-Aryl (scores negativos). Mostrando que o arranjo das STH é composto principalmente por unidade aromáticas ligadas a funções oxigenadas, enquanto as SH dos solos tem uma grande contribuição de compostos alifáticos ligados a funções oxigenadas. A PC2 corresponde a 23,97% da variância total e separou STH\_HB, STH\_HBH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, SH\_TPI e SH\_ADJ das demais STH pelo conteúdo fenólico (scores positivos). Assim, sugerindo que as STH são similares a SH pelo conteúdo fenólico. As STH da vinhaça e mistura de bagaço e vinhaça foram separadas por compostos heterocíclicos contendo oxigênio (scores negativos). O alinhamento das STH derivadas do CH de bagaço pelo conteúdo fenólico, pode ser devido a composição da biomassa, na qual o bagaço de cana-de-açúcar é composto principalmente por celulose (37,14%), hemicelulose (24,66%) e lignina (11,43%) (SILVA et al., 2017) e as SH dos solos são formadas principalmente pela deposição de tecidos vegetais o que pode explicar essa similaridade.

A bioatividade mostrou estar relacionada principalmente aos compostos fenólicos, pois a bioatividade das STH e SH que causaram o alongamento estão na região do gráfico juntamente com compostos fenólicos identificados por thermochemolysis GC-MS, e ressonância de O-Arila e C-Arila (Figura 27b). Os compostos fenólicos aplicados em plantas, assim como compostos aromáticos, parecem agir como efeito de auxina (SAVY et al., 2017; TANASE; BUJOR; POPA, 2019). Savy et al., (2017) relataram um alongamento da parte aérea e da raiz em plântulas de milho com a aplicação de extratos hidrossolúveis da lignina. A principal causa foi os compostos fenólicos que tiveram uma ação tipo hormônio (CANELLAS et al., 2010; CANELLAS; OLIVARES, 2014; ZANDONADI; CANELLAS; FAÇANHA, 2007).

**Figura 28.** Scores (A) da componente principal 1 (PC1) versus componente principal 2 (PC2) e loads (B) aplicado aos dados de análise elementar, área relativa das classes dos compostos identificados por *thermochemolysis* GC-MS e integração das áreas dos espectros de RMN.

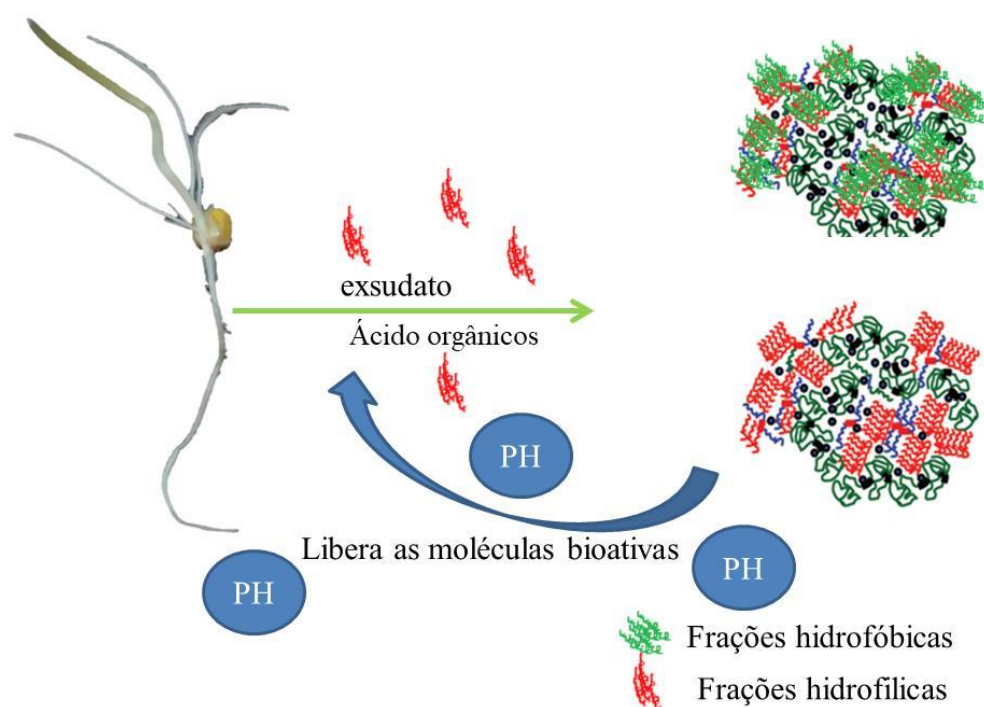


Fonte: Autoria própria

Sabe-se que os exsudatos podem exercer influência no crescimento das plantas (CANELLAS et al., 2019). Os exsudatos das plantas geralmente são compostos hidrofílicos, que podem se associar as substâncias húmicas rompendo as moléculas bioativas das STH para exercer sua bioatividade (CANELLAS et al., 2019). A presença de estruturas moleculares anfifílicas conferiu um arranjo nas STH dos CH de bagaço de cana-de-açúcar uma maior flexibilidade estrutural, para que as moléculas bioativas fossem liberadas e promovessem o crescimento das plantas (CANELLAS; OLIVARES, 2014; MONDA et al., 2017). Por outro lado, as STH extraídas dos CH da vinhaça e

mistura de bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça, contém um arranjo estrutural constituída por componentes mais hidrofóbicos (unidades alquílicas) que conferiram a STH uma maior rigidez estrutural, que podem ser os responsáveis pela menor efetividade no alongamento, na qual as moléculas bioativas não são capazes de serem liberadas da estrutura supramolecular, não apresentando melhoras no crescimento inicial devido a incapacidade de interagir com os substratos hidrofílicos como ilustra a Figura 29.

**Figura 29.** Estruturas das STH composta por moléculas majoritariamente hidrofóbicas e STH composta por componentes hidrofóbicos e hidrofílicos.



Fonte: Autoria própria utilizando o modelo de estrutura supramolecular de Piccolo and Nebbioso (2011).

## 6 Conclusão

O processo de carbonização hidrotérmica do bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça converteu a biomassa em um CH rico em carbono, com maior complexidade estrutural em relação à biomassa de partida, pois a degradação das estruturas polissacarídicas (O-alquil) e síntese de novos componentes alifáticos e aromáticos foram evidenciadas por RMN. As biomassas utilizadas (bagaço de cana-de-açúcar e vinhaça) geraram um CH com diferentes composições, sendo que o bagaço contribuiu para formação de estruturas aromáticas enquanto a vinhaça contribuiu para um CH com estruturas mais alifáticas. A adição de ácido fosfórico privilegiou a degradação da biomassa e uma maior aromatização do material. Além disso, causou a diminuição de nutrientes nos CH das biomassas isoladas aumentando o nutriente somente do aditivo.

As STH apresentaram-se menos aromática do que os CH e mais oxidadas (presença maior de ácidos carboxílicos e carbonilas). As STH extraídas dos CH produzidos sem adição ácido no meio reacional possuem maior número de substituintes (oxigenados e nitrogenados) em relação às STH extraídas de CH com ácido, esses substituintes estão principalmente na forma de hidroxilas de fenóis e nitrogênio em compostos heterocíclicos, identificados por *thermochemolysis GC-MS*.

As informações moleculares obtidas das SH indicaram que as SH da camada superficial TPI são mais aromáticas, pela maior estabilidade térmica, menores razões atômicas H/C e rigidez estrutural causada por anéis aromáticos policondensados que diminuíram a intensidade fluorescente. Além do deslocamento e maior definição do pico relacionado C-aril no espectro de RMN. Enquanto as SH de solo de área adjacente mostrou menor estabilidade térmica, maiores razões atômicas H/C e maior intensidade fluorescente causada pela presença de estruturas moleculares menores e maior número de grupos substituintes. As SH dos solos sofreram variações composicionais em profundidade, na qual as SH da TPI se apresentaram mais humificadas em superfície enquanto as SH do solo adjacente em profundidade. Os dados indicam que a MO da TPI foi estabilizada no solo por dois processos: (i) a estabilização causada pela hidrofobicidade devido a queima antropogênica de materiais orgânicos e (ii) estabilização pela interação organo-mineral, pois está mais ligada aos minerais do solo (Fe e Al) e a outros elementos metálicos e não-metálicos de origem antropogênica. Assim, a diferença composicional da estrutura húmica da TPI e a interação organo-mineral é o principal fator para o estoque de carbono nesses solos.

As STH apresentam uma estrutura supramolecular composta principalmente por frações aromáticas e alifáticas, o que se diferencia das SH dos solos que possuem uma maior funcionalização por grupos oxigenados. As classes de compostos identificados presentes nas estruturas supramoleculares estão presentes tanto nas SH quanto nas STH, diferenciando apenas as quantidades. Ainda, as STH apresentaram alta hidrofobicidade causada pelas unidades alquílicas e aromáticas, que podem ter propriedade similar as partículas de carbono presente na TPI para estoque de carbono.

A diferente composição molecular das STH causaram diferentes comportamentos em solução. As STH mais hidrofóbicas se mostraram capazes de formarem agregados hidrofóbicos estáveis em solução e não foram capazes de exercerem bioatividade. Enquanto as STH anfifílicas mostraram a capacidade de se rearranjarem e liberarem moléculas bioativas. Já as STH de solos, embora mais polares que as STH se mostraram estáveis em solução, possivelmente a um arranjo supramolecular mais estável pela ligação com íons ferro e alumínio. A bioatividade apresentada pelas STH está relacionada principalmente aos compostos fenólicos e ao arranjo anfifílico das STH isoladas de CH de bagaço de cana-de-açúcar. Na qual uma STH anfifílica, mostrou-se capaz de interagir com exudatos e liberar moléculas bioativas causando uma atividade do tipo hormônio aumentando o coleóptilo, radícula e raízes laterais.

## 7 Referências

APHA/AWWA/WEF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. **Standard Methods**, p. 541, 2012.

ARCHANJO, B. S. et al. Chemical analysis and molecular models for calcium-oxygen-carbon interactions in black carbon found in fertile amazonian anthrosoils. **Environmental Science and Technology**, v. 48, n. 13, p. 7445–7452, 2014.

ASTM. ASTM D2974-14. Standard Test Methods for Moisture , Ash , and Organic Matter of Peat and Other.

BARGMANN, I. et al. Hydrochar and biochar effects on germination of spring barley. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 199, n. 5, p. 360–373, 2013.

BARGMANN, I. et al. Effects of hydrochar application on the dynamics of soluble nitrogen in soils and on plant availability. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 177, n. 1, p. 48–58, 2014.

BEESLEY, L. et al. A review of biochars' potential role in the remediation, revegetation and restoration of contaminated soils. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 12, p. 3269–3282, 2011.

BENTO, L. R. et al. Release of nutrients and organic carbon in different soil types from hydrochar obtained using sugarcane bagasse and vinasse. **Geoderma**, v. 334, p. 24–32, 2019.

BONASSA, G. et al. Subprodutos Gerados na Produção de Bioetanol: Bagaço Torta de Filtro água de Lavagem e Palhagem. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, n. 4, p. 144–166, 2015.

BRAVARD, S.; RIGHI, D. Characterization of fulvic and humic acids from an oxisol-spodosol toposequence of Amazonia, Brazil. **Geoderma**, v. 48, n. 1–2, p. 151–162, 1991.

BRO, R. PARAFAC. Tutorial and applications. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 38, n. 2, p. 149–171, 1997.

CANELLAS, L. P. et al. Chemical composition and bioactivity properties of size-fractions separated from a vermicompost humic acid. **Chemosphere**, v. 78, n. 4, p. 457–466, 2010.

CANELLAS, L. P. et al. Humic acids increase the maize seedlings exudation yield. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 6, n. 3, p. 1–14, 2019.

CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 1, n. 3, p. 1–11, 2014.

CAO, X. et al. Comparative study of the pyrolysis of lignocellulose and its major components: Characterization and overall distribution of their biochars and volatiles. **Bioresource Technology**, v. 155, p. 21–27, 2014.

CENCIANI, K. et al. Bacteria diversity and microbial biomass in forest, pasture and fallow soils in the southwestern Amazon basin. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**,

v. 33, n. 4, p. 907–916, 2009.

CHEN, W. H.; YE, S. C.; SHEEN, H. K. Hydrothermal carbonization of sugarcane bagasse via wet torrefaction in association with microwave heating. **Bioresource Technology**, v. 118, p. 195–203, 2012.

CHEN, X. et al. Hydrochar production from watermelon peel by hydrothermal carbonization. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 236–243, 2017.

CHIAPINI, M. et al. Formation of black carbon rich ‘ sombric ’ horizons in the subsoil – A case study from subtropical Brazil. **Geoderma**, v. 314, n. October 2017, p. 232–244, 2018.

CHRISTOFOLETTI, C. A. et al. Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. **Waste Management**, v. 33, n. 12, p. 2752–2761, 2013.

COCOZZA, C. et al. Characterization of solid and aqueous phases of a peat bog profile using molecular fluorescence spectroscopy, ESR and FT-IR, and comparison with physical properties. **Organic Geochemistry**, v. 34, n. 1, p. 49–60, 2003.

COSTA, M. L. DA; KERN, D. C.; KAMPF, N. Pedogeochemical and mineralogical analyses of Amazonian dark earths. In: LEHMANN, J. et al. (Eds.). **Amazonian Dark Earths: Origin Properties Management**. [s.l.] Kluwer Academic Publisher, p. 33–352, 2003.

CUNHA, T. J. F. et al. Soil organic matter and fertility of anthropogenic dark earths (Terra Pretta de Índio) in the Brazilian Amazon basin. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 33, n. 33, p. 85–93, 2009.

DE LA ROSA, J. M. et al. Use of pyrolysis/GC-MS combined with thermal analysis to monitor C and N changes in soil organic matter from a Mediterranean fire affected forest. **Catena**, v. 74, n. 3, p. 296–303, 2008.

