



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

Laís Gomes Fregolente

**Carvão Hidrotérmico: avaliação das características húmicas e do efeito
no desenvolvimento de plantas**

São José do Rio Preto
2019

LAÍS GOMES FREGOLENTE

**Carvão Hidrotérmico: avaliação das características húmicas e do efeito
no desenvolvimento de plantas**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor 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”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES
CNPq-Processo 445487/2014-3
FAPESP-Processos 2014/22400-3 e
2018/15733-7

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Márcia Cristina Bisinoti
Coorientador: Prof. Dr. Altair Benedito Moreira

São José do Rio Preto
2019

F859c	<p>Fregolente, Laís Gomes</p> <p>Carvão Hidrotérmico: avaliação das características húmicas e do efeito no desenvolvimento de plantas / Laís Gomes Fregolente. -- São José do Rio Preto, 2019</p> <p>108 f.</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto</p> <p>Orientadora: Márcia Cristina Bisinoti</p> <p>Coorientador: Altair Benedito Moreira</p> <p>1. Carbonização. 2. Substâncias húmicas. 3. Germinação. 4. Adubos e fertilizantes Aplicação. 5. Indústria açucareira Subprodutos. I. Título.</p>
-------	--

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.

LAÍS GOMES FREGOLENTE

Carvão Hidrotérmico: avaliação das características húmicas e do efeito no desenvolvimento de plantas

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor 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”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

CNPq-Processo 445487/2014-3

FAPESP-Processos 2014/22400-3 e
2018/15733-7

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Márcia Cristina Bisinoti

Coorientador: Prof. Dr. Altair Benedito Moreira

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Altair B. Moreira
UNESP – São José do Rio Preto

Prof. Dr. Mário H. González
UNESP – São José do Rio Preto

Prof. Dr. Diogo. P. Volanti
UNESP – São José do Rio Preto

Prof. Dr. César Ricardo T. Tarley
UEL – Londrina

Prof^ª. Dr^ª. Maria Josefa S