DE MASTRO, F. et al. Influence of crop rotation, tillage and fertilization on chemical and spectroscopic characteristics of humic acids. **Plos One**, v. 14, n. 6, p. 1–15, 2019.

DE MELO BENITES, V. et al. Properties of black soil humic acids from high altitude rocky complexes in Brazil. **Geoderma**, v. 127, n. 1–2, p. 104–113, 2005.

DE PAOLIS, F.; KUKKONEN, J. Binding of organic pollutants to humic and fulvic acids: Influence of pH and the structure of humic material. **Chemosphere**, v. 34, n. 8, p. 1693–1704, 1997.

DIGNAC, M. F.; KNICKER, H.; KOEHL-KNABNER, I. Effect of N content and soil texture on the decomposition of organic matter in forest soils as revealed by solid-state CPMAS NMR spectroscopy. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, v. 33, n. 12, p. 1715–1726, 2003.

DROSOS, M.; NEBBIOSO, A.; PICCOLO, A. Humeomics: A key to unravel the humus pentagram. **Applied Soil Ecology**, v. 123, n. July 2017, p. 513–516, 2018.

DROSOS, M.; PICCOLO, A. The molecular dynamics of soil humus as a function of tillage. **Land Degradation and Development**, v. 29, p. 1792–1805, 2018.

- DUNGAIT, J. A. J. et al. Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. **Global Change Biology**, v. 18, p. 1781–1796, 2012.
- EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de métodos de análise de solo**. Brasília, DF: EMBRAPA, 2017.
- EUSTERHUES, K.; RUMPEL, C.; KÖGEL-KNABNER, I. Organo-mineral associations in sandy acid forest soils: Importance of specific surface area, iron oxides and micropores. **European Journal of Soil Science**, v. 56, n. 6, p. 753–763, 2005.
- FAO. **Top 10 Commodities Production in Brazil**. Disponível em: <[www.fao.org/faostat/en/#rankings/commodities\\_by\\_country](http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/commodities_by_country)>. Acesso em: 2 jun. 2019.
- GLASER, B. et al. The “Terra Preta” phenomenon: A model for sustainable agriculture in the humid tropics. **Naturwissenschaften**, v. 88, n. 1, p. 37–41, 2001.
- GLASER, B.; BIRK, J. J. State of the scientific knowledge on properties and genesis of Anthropogenic Dark Earths in Central Amazonia (terra preta de índio). **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 82, p. 39–51, 2012.
- GREGORY, P. J. Roots, rhizosphere and soil: The route to a better understanding of soil science? **European Journal of Soil Science**, v. 57, p. 2–12, 2006.
- HUANG, X. et al. Redox interface-associated organo-mineral interactions: A mechanism for C sequestration under a rice-wheat cropping system. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 120, p. 12–23, 2018.
- INCERTI, G. et al. OMDY: a new model of organic matter decomposition based on biomolecular content as assessed by <sup>13</sup>C-CPMAS-NMR. **Plant and Soil**, v. 411, n. 1–2, p. 377–394, 2017.
- ISLAM, M. Z. et al. Humic substances - versatile natural products: Properties & applications. In: **19 th international conference of humic substances society; Humic substances and their Contribution to the Climate Change Mitigation**. Sofia: Bulgarian Humic Substances Society, p. 44–52, 2018.
- JANZEN, H. The Future of Humic Substances Research: Preface to a Debate. **Journal of Environment Quality**, v. 48, p. 205–206, 2019.
- JELVEZ SERRA, N. S. et al. Identification of stable fly attractant compounds in vinasse, a byproduct of sugarcane–ethanol distillation. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 31, n. 4, p. 381–391, 2017.
- JENNY, H. **Factors of soil formation: a system of quantitative pedology**. Chicago: Courier Corporation, 1994.
- KAMBO, H. S.; DUTTA, A. A comparative review of biochar and hydrochar in terms of production, physico-chemical properties and applications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 45, p. 359–378, 2015.
- KEILUWEIT, M. et al. Dynamic molecular structure of plant biomass-derived black carbon (biochar). **Environmental Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 1247–1253, 2010.

KERN, D. C. ; et al. Distribution of Amazonian Dark Earths in the Brazilian Amazon. In: **Amazonian Dark Earths**. [s.l.] Springer, p. 51–75, 2004.

KERN, J. et al. What can we learn from ancient fertile anthropic soil (Amazonian Dark Earths, shell mounds, Plaggen soil) for soil carbon sequestration? **Catena**, v. 172, p. 104–112, 2019.

KLEBER, M. et al. Old and stable soil organic matter is not necessarily chemically recalcitrant: Implications for modeling concepts and temperature sensitivity. **Global Change Biology**, 2011.

KLEBER, M.; LEHMANN, J. Humic Substances Extracted by Alkali Are Invalid Proxies for the Dynamics and Functions of Organic Matter in Terrestrial and Aquatic Ecosystems. **Journal of Environment Quality**, v. 48, n. 2, p. 207, 2019.

KONONOVA, M. M. Soil Organic Matter: Its Nature, Its Role in Soil Formation and in Soil Fertility. **Pergamon Press**, n. 2, p. 531, 1966.

LAL, R. Soil conservation and ecosystem services. **International Soil and Water Conservation Research**, v. 2, n. 3, p. 36–47, 2014.

LAL, R. Accelerated Soil erosion as a source of atmospheric CO<sub>2</sub>. **Soil and Tillage Research**, v. 188, p. 35–40, 2019.

LEHMANN, J.; KLEBER, M. The contentious nature of soil organic matter. **Nature**, v. 528, n. 7580, p. 60–68, 2015.

LENG, L. et al. Biochar stability assessment methods: A review. **Science of the Total Environment**, v.647, p.210-222, 2019.

LIMA, A. F. L. DE et al. Spatial variability and sampling density of chemical attributes in archaeological black earths under pasture in southern Amazonas , Brazil. **Soil Discussions**, n. June, p. 1–17, 2019.

LU, X.; FLORA, J. R. V; BERGE, N. D. Influence of process water quality on hydrothermal carbonization of cellulose. **Bioresource Technology**, v. 154, p. 229–239, 2014.

LUCIANI, X. et al. A simple correction method of inner filter effects affecting FEEM and its application to the PARAFAC decomposition. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 96, n. 2, p. 227–238, 2009.

LYRA, M. R. C. C.; ROLIM, M. M.; SILVA, J. A. A DA. Topossequência de solos fertigados com vinhaça: contribuição para a qualidade das águas do lençol freático. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, n. 3, p. 525–532, 2003.

MANGRICH, A. S. et al. Improving the Water Holding Capacity of Soils of Northeast Brazil by Biochar Augmentation. **ACS Symposium Series**, v. 1206, p. 339–354, 2015.

MCKEAGUE, J. A.; BRYDON, J. E.; MILES, N. M. Differentiation of Forms of Extractable Iron and Aluminum in Soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 35, n. 1, p. 33, 1971.

MEHRA, O. P.; JACKSON, M. L. Iron oxide removal from soils and clays by a

dithionite - citrate systems buffered with sodium bicarbonate. **Clays and Clay Minerals, Proc. 7th Nath. Conf.**, p. 317-327., 1960.

MELO, C. A. et al. Transforming Sugarcane Bagasse and Vinasse Wastes into Hydrochar in the Presence of Phosphoric Acid: An Evaluation of Nutrient Contents and Structural Properties. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, n. 4, p. 1–13, 2017.

MELO, C. DE A. et al. **Method for producing organo-mineral fertilizer by hydrothermal carbonisation of sugarcane vinasse and bagasse and thus obtained productle**. Brazil, 2016.

MONDA, H. et al. Molecular characteristics of water-extractable organic matter from different composted biomasses and their effects on seed germination and early growth of maize. **Science of the Total Environment**, v. 590–591, p. 40–49, 2017.

MONDA, H. et al. Molecular composition of the Humeome extracted from different green composts and their biostimulation on early growth of maize. **Plant and Soil**, v. 429, p. 407-424, 2018.

MOUNIER, S. et al. Fluorescence 3D de la matiere organique dissoute du fleuve amazone: (Three-dimensional fluorescence of the dissolved organic carbon in the Amazon river). **Water Research**, v. 33, p. 1523-1533, 1999.

MOUNIER, S. et al. Copper complexing properties of dissolved organic matter: PARAFAC treatment of fluorescence quenching. **Biogeochemistry**, v. 106, n. 1, p. 107–116, 2011.

MYNENI, S. C. B. Chemistry of Natural Organic Matter—The Next Step: Commentary on a Humic Substances Debate. **Journal of Environment Quality**, v. 48, n. 2, p. 233, 2019.

NARZARI, R. et al. Fabrication of biochars obtained from valorization of biowaste and evaluation of its physicochemical properties. **Bioresource Technology**, v. 242, p. 324–328, 2017.

NEBBIOSO, A.; PICCOLO, A. Molecular rigidity and diffusivity of  $Al^{3+}$  And  $Ca^{2+}$  humates as revealed by NMR spectroscopy. **Environmental Science and Technology**, v. 43, p. 2417–2424, 2009.

NEBBIOSO, A.; PICCOLO, A. Basis of a humeomics science: Chemical fractionation and molecular characterization of humic biosuprastructures. **Biomacromolecules**, v. 12, n. 4, p. 1187–1199, 2011.

NEBBIOSO, A.; PICCOLO, A. Advances in humeomics: Enhanced structural identification of humic molecules after size fractionation of a soil humic acid. **Analytica Chimica Acta**, v. 720, p. 77–90, 2012.

NOVOTNY, E. H. et al. Lessons from the Terra Preta de Índios of the Amazon Region for the utilisation of charcoal for soil amendment. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 6, p. 1003–1010, 2009.

OLIVEIRA, N. C. et al. Morphological analysis of soil particles at multiple length-scale reveals nutrient stocks of Amazonian Anthrosols. **Geoderma**, v. 311, n. August 2017, p. 58–66, 2018.

- OLK, D. C. et al. Environmental and Agricultural Relevance of Humic Fractions Extracted by Alkali from Soils and Natural Waters. **Journal of Environment Quality**, v. 48, p. 217–232, 2019.
- ORAZIO, V. D.; TRAVERSA, A. Forest soil organic carbon dynamics as affected by plant species and their corresponding litters : a fluorescence spectroscopy approach. p. 473–484, 2014.
- PAGANO, M. C. et al. Depth dependence of black carbon structure, elemental and microbiological composition in anthropic Amazonian dark soil. **Soil and Tillage Research**, v. 155, p. 298–307, 2016.
- PAVIA, D. L. et al. **Introduction to spectroscopy**. 5 ed. Stamford: Cengage Learning, 2009.
- PICCOLO, A. **Humus and Soil Conservation**. Elsevier B.V., 1996.
- PICCOLO, A. the Supramolecular Structure of Humic Substances. **Soil Science**, v. 166, n. 11, p. 810–832, 2001.
- PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. **Advances in Agronomy**, v. 75, p. 57–134, 2002.
- PICCOLO, A. et al. The Molecular Composition of Humus Carbon: Recalcitrance and Reactivity in Soils. In: GARCIA, C.; NANNIPIERI, P.; HERNANDEZ, T. (Eds.). **The Future of Soil Carbon**. 1st Editio ed. p.87-124, 2018.
- PICCOLO, A. et al. The Soil Humeome: Chemical Structure , Functions and Technological Perspectives. In: SÍLVIO VAZ JR. (Ed.). **Sustainable Agrochemistry**. [s.l.] Springer, Cham, p. 183–222, 2019a.
- PICCOLO, A. et al. Soil washing with solutions of humic substances from manure compost removes heavy metal contaminants as a function of humic molecular composition. **Chemosphere**, v. 225, p. 150–156, 2019b.
- POGGERE, G. C. et al. Maghemite quantification and magnetic signature of Brazilian soils with contrasting parent materials. **Applied Clay Science**, v. 161, n. May, p. 385–394, 2018.
- PRATIWI, E. P. A. et al. The effects of rice husk char on ammonium, nitrate and phosphate retention and leaching in loamy soil. **Geoderma**, v. 277, p. 61–68, 2016.
- 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**, 2011.
- REZA, M. T. et al. Hydrothermal Carbonization of Biomass for Energy and Crop Production. **Applied Bioenergy**, v. 1, n. 1, p. 11–29, 2014a.
- REZA, M. T. et al. Behavior of selected hydrolyzed and dehydrated products during hydrothermal carbonization of biomass. **Bioresource Technology**, v. 169, p. 352–361, 2014b.

- RILLIG, M. C. et al. Material derived from hydrothermal carbonization: Effects on plant growth and arbuscular mycorrhiza. **Applied Soil Ecology**, v. 45, n. 3, p. 238–242, 2010.
- ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. **Susbtâncias Húmicas Aquáticas: Interação com Espécies Metálicas**. 1. ed. São Paulo: UNESP, 2003.
- RODRÍGUEZ, F. J.; NÚÑEZ, L. A. Characterization of aquatic humic substances. **Water and Environment Journal**, v. 25, n. 2, p. 163–170, 2011.
- SAVY, D. et al. Humic-Like Water-Soluble Lignins from Giant Reed (*Arundo donax* L.) Display Hormone-Like Activity on Plant Growth. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 36, n. 4, p. 995–1001, 2017.
- SCHELLEKENS, J. et al. Molecular composition of several soil organic matter fractions from anthropogenic black soils (Terra Preta de Índio) in Amazonia — A pyrolysis-GC/MS study. **Geoderma**, v. 288, p. 154–165, 2017.
- SCHWERTMANN, U. Differenzierung der Eisenoxide des Bodens durch Extraktion mit Ammoniumoxalat-Lösung. **Zeitschrift für Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde**, v. 105, n. 3, p. 194–202, 1964.
- SENESI, N.; MIANO, T. **Characterization, differentiation, and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy**. *Soil Science*, 1991.
- SILVA, C. C. et al. Effect of the reaction medium on the immobilization of nutrients in hydrochars obtained using sugarcane industry residues. **Bioresource Technology**, v. 237, p. 213–221, 2017.
- SILVA, M. A. S. DA; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 108–114, 2007.
- SÖDERSTRÖM, M. et al. Sensor mapping of Amazonian Dark Earths in deforested croplands. **Geoderma**, v. 281, p. 58–68, 2016.
- SONG, G. et al. Isolation and fractionation of soil humin using alkaline urea and dimethylsulphoxide plus sulphuric acid. **Naturwissenschaften**, v. 98, n. 1, p. 7–13, 2011.
- SPACCINI, R. et al. Transformation of organic matter from maize residues into labile and humic fractions of three European soils as revealed by <sup>13</sup>C distribution and CPMA-S-NMR spectra. **European Journal of Soil Science**, v. 51, p. 583–94, 2000.
- SPACCINI, R. et al. Molecular Characterization of a Compost and Its Water-Soluble Fractions. **Journal of Agricultural and food chemistry**, v. 56, p. 1017–1024, 2008.
- SPACCINI, R. et al. Molecular evaluation of soil organic matter characteristics in three agricultural soils by improved off-line thermochemolysis: The effect of hydrofluoric acid demineralisation treatment. **Analytica Chimica Acta**, v. 802, p. 46–55, 2013.
- SPACCINI, R. et al. Bioactivity of humic substances and water extracts from compost made by ligno-cellulose wastes from biorefinery. **Science of the Total Environment**, v. 646, p. 792–800, 2019.

- SPACCINI, R.; PICCOLO, A. Molecular characteristics of humic acids extracted from compost at increasing maturity stages. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 6, p. 1164–1172, 2009a.
- SPACCINI, R.; PICCOLO, A. Molecular characteristics of humic acids extracted from compost at increasing maturity stages. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 6, p. 1164–1172, 2009b.
- SPOKAS, K. A. Review of the stability of biochar in soils: predictability of O:C molar ratios. **Carbon Management**, v. 1, n. 2, p. 289–303, 2010.
- STEHLICKOVA, L. et al. Intensification of phenol biodegradation by humic substances. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 63, n. 7, p. 923–927, 2009.
- STEVENSON, F. J. Structural Basis of Humic Substances. In: **Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions**. 1994.
- SUN, J. et al. The molecular properties of biochar carbon released in dilute acidic solution and its effects on maize seed germination. **Science of the Total Environment**, v. 576, p. 858–867, 2017.
- TADINI, A. M. et al. The importance of humin in soil characterisation: A study on Amazonian soils using different fluorescence techniques. **Science of the Total Environment**, v. 537, p. 152–158, 2015a.
- TADINI, A. M. et al. Characterization of typical aquatic humic substances in areas of sugarcane cultivation in Brazil using tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis. **Science of the Total Environment**, v. 518–519, p. 201–208, 2015b.
- TADINI, A. M. et al. Off-line TMAH-GC/MS and NMR characterization of humic substances extracted from river sediments of northwestern São Paulo under different soil uses. **Science of The Total Environment**, v. 506–507, p. 234–40, 2015c.
- TADINI, A. M. et al. Soil organic matter in podzol horizons of the Amazon region: Humification, recalcitrance, and dating. **Science of the Total Environment**, v. 613–614, p. 160–167, 2018.
- TANASE, C.; BUJOR, O.-C.; POPA, V. I. Phenolic Natural Compounds and Their Influence on Physiological Processes in Plants. In: WATSON, R. R. (Ed.). **Polyphenols in Plants**. [s.l.] Elsevier, p. 45–58, 2019.
- TEIXEIRA, W. G. . et al. **As Terras Pretas de Índio da Amazônia: Sua caracterização e uso desse conhecimento na criação de novas áreas**. [s.l.] Embrapa Amazônia Ocidental, 2009.
- THINES, K. R. . et al. Synthesis of magnetic biochar from agricultural waste biomass to enhancing route for waste water and polymer application: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 67, p. 257–276, 2017.
- TITIRICI, M.-M. et al. Black perspectives for a green future: hydrothermal carbons for environment protection and energy storage. **Energy & Environmental Science**, v. 5, n. 5, p. 6796, 2012.

- TRAVERSA, A. et al. Chemical and spectroscopic characteristics of humic acids and dissolved organic matter along two Alfisol profiles. **Chemosphere**, v. 111, p. 184–194, 2014.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. Soil and waste pH. **Statewide Agricultural Land Use Baseline 2015**, n. November, p. 1–5, 2015.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. Method 3050B - Acid digestion of sediments, sludges, and soils. **1996**, n. December, p. 12, 1996.
- Van-Camp. L. et al. Reports of the Technical Working Groups Established under the Thematic Strategy for Soil Protection. EUR 21319 EN/5, 872 pp. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 2004.
- VAN KREVELEN, D. W. Organic geochemistry-old and new. **Organic Geochemistry**, v. 6, n. C, p. 1–10, 1984.
- WANG, T. et al. A review of the hydrothermal carbonization of biomass waste for hydrochar formation: Process conditions, fundamentals, and physicochemical properties. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 90, p. 223–247, 2018.
- WHITE, R. A. et al. The state of rhizospheric science in the era of multi-omics: A practical guide to omics technologies. **Rhizosphere**, v. 3, n. May, p. 212–221, 2017.
- XU, Y. et al. Opal promotes hydrothermal carbonization of hydroxypropyl methyl cellulose and formation of carbon nanospheres. **RSC Advances**, v. 8, n. 36, p. 20095–20107, 2018.
- YANG, Y. et al. Effect of minerals on the stability of biochar. **Chemosphere**, v. 204, p. 310–317, 2018.
- ZANDONADI, D. B.; CANELLAS, L. P.; FAÇANHA, A. R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. **Planta**, v. 225, n. 6, p. 1583–1595, 2007.
- ZHOU, N. et al. Effect of phosphoric acid on the surface properties and Pb(II) adsorption mechanisms of hydrochars prepared from fresh banana peels. **Journal of Cleaner Production**, v. 165, p. 221–230, 2017.

**APÊNDICE A- Número de carbonizações e massa obtida**

**Tabela 1A.** Número de carbonizações realizadas para produção de carvão hidrotérmico usando bagaço, vinhaça, como também a mistura de bagaço e vinhaça com e sem adição de ácido.

| Carvão hidrotérmico                                   | Número de reações | Massa obtida (g) |
|-------------------------------------------------------|-------------------|------------------|
| <b>Bagaço + H<sub>2</sub>O</b>                        | <b>30</b>         | <b>247,37</b>    |
| <b>Bagaço + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub></b>           | <b>33</b>         | <b>244,52</b>    |
| <b>Vinhaça</b>                                        | <b>21</b>         | <b>176,09</b>    |
| <b>Vinhaça + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub></b>          | <b>15</b>         | <b>116,68</b>    |
| <b>Bagaço + Vinhaça</b>                               | <b>18</b>         | <b>310,65</b>    |
| <b>Bagaço + Vinhaça + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub></b> | <b>16</b>         | <b>361,91</b>    |

Fonte: Autoria Propria

**APÊNDICE B- Condições instrumentais para determinação dos elementos por espectroscopia de absorção atômica com atomização por chama**

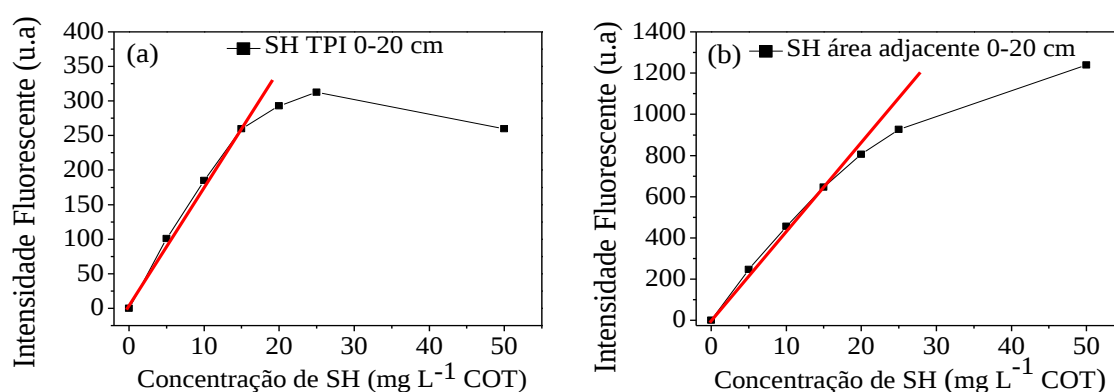
**Tabela 2A.** Condições instrumentais para determinação dos elementos alumínio (Al), cálcio (Ca), cobre(Cu), ferro(Fe), potássio(K), magnésio(Mg), manganês(Mn), sódio(Na) e zinco (Zn).

| Elemento | Comp. de onda (nm) | Corrente da Lâmpada (mA) | Chama                      | Estequiometria da chama (L min <sup>-1</sup> ) |
|----------|--------------------|--------------------------|----------------------------|------------------------------------------------|
| Al       | 309,3              | 10                       | N <sub>2</sub> O/Acetileno | Oxidante (13,50/2,00)                          |
| Ca       | 239,0              | 10                       | N <sub>2</sub> O/Acetileno | Oxidante (11,20/7,15)                          |
| Cu       | 324,7              | 4                        | Ar/Acetileno               | Oxidante (13,50/2,00)                          |
| Fe       | 248,3              | 5                        | Ar/Acetileno               | Oxidante (13,50/2,00)                          |
| K        | 766,5              | -                        | Ar/Acetileno               | Oxidante (13,50/2,00)                          |
| Mg       | 202,6              | 4                        | Ar/Acetileno               | Oxidante (13,50/2,00)                          |
| Mn       | 279,5              | 5                        | Ar/Acetileno               | Oxidante (13,50/2,00)                          |
| Na       | 589,9              | -                        | Ar/Acetileno               | Oxidante (13,50/2,00)                          |
| Zn       | 213,9              | 5                        | Ar/Acetileno               | Oxidante                                       |

### APÊNDICE C- Teste da melhor concentração de material húmico a ser empregado nas caracterizações por fluorescência molecular

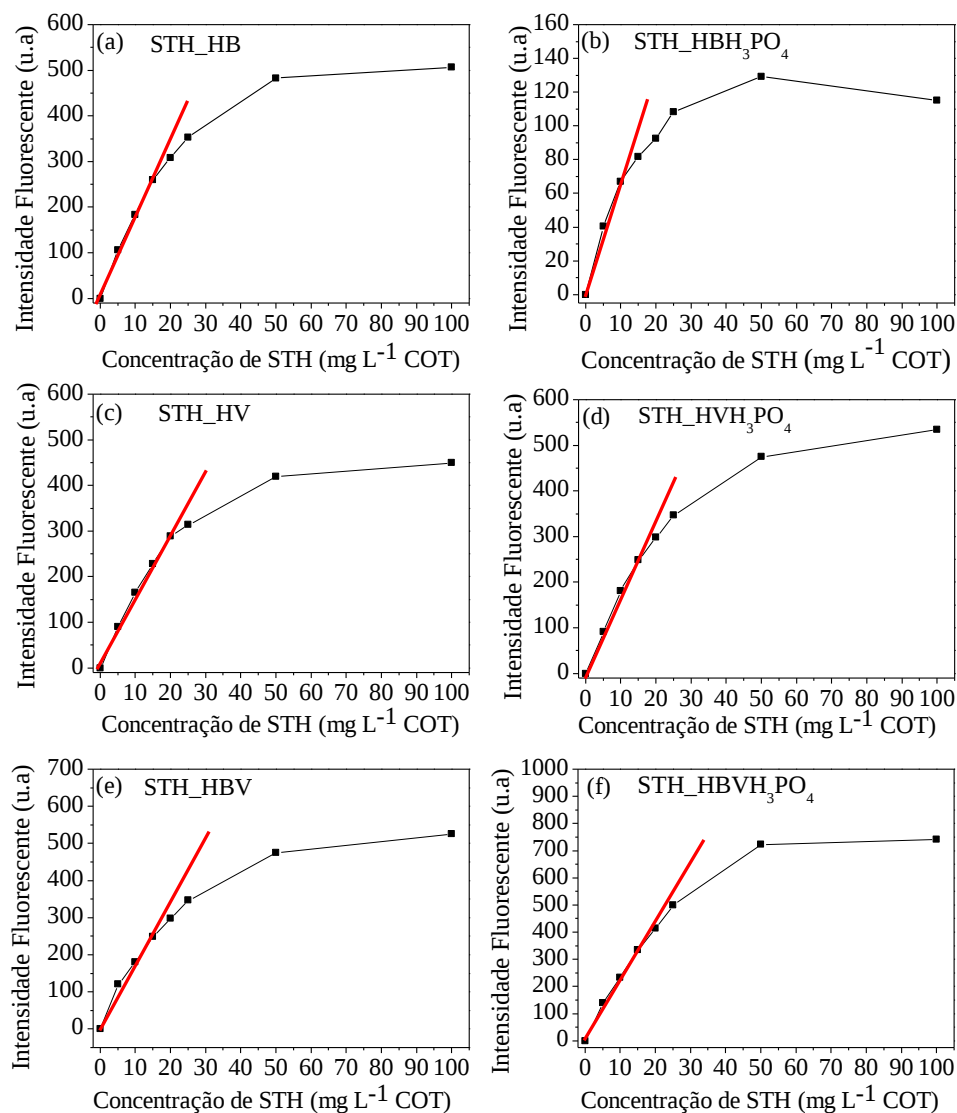
A melhor concentração foi avaliada através da intensidade máxima apresentada pelo espectro de emissão a cada concentração de substância húmica testada. Conforme aumenta-se a concentração, não se tem uma linearidade de emissão causada pelo efeito de filtro. Logo, a melhor concentração para os experimentos foi a que apresentou ponto médio entre a reta traçada das concentrações testadas que tiveram aumento linear da intensidade fluorescente ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ).

**Figura 1A.** Avaliação da melhor concentração a ser utilizada nas caracterizações por fluorescência molecular das substâncias dos solos TPI (a) e do solos de área adjacente(b).



Fonte: Autoria Própria

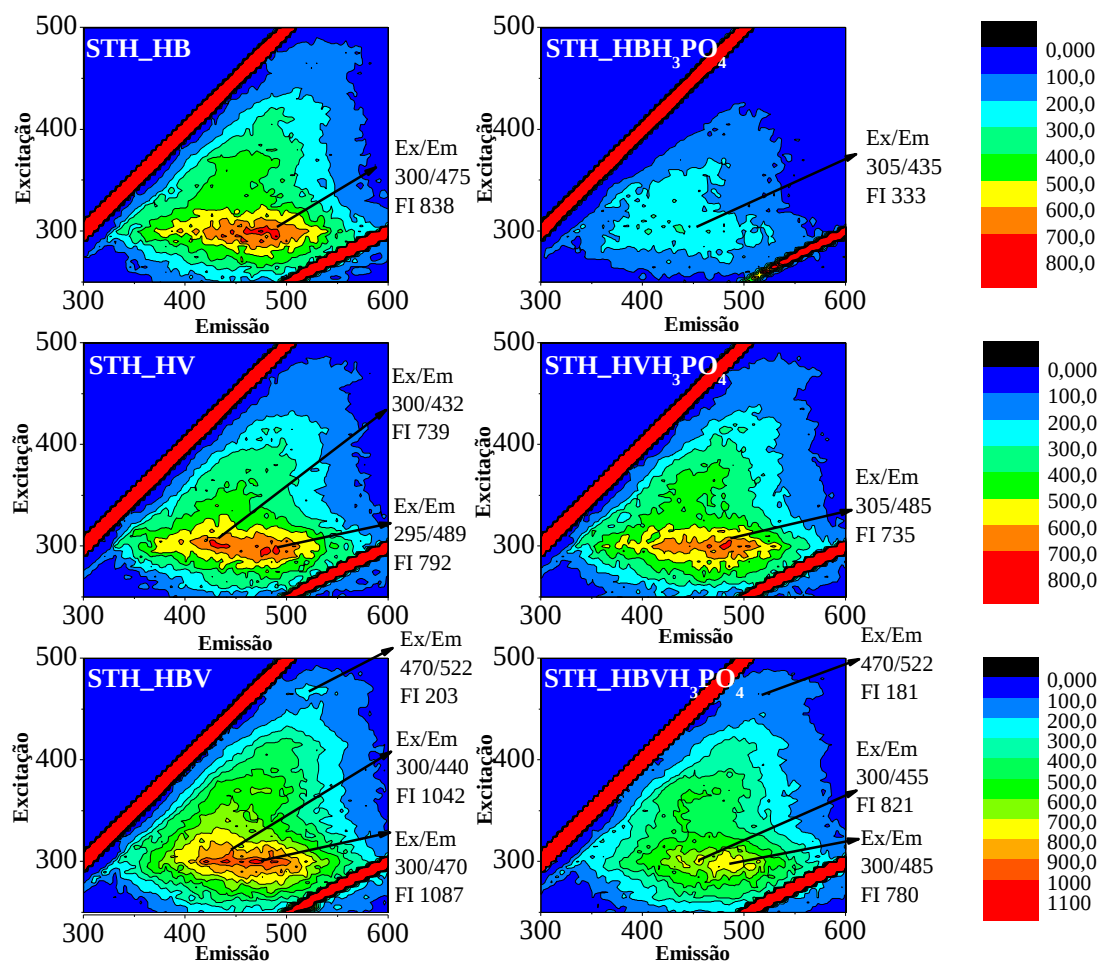
**Figura 2A.** Avaliação da melhor concentração a ser utilizada nas caracterizações por fluorescência molecular das substâncias tipo húmicas extraídas do carvão hidrotérmico de bagaço e água (a), bagaço e ácido(b), vinhaça (c), vinhaça e ácido (d), mistura bagaço e vinhaça (e) e mistura bagaço e vinhaça com adição de ácido (f).



Fonte: Autoria Própria

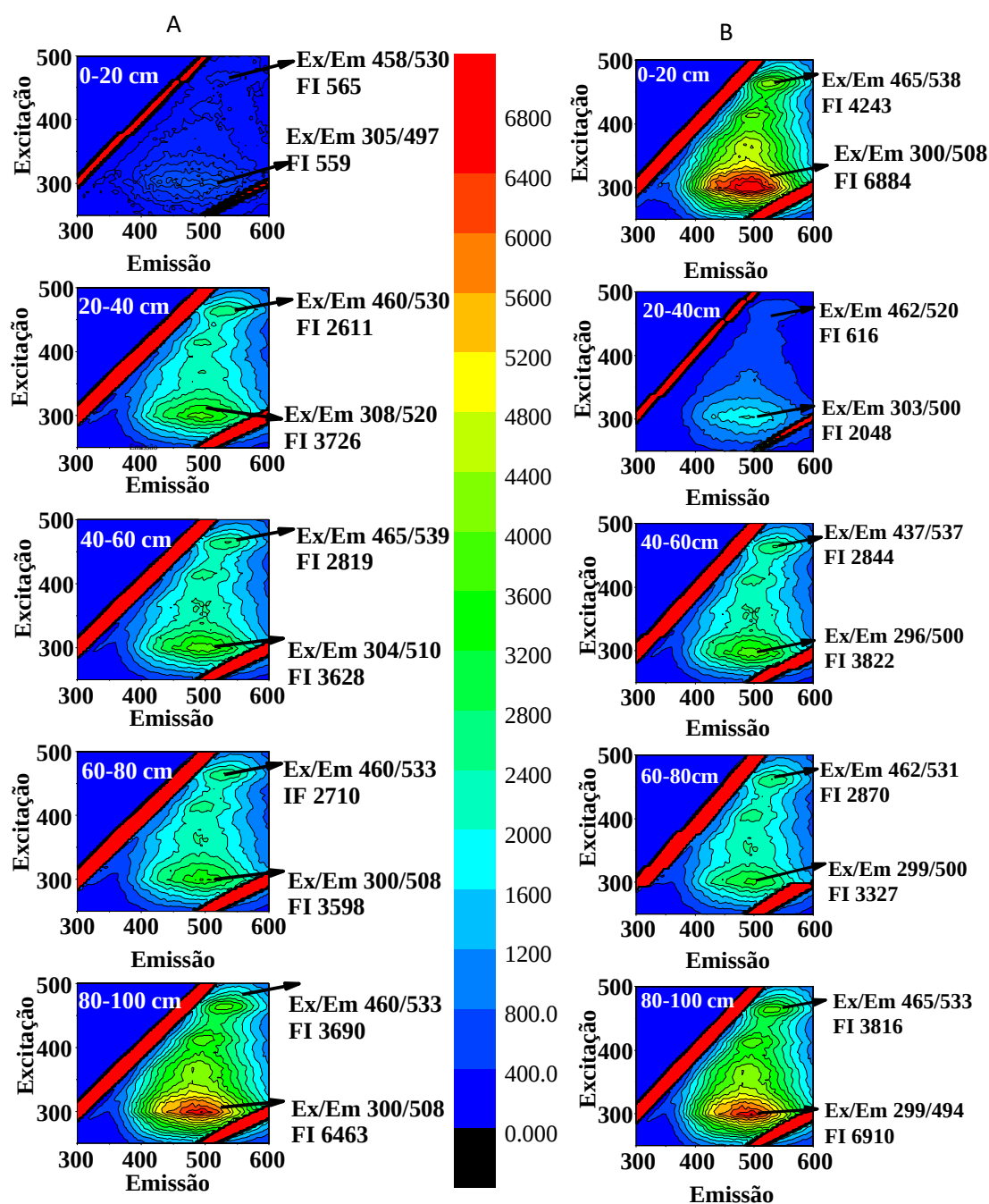
## APÊNDICE D- Espectros de fluorescência no modo matriz emissão-excitação dos materiais húmicos

**Figura 3A.** Espectro de fluorescência na modalidade matrix excitação-emissão das substâncias tipo húmicas extraídas dos carvões hidrotérmicos produzidos por meio de carbonização hidrotérmica com e sem adição de ácido fosfórico.



Fonte: Autoria Própria

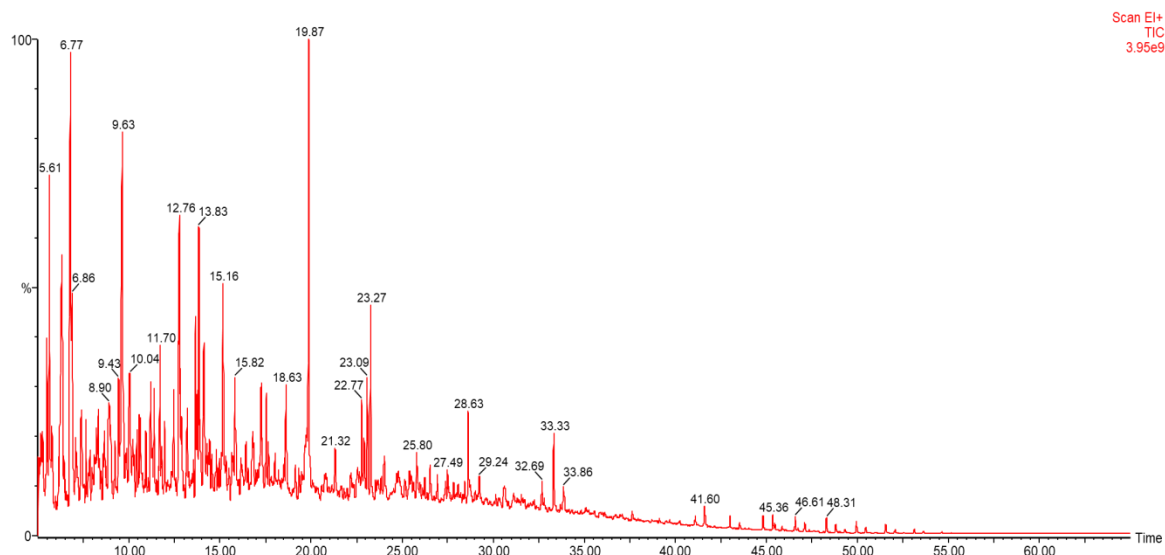
**Figura 4A.** Espectros de emissão-excitação na forma de matrizes para as substâncias húmicas extraídas dos perfis de solo em profundidade. A=Terra Preta de Índio B=Área adjacente.



Fonte: Autoria Própria

## APÊNDICE E- Cromatogramas típicos dos materiais húmicos e listas dos produtos identificados por *thermochemolysis GC-MS*

**Figura 5A.** Cromatograma típico obtido dos produtos liberados da *thermochemolysis GC-MS* na amostra de SH extraída na fração de 0-20 da TPI.



**Tabela 3A.** Compostos identificados nas SH extraídas da fração superficial (0-20cm) dos solos Terra Preta de Índio.

| RT   | Name                                                               | CAS         | MW  | Formula                                          |
|------|--------------------------------------------------------------------|-------------|-----|--------------------------------------------------|
| 5.06 | Benzene, [(3-methyl-2-butenyl)oxy]-                                | 14309-15-0  | 162 | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O                |
| 5.11 | Bicyclo[2.2.1]hept-2-en-2-amine, n,n-dimethyl-                     | 41455-23-6  | 137 | C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> N                 |
| 5.20 | Pyrrole, 4-ethyl-2-methyl-                                         | 5690-96-0   | 109 | C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> N                 |
| 5.36 | Carbamic acid, methyl-, phenyl ester                               | 5690-96-0   | 109 | C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> N                 |
| 5.43 | 2-butenedioic acid (e)-, dimethyl ester                            | 624-49-7    | 144 | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>     |
| 5.56 | Butanedioic acid, dimethyl ester                                   | 106-65-0    | 146 | C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>    |
| 5.72 | Cyclohexanone, 2-[(dimethylamino)methyl]-                          | 15409-60-6  | 155 | C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> ON                |
| 5.77 | Isothiazole, 3-methyl-                                             | 695-92-5    | 99  | C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> NS                 |
| 5.88 | Cyclopentanecarboxylic acid, 2-methoxyethyl ester                  | 900331-06-9 | 172 | C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>    |
| 6.00 | Oxirane, decyl-                                                    | 2855-19-8   | 184 | C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O                |
| 6.39 | Phenol, 2-methyl-                                                  | 95-48-7     | 108 | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O                  |
| 6.71 | Phenol, 4-methyl-                                                  | 106-44-5    | 108 | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O                  |
| 6.87 | 2-octyl benzoate                                                   | 6938-51-8   | 234 | C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>   |
| 7.04 | Fumaric acid, ethyl 4-heptyl ester                                 | 900348-51-2 | 242 | C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>   |
| 7.11 | Methyl 3-dimethylaminopropionate                                   | 03/06/3853  | 131 | C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub> N  |
| 7.15 | Propylhexedrine, propionyl                                         | 900123-85-9 | 211 | C <sub>13</sub> H <sub>25</sub> ON               |
| 7.34 | 4-(1,1-dioxo-2,3-dihydro-1h-1.lambda.(6)-thiophen-3-yl)-morpholine | 900295-49-5 | 203 | C <sub>8</sub> H <sub>13</sub> O <sub>3</sub> NS |

|       |                                                                     |              |     |                                                               |
|-------|---------------------------------------------------------------------|--------------|-----|---------------------------------------------------------------|
| 7.47  | Adipic acid, 4-methoxy-2-methylbutyl tetradecyl ester               | 900324-30-5  | 442 | C <sub>26</sub> H <sub>50</sub> O <sub>5</sub>                |
| 7.59  | 1h-imidazole, 2-ethyl-4,5-dihydro-4-methyl-                         | 900331-35-1  | 112 | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub>                 |
| 7.74  | 5,7-dimethyloctahydrocoumarin                                       | 900109-81-5  | 182 | C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>                |
| 7.80  | Benzene, 1,2-dimethoxy-                                             | 91-16-7      | 138 | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 7.92  | 2-pentanone, 5-(diethylamino)-                                      | 105-14-6     | 157 | C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> ON                             |
| 7.97  | 4,6,9,11-tetramethyl-1-oxa-4,6,9,11-tetraazacyclotrideca-5,10-dione | 900139-36-0  | 272 | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> N <sub>4</sub> |
| 8.05  | Succinic acid, 2-cyclohexylethyl tetradecyl ester                   | 900330-04-06 | 424 | C <sub>26</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>                |
| 8.10  | 3,4-dimethyl-1h-pyrrole-2-carboxaldehyde                            | 19713-89-4   | 123 | C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> ON                              |
| 8.14  | N-(1h-2-oxo-pyrimidin-4-yl)-aminoethanoic acid                      | 19674-84-1   | 169 | C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> O <sub>3</sub> N <sub>3</sub>   |
| 8.26  | Hydrazine, (2-methoxyphenyl)-                                       | 18312-46-4   | 138 | C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> ON <sub>2</sub>                |
| 8.33  | 4n-ethylcytosine                                                    | 89711-97-7   | 139 | C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> ON <sub>3</sub>                 |
| 8.43  | Benzene, 1,3-dimethoxy-                                             | 151-10-0     | 138 | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 8.54  | Fumaric acid, propyl tetrahydrofurfuryl ester                       | 900330-57-7  | 242 | C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>                |
| 8.61  | Butanoic acid, 4-methylpentyl ester                                 | 83471-19-6   | 172 | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>                |
| 8.70  | Succinic acid, heptadecyl 4-methoxy-2-methylbutyl ester             | 900330-24-3  | 456 | C <sub>27</sub> H <sub>52</sub> O <sub>5</sub>                |
| 8.85  | 1,2-cyclohexanedicarboxylic acid, trans-                            | 2305-32-0    | 172 | C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>                 |
| 9.22  | Cyclohexanecarboxylic acid, 1-(1,1-dimethylethyl)-                  | 27334-43-6   | 184 | C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>                |
| 9.56  | 2,4-imidazolidinedione, 1,5,5-trimethyl-                            | 6851-81-6    | 142 | C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub>  |
| 9.61  | 5-hydroxy-2-methylthiopyrimidine                                    | 4874-33-3    | 142 | C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> ON <sub>2</sub> S               |
| 10.01 | 2,2,3-trimethylcyclopropanecarboxylic acid, ethyl ester             | 900191-75-2  | 156 | C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 10.16 | D-erythro-pent-1-enitol, 1,5-anhydro-2-deoxy-, cyclic ethylboronate | 74793-26-3   | 154 | C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> O <sub>3</sub> B               |
| 10.25 | 2-cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1s-cis)-           | 536-30-1     | 154 | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O                             |
| 10.41 | 1,2-cyclohexanediol, 1-methyl-, trans-                              | 19534-08-8   | 130 | C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 10.51 | 1-methylcyclohexanol                                                | 590-67-0     | 114 | C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O                              |
| 10.6  | Cyclohexanecarboxylic acid, 1-cyclohexylethyl ester                 | 900279-52-6  | 224 | C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>                |
| 10.89 | Heptanoic acid, docosyl ester                                       | 55320-07-5   | 438 | C <sub>29</sub> H <sub>58</sub> O <sub>2</sub>                |
| 11.15 | 2-isobutoxy-4-methyl-[1,3,2]dioxaborinane                           | 161616-29-1  | 172 | C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> O <sub>3</sub> B               |
| 11.25 | 1-cyclobutyloxy-1-ethyl-1-silacylopentane                           | 900283-14-5  | 184 | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> OSi                           |
| 11.36 | Butanal, 2-methylene-, diethylhydrazone                             | 25186-13-4   | 154 | C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub>                 |
| 11.59 | Methyl 5-hydroxynicotinate                                          | 30766-22-4   | 153 | C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> O <sub>3</sub> N                |
| 11.66 | 2,4,5,6,7-pentamethoxyheptanoic acid, methyl ester                  | 900293-22-4  | 294 | C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O <sub>7</sub>                |
| 11.78 | Propanedioic acid, methyl-, dimethyl ester                          | 609-02-9     | 146 | C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>                 |
| 11.92 | 1,2,3-trimethoxybenzene                                             | 634-36-6     | 168 | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>                 |
| 12.07 | Benzenaminium, 4-hydroxy-n,n,n-trimethyl-, iodide                   | 6545-97-7    | 279 | C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> ONI                            |
| 12.42 | Cyclohexanecarboxylic acid, 1-(1,1-dimethylethyl)-                  | 27334-43-6   | 184 | C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>                |

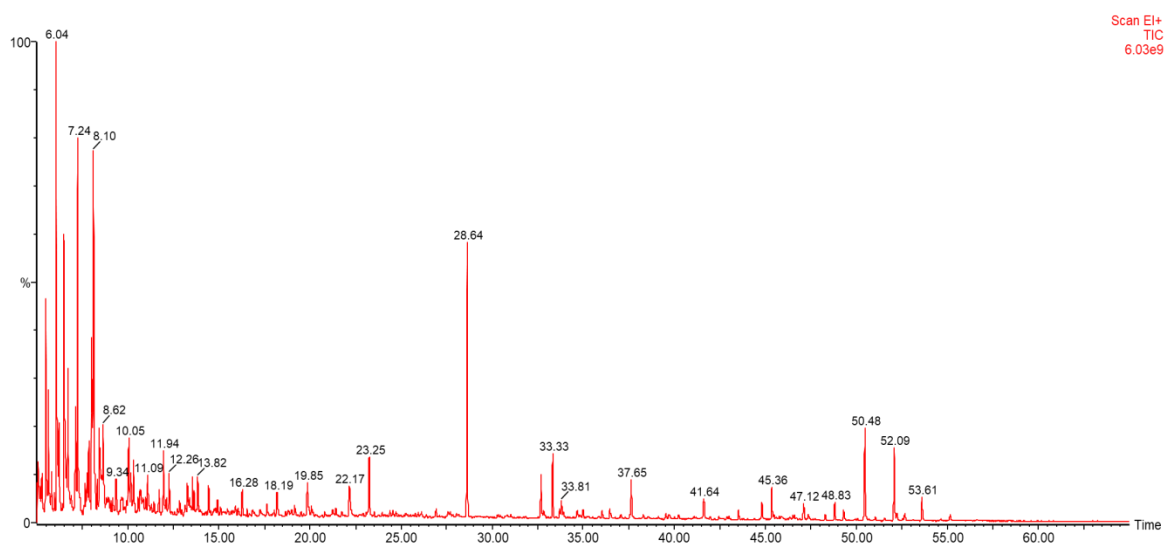
|       |                                                                      |             |     |                                                               |
|-------|----------------------------------------------------------------------|-------------|-----|---------------------------------------------------------------|
| 12.75 | (R)-1-ethyl-2-pyrrolidinecarboxamide                                 | 900237-69-9 | 142 | C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> ON <sub>2</sub>                |
| 12.86 | 2h-pyran-3-ol, 6-ethenyltetrahydro-2,2,6-trimethyl-                  | 14049-11-7  | 170 | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>                |
| 12.93 | 4-ethoxyphenylhydrazine                                              | 39943-51-6  | 152 | C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> ON <sub>2</sub>                |
| 13.23 | 2',3'-o-p-anisylidenecytidine                                        | 53166-55-5  | 361 | C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> O <sub>6</sub> N <sub>3</sub> |
| 13.50 | 1h-indole, 1,2-dimethyl-                                             | 875-79-6    | 145 | C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N                             |
| 13.63 | 1,2,4-trimethoxybenzene                                              | 135-77-3    | 168 | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>                 |
| 13.71 | 1,3,5-triazine-2,4,6(1h,3h,5h)-trione, 1,3,5-trimethyl-              | 827-16-7    | 171 | C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub> N <sub>3</sub>   |
| 13.8  | Benzoic acid, 4-methoxy-, methyl ester                               | 121-98-2    | 166 | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>                 |
| 13.87 | 4(3h)-pyrimidinone, 2,3,6-trimethyl-                                 | 32363-51-2  | 136 | C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> ON <sub>2</sub>                |
| 14.09 | Succinic acid, 2,4-dimethylpent-3-yl nonyl ester                     | 900349-36-1 | 342 | C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>                |
| 14.26 | 1,3-dimethyl-[1,3]diazepane-2,4,7-trione                             | 117043-43-3 | 170 | C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub>  |
| 14.34 | 4-cyclopentene-1,3-dione, 4-methoxy-5-methyl-                        | 7180-62-3   | 140 | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>                  |
| 14.41 | 1,4-butylene glycol dimethacrylate                                   | 2082-81-7   | 226 | C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>                |
| 14.52 | 1-methylbicyclo[3.3.0]octane-3,7-dione                               | 21170-08-1  | 152 | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 14.77 | 2,4(1h,3h)-pyrimidinedione, 5-butyl-                                 | 5442-52-4   | 168 | C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub>  |
| 14.85 | Trans-4a-methyl-decahydronaphthalene                                 | 2547-27-5   | 152 | C <sub>11</sub> H <sub>20</sub>                               |
| 14.94 | Cyclohexanecarboxylic acid, 1-(1,1-dimethylethyl)-                   | 27334-43-6  | 184 | C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>                |
| 15.04 | Naphthalene, 1,6-dimethyl-                                           | 575-43-9    | 156 | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub>                               |
| 15.14 | 1h-isoindole-1,3(2h)-dione, 2-methyl-                                | 550-44-7    | 161 | C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> N                |
| 15.47 | 2h-indol-2-one, 1,3-dihydro-1-methyl-                                | 61-70-1     | 147 | C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> ON                              |
| 15.62 | 1,2,3,4-tetramethoxybenzene                                          | 21450-56-6  | 198 | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>                |
| 15.68 | 1h-indole, 5-methoxy-2-methyl-                                       | 1076-74-0   | 161 | C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ON                            |
| 15.81 | 2,4(1h,3h)-pyrimidinedione, 1,3,5-trimethyl-                         | 4401-71-2   | 154 | C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub>  |
| 16.14 | Naphthalene, 1,2-dihydro-2,5,8-trimethyl-                            | 30316-23-5  | 172 | C <sub>13</sub> H <sub>16</sub>                               |
| 16.30 | (3,4-dimethyl-5-oxodihydrofuran-2-ylidene)acetic acid, t-butyl ester | 900185-62-8 | 226 | C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>                |
| 16.20 | 3-hydroxy-decanoic acid, pyrrolidide                                 | 900336-15-6 | 241 | C <sub>14</sub> H <sub>27</sub> O <sub>2</sub> N              |
| 16.40 | 2-ethyl(dimethyl)silyloxymethyltetrahydrofuran                       | 900278-59-2 | 188 | C <sub>9</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub> Si              |
| 16.53 | Cyclopentamine acetate                                               | 900119-74-4 | 183 | C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> ON                            |
| 16.77 | 1,5-anhydro-2,3,4,6-tetra-o-methyl-d-mannitol                        | 6001-00-9   | 220 | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>                |
| 16.94 | Composto não identificado                                            |             |     |                                                               |
| 17.05 | 2-dotriacontanone                                                    | 77327-15-2  | 464 | C <sub>32</sub> H <sub>64</sub> O                             |
| 17.24 | 1,4-benzenediol, 2-(1,1-dimethylethyl)-                              | 1948-33-0   | 166 | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>                |
| 17.52 | 2(1h)-isoquinolineacetic acid, 3,4-dihydro-1,3-dioxo-                | 52208-61-4  | 219 | C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> N               |
| 17.62 | 1,3-benzenedicarboxylic acid, dimethyl ester                         | 1459-93-4   | 194 | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>                |
| 17.99 | 9-hydroxy-decanoic acid, methyl ester                                | 900194-64-3 | 202 | C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>                |
| 18.19 | 1,2,3,4-tetramethoxybenzene                                          | 3337602     | 198 | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>                |
| 18.37 | 2-iso-propyl-4-ethyl-5-methyloxazole                                 |             |     | C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> NO                             |
| 18.52 | Anisaldehyde dimethyl acetal                                         | 2186-92-7   | 182 | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>                |

|       |                                                                                                |             |     |                                                               |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-----|---------------------------------------------------------------|
| 18.6  | 2(1h)-isoquinolineacetic acid, 3,4-dihydro-1,3-dioxo-                                          | 52208-61-4  | 219 | C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> N               |
| 18.98 | Ethane, 1,1-bis(4,4-dimethyl-2-hydroxy-6-oxocyclohexenyl)-                                     | 7560-70-5   | 306 | C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>                |
| 19.11 | Butan-1-one, 1-(3,4-dimethoxyphenyl)-                                                          | 54419-21-5  | 208 | C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>                |
| 19.22 | 2h-pyran-2-one, 4-(dimethylamino)-5,6-dihydro-5-methyl-6-pentyl-                               | 55045-06-2  | 225 | C <sub>13</sub> H <sub>23</sub> O <sub>2</sub> N              |
| 19.86 | Benzoic acid, 3,4-dimethoxy-, methyl ester                                                     | 2150-38-1   | 196 | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>                |
| 21.31 | 3,7,11,15-tetramethyl-hexadecanoic acid, dmox derivative                                       | 900336-83-7 | 365 | C <sub>24</sub> H <sub>47</sub> ON                            |
| 21.65 | 5-bromovaleric acid, 4-nitrophenyl ester                                                       | 900307-64-7 | 301 | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> NBr            |
| 21.81 | Composto não identificado                                                                      |             |     |                                                               |
| 21.96 | Composto não identificado                                                                      |             |     |                                                               |
| 22.17 | 2-propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, methyl ester, (e)-                                     |             |     |                                                               |
| 22.29 | N1,n1-diethyl-3-methyl-para-phenylenediamine                                                   | 2051-79-8   | 178 | C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub>                |
| 22.55 | 4h-[1,2,5]oxadiazolo[3,4-e][1,4]diazepine-5,8-dione, 6,7-dihydro-                              | 900142-39-2 | 168 | C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub> N <sub>4</sub>   |
| 22.65 | 1,2,3,6,9-pentaazaspiro[4.4]non-2-ene, 1,4,4,6,9-pentamethyl-                                  | 900221-38-7 | 197 | C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub>                 |
| 22.76 | 4h-3,1-benzoxazin-4-one, 2-methyl-6-methoxy-                                                   | 38527-50-3  | 191 | C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub> N               |
| 22.90 | Isoindole-1,3(3ah,7a)-dione, 4,7-dihydro-4,7-epoxy-4-hydroxymethyl-2-(3-nitro-4-methylphenyl)- | 900265-57-4 | 330 | C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> N <sub>2</sub> |
| 23.08 | 9h-purin-6-amine, n,n,9-trimethyl-                                                             | 3013-82-9   | 177 | C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub>                 |
| 23.25 | Benzoic acid, 3,4,5-trimethoxy-, methyl ester                                                  | 1916-07-0   | 226 | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>                |
| 23.50 | Methyl 12-methyl-tridecanoate                                                                  | 900336-46-9 | 242 | C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>                |
| 23.60 | 3-heptadecenal                                                                                 | 900143-48-7 | 252 | C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O                             |
| 23.67 | Composto não identificado                                                                      |             |     |                                                               |
| 23.85 | Phenanthrene, 9,10-dihydro-1-nitro-                                                            | 18264-77-2  | 225 | C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> N              |
| 24.00 | Benzo[f]quinoline, 3-methyl-                                                                   | 85-06-3     | 193 | C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> N                             |
| 24.52 | Phenanthrene                                                                                   | 85-01-8     | 178 | C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>                               |
| 24.69 | Composto não identificado                                                                      |             |     |                                                               |
| 24.79 | 9,9-dimethyl-9-sila-9,10-dihydrophenanthrene                                                   | 187328-55-8 | 224 | C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> Si                            |
| 25.15 | Methyl 13-methyltetradecanoate                                                                 | 900313-34-7 | 270 | C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>                |
| 25.21 | Benzene, 1,2,3-trimethoxy-5-methyl-                                                            | 6443-69-2   | 182 | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>                |
| 25.39 | 8-heptadecene                                                                                  | 06/04/2579  | 238 | C <sub>17</sub> H <sub>34</sub>                               |
| 25.47 | Propionic acid, 3,3-dimethyl-3-[2-methylthiophenyl]-                                           | 900128-62-9 | 224 | C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub> S              |
| 25.52 | 1-(1-hydroxyhexyl)-2,5-dimethoxybenzene                                                        | 900121-48-6 | 238 | C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>                |
| 25.63 | Benzene, (1-methylundecyl)-                                                                    | 2719-61-1   | 246 | C <sub>18</sub> H <sub>30</sub>                               |
| 25.79 | 1,2,3,6-tetrahydropyridine, 4-[3,4-dimethoxyphenyl]-                                           | 94427-39-1  | 219 | C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> N              |
| 25.97 | Composto não identificado                                                                      |             |     |                                                               |
| 26.12 | Methyl 13-methyltetradecanoate                                                                 | 900336-31-4 | 256 | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                |
| 26.24 | 1,2,4-benzenetricarboxylic acid, trimethyl                                                     | 01/10/2459  | 252 | C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>                |

| ester |                                                                                     |             |     |                                                               |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-----|---------------------------------------------------------------|
| 26.37 | Composto não identificado                                                           |             |     |                                                               |
| 26.53 | Caffeine                                                                            | 58-08-2     | 194 | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> N <sub>4</sub>  |
| 26.92 | 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester                             | 84-69-5     | 278 | C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>                |
| 27.38 | 1-(1-hydroxyhexyl)-2,5-dimethoxybenzene                                             | 900121-48-6 | 238 | C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>                |
| 27.49 | 2-propenoic acid, 3-(3,4-dimethoxyphenyl)-, methyl ester                            | 5396-64-5   | 222 | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>                |
| 27.55 | Carbonic acid, ethyl octadecyl ester                                                | 900314-59-8 | 342 | C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>3</sub>                |
| 27.83 | Acridine-9-thiole                                                                   | 85842-92-8  | 211 | C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> NS                             |
| 27.98 | Methyl 11-hexadecenoate                                                             | 900336-35-5 | 268 | C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                |
| 28.07 | 1,3,5-benzenetricarboxylic acid, trimethyl ester                                    | 2672-58-4   | 252 | C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>                |
| 28.23 | 3,4-pentadien-2-ol, 2-methyl-5,5-diphenyl-                                          | 57169-35-4  | 250 | C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O                             |
| 28.35 | Benzene, 1,1'-(2,2-dichloroethylidene)bis[4-ethyl-                                  | 72-56-0     | 306 | C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub>               |
| 28.44 | Boroxin, diethylphenyl-                                                             | 900151-81-1 | 216 | C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> B <sub>3</sub> |
| 28.63 | Methyl 11-methyl-dodecanoate                                                        | 900336-45-1 | 228 | C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>                |
| 29.24 | Methyl 11-hexadecenoate                                                             | 900336-35-5 | 268 | C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                |
| 29.59 | Hydroxylamine, o-(3-phenanthrenylmethyl)-                                           | 54956-41-2  | 223 | C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> ON                            |
| 29.65 | 9-(1,3-dihydroxyprop-2-yl)acridine                                                  | 70126-99-7  | 253 | C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> N              |
| 30.15 | Methyl 8,10-dimethyl-hexadecanoate or 8,10-dimethyl-16:0                            | 900336-39-7 | 298 | C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>                |
| 30.37 | Phenanthrene, 9-ethyl-                                                              |             |     |                                                               |
| 30.61 | Methyl 9,10-methylene-octadecanoate                                                 | 900336-45-4 | 310 | C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>                |
| 30.84 | Cis-1-chloro-9-octadecene                                                           | 16507-61-2  | 286 | C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> Cl                            |
| 31.02 | Methyl 15-methylhexadecanoate                                                       | 900336-34-2 | 284 | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>                |
| 31.09 | 2,4,5-trifluoro-3-methoxybenzoic acid, 5-pentadecyl ester                           | 900338-46-8 | 416 | C <sub>23</sub> H <sub>35</sub> O <sub>3</sub> F <sub>3</sub> |
| 31.25 | Chloroacetic acid, tetradecyl ester                                                 | 18277-86-6  | 290 | C <sub>16</sub> H <sub>31</sub> O <sub>2</sub> Cl             |
| 31.35 | Not identified                                                                      |             |     |                                                               |
| 31.42 | Methyl 2-hydroxy-heptadecanoate                                                     | 900336-20-1 | 300 | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>                |
| 31.56 | Benzene, 1-chloro-4-(4-methoxybenzyloxy)-3-nitro-                                   | 900276-39-7 | 293 | C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> NCl            |
| 31.73 | Pyrene                                                                              | 129-00-0    | 202 | C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>                               |
| 32.69 | Methyl 13-octadecenoate                                                             | 900336-41-6 | 296 | C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>                |
| 32.82 | Methyl 11-hexadecenoate                                                             | 900336-35-5 | 268 | C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                |
| 33.33 | Methyl 16-methyl-heptadecanoate                                                     | 900336-38-6 | 298 | C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>                |
| 33.87 | Methyl 16-hydroxy-hexadecanoate                                                     | 900336-41-0 | 286 | C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>                |
| 34.82 | Heptadecanoic acid, 15-methyl-, ethyl ester                                         | 57274-46-1  | 312 | C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>                |
| 35.15 | Naphtho[2,3-c]furan-1(3h)-one, 4,6-dihydroxy-7-methoxy-                             | 27699-78-1  | 246 | C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>                |
| 35.26 | N-methyldodecanamide                                                                | 27563-67-3  | 213 | C <sub>13</sub> H <sub>27</sub> ON                            |
| 35.57 | Malonic acid, 4-methylpent-2-yl octadecyl ester                                     | 900349-34-5 | 440 | C <sub>27</sub> H <sub>52</sub> O <sub>4</sub>                |
| 36.01 | Octanamide, n,n-dimethyl-                                                           | 1118-92-9   | 171 | C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> ON                            |
| 36.15 | 1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide, 4-amino-n'-hydroxy-n-[(4-methoxyphenyl)methyl]- | 900351-08-9 | 263 | C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> O <sub>3</sub> N <sub>5</sub> |

|       |                                                                         |             |     |                                                |
|-------|-------------------------------------------------------------------------|-------------|-----|------------------------------------------------|
| 37.09 | Tetracontane, 3,5,24-trimethyl-                                         | 55162-61-3  | 604 | C <sub>43</sub> H <sub>88</sub>                |
| 37.65 | Eicosanoic acid, methyl ester                                           | 1120-28-1   | 326 | C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub> |
| 39.54 | N-methyldodecanamide                                                    | 27563-67-3  | 213 | C <sub>13</sub> H <sub>27</sub> ON             |
| 39.69 | Heptacosanoic acid, 25-methyl-, methyl ester                            | 900112-14-5 | 438 | C <sub>29</sub> H <sub>58</sub> O <sub>2</sub> |
| 40.25 | Octanamide, n,n-dimethyl-                                               | 1118-92-9   | 171 | C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> ON             |
| 41.62 | 1,2-benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester                  | 4376-20-9   | 278 | C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> |
| 43.55 | Tricosanoic acid, methyl ester                                          | 2433-97-8   | 368 | C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub> |
| 45.38 | Tetracosanoic acid, methyl ester                                        | 2442-49-1   | 382 | C <sub>25</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub> |
| 45.50 | Terephthalic acid, di(2-ethylhexyl) ester                               | 900324-01-0 | 390 | C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub> |
| 46.76 | 2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-e)- | 111-02-4    | 410 | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>                |
| 47.14 | Methyl 18-methyl-tetracosanoate                                         | 900336-26-6 | 396 | C <sub>26</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub> |
| 47.88 | Cholesta-3,5-diene                                                      | 747-90-0    | 368 | C <sub>27</sub> H <sub>44</sub>                |
| 48.85 | Hexacosanoic acid, methyl ester                                         | 5802-82-4   | 410 | C <sub>27</sub> H <sub>54</sub> O <sub>2</sub> |
| 50.50 | Hexacosanol, acetate                                                    | 900336-68-2 | 424 | C <sub>28</sub> H <sub>56</sub> O <sub>2</sub> |
| 52.12 | Heptacosanoic acid, 25-methyl-, methyl ester                            | 900112-14-5 | 438 | C <sub>29</sub> H <sub>58</sub> O <sub>2</sub> |

**Figura 6A.** Cromatograma típico obtido dos produtos liberados da thermochemolysis GC-MS na amostra de SH extraída na fração de 0-20 da TPI.



**Table 4A.** Compostos identificados nas substâncias tipo húmica extraídas do carvão hidrotérmico produzido com bagaço (STH\_HB).

| RT   | Name                         | CAS       | M.W | Formula                                      |
|------|------------------------------|-----------|-----|----------------------------------------------|
| 5,07 | Pyrimidine, 5-methyl-        | 2036-41-1 | 94  | C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> |
| 5,20 | Pyridine, 3-methoxy-         | 7295-76-3 | 109 | C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> ON             |
| 5,27 | Benzene, ethoxy-             | 103-73-1  | 122 | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O             |
| 5,49 | Benzene, 1-methoxy-4-methyl- | 104-93-8  | 122 | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O             |

|       |                                                      |             |     |                                                             |
|-------|------------------------------------------------------|-------------|-----|-------------------------------------------------------------|
| 5,62  | Butanedioic acid, dimethyl ester                     | 106-65-0    | 146 | C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>               |
| 5,80  | 2-cyclopenten-1-one, 2,3-dimethyl-                   | 1121-05-07  | 110 | C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O                            |
| 6,04  | Phenol, 2-methyl-                                    | 95-48-7     | 108 | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O                             |
| 6,20  | Phenol, 3-methyl-                                    | 108-39-4    | 108 | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O                             |
| 6,47  | Phenol, 4-methyl-                                    | 106-44-5    | 108 | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O                             |
| 6,69  | Phenol, 2-methoxy-                                   | 90-05-1     | 124 | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>                |
| 7,11  | Phenol, 2,6-dimethyl-                                | 576-26-1    | 122 | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O                            |
| 7,22  | Phenol, 4-ethyl-2-methyl-                            | 2219-73-0   | 136 | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O                            |
| 7,48  | 3,4-dimethylphenoxyacetic acid                       | 13335-73-4  | 180 | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>              |
| 7,64  | Pentanedioic acid, dimethyl ester                    | 1119-40-0   | 160 | C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>               |
| 7,75  | Phenol, 2-ethyl-                                     | 90-00-6     | 122 | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O                            |
| 7,84  | Benzene, 1,2-dimethoxy-                              | 91-16-7     | 138 | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>               |
| 7,99  | Phenol, 2,4-dimethyl-                                | 105-67-9    | 122 | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O                            |
| 8,10  | Benzene, 1-ethenyl-4-methoxy-                        | 637-69-4    | 134 | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O                            |
| 8,31  | Benzene, 1,4-dimethoxy-                              | 150-78-7    | 138 | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>               |
| 8,65  | Phenol, 2-methoxy-3-methyl-                          | 18102-31-3  | 138 | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>               |
| 8,81  | Phenol, 3-ethyl-                                     | 620-17-7    | 122 | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O                            |
| 8,90  | Pyrylium, 2,4,6-trimethyl-, iodide                   | 32339-27-8  | 250 | C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> OI                           |
| 9,09  | Thymol                                               | 89-83-8     | 150 | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O                           |
| 9,18  | Phenol, 3,4-dimethyl-                                | 95-65-8     | 122 | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O                            |
| 9,33  | Phenol, 2-ethyl-4-methyl-                            | 3855-26-3   | 136 | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O                            |
| 9,54  | Benzofuran, 4,7-dimethyl-                            | 28715-26-6  | 146 | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O                           |
| 9,62  | 1,5-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene          | 494-99-5    | 152 | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>               |
| 9,77  | Fumaric acid, pentyl 2-propylphenyl ester            | 900348-12-7 | 304 | C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>              |
| 9,83  | Benzenemethanol, 4-(1-methylethyl)-                  | 536-60-7    | 150 | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O                           |
| 9,92  | 2,5-dimethyl-1-propylpyrrole                         | 20282-39-7  | 137 | C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> N                            |
| 10,02 | 3,4-dimethoxytoluene                                 | 494-99-5    | 152 | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>               |
| 10,15 | Benzene, 1-ethyl-4-methoxy-                          | 1515-95-3   | 136 | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O                            |
| 10,29 | Phenol, 2-(1-methylethyl)-, methylcarbamate          | 2631-40-5   | 193 | C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> N            |
| 10,54 | 3-hydroxymandelic acid, dimethyl ether, methyl ester | 900332-76-0 | 210 | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>              |
| 10,67 | Benzaldehyde, 3-methoxy-                             | 591-31-1    | 136 | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>                |
| 10,73 | 3-methoxybenzoic acid, 3-chlorophenyl ester          | 900325-55-4 | 262 | C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> O <sub>3</sub> Cl           |
| 10,83 | Benzenemethanol, 4-ethyl-                            | 27129-87-9  | 136 | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O                            |
| 10,94 | Naphthalene, 1,2-dihydro-6-methyl-                   | 473-13-1    | 144 | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub>                             |
| 10,98 | Naphthalene, 1,2-dihydro-6-methyl-                   | 473-13-1    | 144 | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub>                             |
| 11,09 | Phenol, 2,3,5-trimethyl-                             | 697-82-5    | 136 | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O                            |
| 11,30 | 2,5-dimethylanisole                                  | 1706-11-2   | 136 | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O                            |
| 11,47 | Estragole                                            | 140-67-0    | 148 | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O                           |
| 11,71 | Naphthalene, 2-methyl-                               | 91-57-6     | 142 | C <sub>11</sub> H <sub>10</sub>                             |
| 11,95 | 1,2,3-trimethoxybenzene                              | 634-36-6    | 168 | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>               |
| 12,11 | Naphthalene, 1-methyl-                               | 90-12-0     | 142 | C <sub>11</sub> H <sub>10</sub>                             |
| 12,28 | Benzene, 4-ethyl-1,2-dimethoxy-                      | 1199-08-2   | 166 | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>              |
| 12,57 | 2h-benzimidazol-2-one, 1,3-dihydro-5-methoxy-        | 2080-75-3   | 164 | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub> |
| 12,75 | Benzoic acid, 2-methoxy-, methyl ester               | 606-45-1    | 166 | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>               |

|       |                                                                           |             |     |                                                                |
|-------|---------------------------------------------------------------------------|-------------|-----|----------------------------------------------------------------|
| 12,85 | Phenol, 4-(methoxymethyl)-2,6-dimethyl-                                   | 02/02/5048  | 166 | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 12,97 | 6-amino-2,4-dimethylphenol                                                | 41458-65-5  | 137 | C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> ON                              |
| 13,19 | Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-                                       | 499-75-2    | 150 | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O                              |
| 13,31 | Acetophenone, 4'-methoxy-                                                 | 100-06-1    | 150 | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>                  |
| 13,38 | Phenol, 2,3,5,6-tetramethyl-                                              | 527-35-5    | 150 | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O                              |
| 13,55 | Benzene, 4-ethenyl-1,2-dimethoxy-                                         | 6380-23-0   | 164 | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 13,67 | 1,2,4-trimethoxybenzene                                                   | 135-77-3    | 168 | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>                  |
| 13,76 | Benzene, 1,2,3,4-tetramethyl-4-(1-methylethenyl)-                         | 61142-76-5  | 174 | C <sub>13</sub> H <sub>18</sub>                                |
| 13,84 | Benzoic acid, 3-methoxy-, methyl ester                                    | 5368-81-0   | 166 | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>                  |
| 13,90 | Biphenyl                                                                  | 92-54-4     | 154 | C <sub>12</sub> H <sub>10</sub>                                |
| 14,08 | 3-(3-methoxyphenyl)propanoic acid                                         | 10516-71-9  | 180 | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>                 |
| 14,30 | Trans-2-methyl-4-n-pentylthiane, s,s-dioxide                              | 900215-75-3 | 218 | C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub> S               |
| 14,45 | Benzene, 1,2,3-trimethoxy-5-methyl-                                       | 6443-69-2   | 182 | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>                 |
| 14,53 | Propanoic acid, 2,2-dimethyl-, 2-(1,1-dimethylethyl)-6-methylphenyl ester | 54644-45-0  | 248 | C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 14,74 | Naphthalene, 2,6-dimethyl-                                                | 581-42-0    | 156 | C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>                                |
| 14,84 | 1(2h)-naphthalenone, 8-ethyl-3,4-dihydro-                                 | 51015-33-9  | 174 | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O                              |
| 14,93 | Benzene, 1-(1,3-dimethyl-3-butenyl)-4-methoxy-                            | 74672-05-02 | 190 | C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O                              |
| 15,09 | Naphthalene, 1,3-dimethyl-                                                | 575-41-7    | 156 | C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>                                |
| 15,22 | Naphthalene, 1,5-dimethyl-                                                | 571-619     | 156 | C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>                                |
| 15,37 | Methyl 3-methoxy-4-methylbenzoate                                         | 3556-83-0   | 180 | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>                 |
| 15,52 | 2h-indol-2-one, 1,3-dihydro-1-methyl-                                     | 61-70-1     | 147 | C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> ON                               |
| 15,68 | Naphthalene, 1,6-dimethyl-                                                | 575-43-9    | 156 | C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>                                |
| 15,78 | Benzene, 2,6-dimethyl-1-(phenylmethyl)-                                   | 28122-28-3  | 196 | C <sub>15</sub> H <sub>16</sub>                                |
| 15,94 | 1-propanone, 1-(3-methoxyphenyl)-                                         | 37951-49-8  | 164 | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 16,07 | Naphthalene, 1,2-dihydro-2,5,8-trimethyl-                                 | 30316-23-5  | 172 | C <sub>13</sub> H <sub>16</sub>                                |
| 16,29 | Benzenepropanoic acid, 4-methoxy-.beta.-methyl-                           | 6555-30-2   | 194 | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>                 |
| 16,55 | Benzaldehyde, 2,4,5-trimethoxy-                                           | 4460-86-0   | 196 | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>                 |
| 16,70 | 1,2-dimethoxy-4-(2-methoxyethenyl)benzene                                 | 900313-34-2 | 194 | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>                 |
| 16,96 | Benzofuran, 5-chloro-2-methyl-                                            | 42180-82-5  | 166 | C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> OCl                              |
| 17,30 | Phenol, 2-methoxy-4-methyl-6-[propenyl]-                                  | 201359-63-9 | 178 | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 17,35 | Dichloroacetic acid, 2-(1-adamantyl)ethyl ester                           | 900282-97-8 | 290 | C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> |
| 17,48 | (3-methyl-1-benzothiophen-2-yl)methanol                                   | 7354-45-2   | 178 | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> OS                             |
| 17,57 | 1-isopropyl-1h-indole                                                     | 900322-51-9 | 159 | C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> N                              |
| 17,64 | 1,2-dimethoxy-4-(2-methoxyethenyl)benzene                                 | 900313-34-2 | 194 | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>                 |
| 17,72 | Benzeneacetic acid,                                                       | 900132-60-  | 220 | C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>                 |

|       | .alpha.,.alpha.,2,3,5,6-hexamethyl-                                                | 6            |     |                                                                 |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------|--------------|-----|-----------------------------------------------------------------|
| 17,86 | Bis[2-[5-methyl-(2(1h)-benzimidazolyl)]ethyl] sulfide                              | 70813-95-5   | 350 | C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub> S                |
| 18,03 | Dodecanoic acid, methyl ester                                                      | 111-82-0     | 214 | C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>                  |
| 18,21 | 1,2,3,4-tetramethoxybenzene                                                        | 21450-56-6   | 198 | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>                  |
| 18,66 | Nonanedioic acid, dimethyl ester                                                   | 1732-10-1    | 216 | C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>                  |
| 18,79 | 9h-carbazol-3-amine, 9-ethyl-                                                      | 132-32-1     | 210 | C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub>                  |
| 18,99 | Heptadecane, 1-bromo-                                                              | 3508-00-7    | 318 | C <sub>17</sub> H <sub>35</sub> Br                              |
| 19,20 | Ethanone, 1-(3,4-dimethoxyphenyl)-                                                 | 1131-62-0    | 180 | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>                  |
| 19,53 | 3h-indole, 3-ethyl-2,3-dimethyl-                                                   | 1798-39-6    | 173 | C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N                               |
| 19,67 | Fluorene                                                                           | 86-73-7      | 166 | C <sub>13</sub> H <sub>10</sub>                                 |
| 19,86 | Benzoic acid, 3,4-dimethoxy-, methyl ester                                         | 2150-38-1    | 196 | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>                  |
| 19,96 | 1h-indole, 2,3-dihydro-1,3,3-trimethyl-2-methylene-                                | 118-12-7     | 173 | C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N                               |
| 20,10 | Benzaldehyde, 3,4,5-trimethoxy-                                                    | 86-81-7      | 196 | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>                  |
| 20,30 | 4-diethylaminophenyl isothiocyanate                                                | 84381-54-4   | 206 | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> S                |
| 20,37 | 7,7-dimethoxy-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1h-cyclopenta[a]pentalene                      | 58866-66-3   | 206 | C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>                  |
| 20,59 | Phenol, 2-(1,1-dimethyl-2-propenyl)-3,6-dimethyl-                                  | 92617-73-7   | 190 | C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O                               |
| 20,83 | 3-(3,4-dimethoxyphenyl)-propionic acid                                             | 2107-70-2    | 210 | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>                  |
| 20,98 | 7,7,8,8-tetramethylbicyclo[4.2.0]octa-1(6),3-diene-2,5-dione                       | 77627-51-1   | 190 | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>                  |
| 21,11 | 3,4-dihydro-1-methyl-3-oxo-4-oxaphenanthrene                                       | 21315-40-2   | 210 | C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>                  |
| 21,25 | Propionic acid, 3,3-dimethyl-3-[2-methylthiophenyl]-                               | 900128-62-9  | 224 | C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub> S                |
| 21,42 | Benzene, 1,2,3-trimethoxy-5-(2-propenyl)-                                          | 487-11-6     | 208 | C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>                  |
| 21,61 | 2,3-2h-benzofuran-2-one, 3,3,4,6-tetramethyl-                                      | 86562-99-4   | 190 | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>                  |
| 21,76 | (2,4-dimethoxy-3-methyl-benzyl)-[2-(5-methoxy-2-methyl-1h-indol-3-yl)-ethyl]-amine | 900300-26-4  | 368 | C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub>   |
| 22,14 | 2-propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, methyl ester                               | 832-01-9     | 192 | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>                  |
| 22,21 | 2-propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, methyl ester                               | 832-01-9     | 192 | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>                  |
| 22,55 | Anthracene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-                                             | 1079-71-6    | 186 | C <sub>14</sub> H <sub>18</sub>                                 |
| 22,70 | 1-(pentamethylphenyl)ethanimine                                                    | 900101-32-4  | 189 | C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> N                               |
| 22,76 | 9h-fluorene, 4-methyl-                                                             | 1556-99-6    | 180 | C <sub>14</sub> H <sub>12</sub>                                 |
| 22,81 | 2h-1,3-thiazine-2,4(3h)-dione, 3-aminodihydro-5,5-diphenyl-                        | 1109878-19-3 | 298 | C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub> S |
| 22,92 | Docosane                                                                           | 629-97-0     | 310 | C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>                                 |
| 23,11 | Aspidinol                                                                          | 519-40-4     | 224 | C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>                  |
| 23,25 | Benzoic acid, 3,4,5-trimethoxy-, methyl ester                                      | 1916-07-0    | 226 | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>                  |
| 23,53 | Methyl 12-methyl-tridecanoate                                                      | 900336-46-   | 242 | C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>                  |

| 9     |                                                                 |              |     |                                                                |
|-------|-----------------------------------------------------------------|--------------|-----|----------------------------------------------------------------|
| 23,96 | Chloroacetic acid, dodecyl ester                                | 07/04/6313   | 262 | C <sub>14</sub> H <sub>27</sub> O <sub>2</sub> Cl              |
| 24,15 | Tricyclo[4.2.1.0(2,5)]nona-3,7-diene, 9-methoxy-1-phenyl-       | 56771-52-9   | 224 | C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> O                              |
| 24,23 | 3,4-2h-coumarin, 4,4,5,6,8-pentamethyl-                         | 900129-70-7  | 218 | C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 24,40 | 3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)propionic acid                        | 25173-72-2   | 240 | C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>                 |
| 24,58 | Anthracene, 1,2,3,4-tetrahydro-9-propyl-                        | 101580-33-0  | 224 | C <sub>17</sub> H <sub>20</sub>                                |
| 24,89 | 2-propenoic acid, 3-(3,4-dimethoxyphenyl)-, methyl ester        | 5396-64-5    | 222 | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>                 |
| 25,00 | 9h-fluorene, 9-methylene-                                       | 4425-82-5    | 178 | C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>                                |
| 25,19 | Methyl 13-methyltetradecanoate                                  | 900336-31-4  | 256 | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 25,33 | 1-pentadecene, 2-methyl-                                        | 29883-69-0   | 224 | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>                                |
| 25,51 | Nonacosane                                                      | 630-03-5     | 408 | C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>                                |
| 25,66 | 3,4-2h-coumarin, 4,4,5,6,8-pentamethyl-                         | 900129-70-7  | 218 | C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 25,80 | Benzene, 1-methyl-2-(2-phenylethenyl)-                          | 74685-42-0   | 194 | C <sub>15</sub> H <sub>14</sub>                                |
| 25,95 | Cadina-1(10),6,8-triene                                         | 1460-96-4    | 202 | C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>                                |
| 26,13 | Methyl 13-methyltetradecanoate                                  | 900336-31-4  | 256 | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 26,25 | Chloroacetic acid, dodecyl ester                                | 07/04/6316   | 262 | C <sub>14</sub> H <sub>27</sub> O <sub>2</sub> Cl              |
| 26,41 | Benzoic acid, heptyl ester                                      | 06/12/7155   | 220 | C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 26,57 | 1h-inden-1-one, 7-(1,1-dimethylethyl)-2,3-dihydro-3,3-dimethyl- | 38393-93-0   | 216 | C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O                              |
| 26,92 | 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester         | 84-69-5      | 278 | C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>                 |
| 27,10 | 1,1'-biphenyl, 2,2'-diethyl-                                    | 7116-95-2    | 196 | C <sub>15</sub> H <sub>16</sub>                                |
| 27,24 | Naphtho[2,1-b]furan, 1,2-dimethyl-                              | 129812-23-3  | 196 | C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O                              |
| 27,48 | 2-(2,5-dimethoxyphenyl)cyclohex-2-enone                         | 1848-12-0    | 232 | C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>                 |
| 27,54 | 2-propenoic acid, 3-(3,4-dimethoxyphenyl)-, methyl ester        | 5396-64-5    | 222 | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>                 |
| 27,60 | 2-propenoic acid, 3-(3,4-dimethoxyphenyl)-, methyl ester        | 5396-64-5    | 222 | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>                 |
| 27,72 | Hexadecanoic acid, methyl ester                                 | 112-39-0     | 270 | C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 28,02 | Pivalic acid, 2-formyl-4,6-dichlorophenyl ester                 | 900330-92-2  | 274 | C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> Cl <sub>2</sub> |
| 28,15 | Cis,cis-2,9-dimethylspiro[5.5]undecane                          | 95472-51-8   | 180 | C <sub>13</sub> H <sub>24</sub>                                |
| 28,30 | Phenanthrene, 4-methyl-                                         | 832-64-4     | 192 | C <sub>15</sub> H <sub>12</sub>                                |
| 28,41 | 1h-indene, 1-phenyl-                                            | 1961-96-2    | 192 | C <sub>15</sub> H <sub>12</sub>                                |
| 28,63 | Tetradecanoic acid, 10,13-dimethyl-, methyl ester               | 267650-23-57 | 270 | C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 28,86 | Methyl 10-methyl-dodecanoate                                    | 900336-24-9  | 228 | C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 29,09 | Pentatriacontane, 1-bromo-                                      | 62108-51-4   | 570 | C <sub>35</sub> H <sub>71</sub> Br                             |
| 30,27 | Ethyl 13-methyl-tetradecanoate                                  | 900336-61-   | 270 | C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>                 |

|              |                                                          |             |     |                                                                |
|--------------|----------------------------------------------------------|-------------|-----|----------------------------------------------------------------|
|              |                                                          | 5           |     |                                                                |
| <b>30,34</b> | Methyl 14-methylhexadecanoate                            | 900336-34-4 | 284 | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>                 |
| <b>30,70</b> | Methyl 8-heptadecenoate                                  | 900336-36-4 | 282 | C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>                 |
| <b>30,83</b> | 1,4-naphthalenedione, 2-hydroxy-3-(2-methyl-1-propenyl)- | 15297-99-1  | 228 | C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>                 |
| <b>30,97</b> | I-propyl hexadecanoate                                   | 900336-63-4 | 298 | C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>                 |
| <b>31,03</b> | Methyl 15-methylhexadecanoate                            | 900336-34-2 | 284 | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>                 |
| <b>31,48</b> | Octanamide, n,n-dimethyl-                                | 1118-92-9   | 171 | C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> ON                             |
| <b>31,83</b> | 2-methoxybenzylamine, n-ethyl-n-(3-methylphenyl)-        | 900310-36-5 | 255 | C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> ON                             |
| <b>32,10</b> | 2,4,6-trimethyl-3'-methoxydiphenylsulfone                | 21213-30-9  | 290 | C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub> S               |
| <b>32,52</b> | Benzene, 1-methoxy-2-(3-phenyl-2-propenyl)-              |             |     |                                                                |
| <b>32,69</b> | 11-octadecenoic acid, methyl ester                       | 52380-33-3  | 296 | C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>                 |
| <b>32,83</b> | Methyl 11-octadecenoate                                  | 900336-35-8 | 296 | C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>                 |
| <b>32,90</b> | Methyl 13-octadecenoate                                  | 900336-41-6 | 296 | C <sub>19</sub> H <sub>36</sub>                                |
| <b>33,33</b> | Methyl 16-methyl-heptadecanoate                          | 900336-38-6 | 298 | C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>                 |
| <b>33,72</b> | Methyl 9-cis,11-trans-octadecadienoate                   | 900336-44-0 | 294 | C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>                 |
| <b>33,81</b> |                                                          |             |     |                                                                |
| <b>33,91</b> | Methyl 18-fluoro-octadec-9-enoate                        | 900336-48-7 | 314 | C <sub>19</sub> H <sub>35</sub> O <sub>2</sub> F               |
| <b>34,01</b> | Methyl 10-trans,12-cis-octadecadienoate                  | 900336-44-2 | 294 | C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>                 |
| <b>34,14</b> | Ethyl 2,4,6-trimethoxycinnamate                          | 67827-53-6  | 266 | C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>                 |
| <b>34,45</b> | 1,3,5-cycloheptatriene, 7,7-dimethyl-2,4-diphenyl-       | 900156-99-8 | 272 | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub>                                |
| <b>34,67</b> | Methyl 10-trans,12-cis-octadecadienoate                  | 900336-44-2 | 294 | C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>                 |
| <b>34,82</b> | Methyl 11,14-octadecadienoate                            | 900336-41-5 | 292 | C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>                 |
| <b>35,00</b> | Triacotane                                               | 638-68-6    | 422 | C <sub>30</sub> H <sub>62</sub>                                |
| <b>35,27</b> | Methyl 11-hexadecenoate                                  | 900336-35-5 | 268 | C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                 |
| <b>35,37</b> |                                                          |             |     |                                                                |
| <b>35,84</b> | 2-(2,4,5-trimethoxyphenyl)ethylamine, pfp                | 900071-83-4 | 357 | C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub> NF <sub>5</sub> |
| <b>35,84</b> | Acetamide, n-(3,4,5-trimethoxyphenethyl)-                | 4593-89-9   | 253 | C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> O <sub>4</sub> N               |
| <b>36,03</b> | Hexadecanedioic acid, dimethyl ester                     | 19102-90-0  | 314 | C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>                 |
| <b>36,46</b> | Mescaline-propionyl                                      | 62028-41-5  | 267 | C <sub>14</sub> H <sub>21</sub> O <sub>4</sub> N               |
| <b>36,75</b> | Ethanol, 2-(eicosyloxy)-                                 | 2136-73-4   | 342 | C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>                 |

|              |                                                                                            |              |     |                                                                 |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|-----|-----------------------------------------------------------------|
| <b>37,09</b> | Methyl 9-eicosenoate                                                                       | 900336-50-5  | 324 | C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>                  |
| <b>37,30</b> | 1,1'-biphenyl, 4,2',3',4'-tetramethoxy-6-methyl-                                           | 119101-15-4  | 288 | C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>                  |
| <b>37,65</b> | Eicosanoic acid, methyl ester                                                              | 1120-28-1    | 326 | C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>                  |
| <b>38,23</b> | Phenol, 4-(3,4-dihydro-2,2,4-trimethyl-2h-1-benzopyran-4-yl)-                              | 472-41-3     | 268 | C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>                  |
| <b>38,54</b> | 4h-1-benzopyran-4-one, 5-hydroxy-6,7-dimethoxy-2-phenyl-                                   | 740-33-0     | 298 | C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>                  |
| <b>38,60</b> | 3-(4-methoxy-2,6-dimethyl-phenylazo)-naphthalene-2-carbonitrile                            | 900193-14-2  | 315 | C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> ON <sub>3</sub>                 |
| <b>38,87</b> | Methyl 5,9-tetracosadienoate                                                               | 900336-26-3  | 378 | C <sub>25</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>                  |
| <b>39,04</b> | Dotriacontyl pentafluoropropionate                                                         | 900351-81-4  | 612 | C <sub>35</sub> H <sub>65</sub> O <sub>2</sub> F <sub>5</sub>   |
| <b>39,14</b> | Tridecanol, 2-ethyl-2-methyl-                                                              | 900115-66-1  | 242 | C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O                               |
| <b>39,29</b> |                                                                                            |              |     |                                                                 |
| <b>39,55</b> | Octadecanoic acid, 9,10-epoxy-18-(trimethylsiloxy)-, methyl ester, cis-                    | 22032-78-6   | 400 | C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>4</sub> Si               |
| <b>39,74</b> | Heneicosanoic acid, methyl ester                                                           | 6064-90-0    | 340 | C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>                  |
| <b>40,00</b> | 14-methyl-hexadecane-1,2-diol, isopropylidene                                              | 900336-64-4  | 312 | C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>                  |
| <b>40,25</b> | Octanamide, n,n-dimethyl-                                                                  | 1118-92-9    | 171 | C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> ON                              |
| <b>41,11</b> | Hentriacontane                                                                             | 630-04-6     | 436 | C <sub>31</sub> H <sub>64</sub>                                 |
| <b>41,20</b> | 2,3,7,8-tetramethoxy-5h-dibenzo[a,d]cyclohepten-10(11h)-one                                | 70402-16-3   | 328 | C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>                  |
| <b>41,63</b> | Methyl 20-methyl-heneicosanoate                                                            | 900336-47-4  | 354 | C <sub>23</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>                  |
| <b>41,95</b> | Bis(3,4,5-trimethoxyphenyl)methane                                                         | 38768-68-2   | 348 | C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>                  |
| <b>42,33</b> | 2-(5-tert-butyl-benzo[1,3]oxathiol-2-ylidene)-3,3,3-trifluoro-propionic acid methyl ester  | 900276-07-05 | 332 | C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> F <sub>3</sub> S |
| <b>42,89</b> | Butylphosphonic acid, ethyl 4-(2-phenylprop-2-yl)phenyl ester                              | 900323-09-0  | 360 | C <sub>21</sub> H <sub>29</sub> O <sub>3</sub> P                |
| <b>43,00</b> | Dotriacontane                                                                              | 544-85-4     | 450 | C <sub>32</sub> H <sub>66</sub>                                 |
| <b>43,54</b> | Heptacosanoic acid, 25-methyl-, methyl ester                                               | 900112-14-5  | 438 | C <sub>29</sub> H <sub>58</sub> O <sub>2</sub>                  |
| <b>43,83</b> | 16-methyl-octadecane-1,2-diol, isopropylidene derivative                                   | 900336-70-0  | 340 | C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>                  |
| <b>45,37</b> | Methyl octacosanoate                                                                       | 900336-29-5  | 438 | C <sub>29</sub> H <sub>58</sub> O <sub>2</sub>                  |
| <b>45,48</b> | Tetracosanoic acid, methyl ester                                                           | 2442-49-1    | 382 | C <sub>25</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>                  |
| <b>45,74</b> | 2,3-dimethoxy-6,12-methano-9,10-methylenebis(oxy)-5,6,12,13-tetrahydro-dibenzo[c,f]azocine | 101038-30-6  | 325 | C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> O <sub>4</sub> N                |
| <b>46,33</b> | 1,1'-biphenyl, 2,3,4,4'-tetramethoxy-6,6'-propenylene-                                     | 127825-88-1  | 312 | C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>                  |
| <b>46,52</b> | Hexacosanol, acetate                                                                       | 900336-68-2  | 424 | C <sub>28</sub> H <sub>56</sub> O <sub>2</sub>                  |

|              |                                                                            |             |     |                   |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------|-------------|-----|-------------------|
| <b>46,61</b> | Tetracontane                                                               | 4181-95-7   | 562 | $C_{40}H_{82}$    |
| <b>46,74</b> | 2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene,<br>2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-e)- | 111-02-4    | 410 | $C_{30}H_{50}$    |
| <b>47,12</b> | Methyl 18-methyl-tetracosanoate                                            | 900336-26-6 | 396 | $C_{26}H_{52}O_2$ |
| <b>47,38</b> | 18-methyl-eicosane-1,2-diol,<br>isopropylidene derivative                  | 900336-75-8 | 368 | $C_{24}H_{48}O_2$ |
| <b>48,32</b> | Dotetracontane                                                             | 7098-20-6   | 590 | $C_{42}H_{86}$    |
| <b>48,83</b> | Hexacosanoic acid, methyl ester                                            | 5802-82-4   | 410 | $C_{27}H_{54}O_2$ |
| <b>49,32</b> | 15-tetracosenoic acid, methyl ester, (z)-                                  | 2733-88-2   | 380 | $C_{25}H_{48}O_2$ |
| <b>49,96</b> | Tritetracontane                                                            | 7098-21-7   | 604 | $C_{43}H_{88}$    |
| <b>50,09</b> | Stigmasta-5,22-dien-3-ol, acetate,<br>(3.beta.)-                           | 4651-48-3   | 454 | $C_{31}H_{50}O_2$ |
| <b>50,49</b> | Hexacosanol, acetate                                                       | 900336-68-2 | 424 | $C_{28}H_{56}O_2$ |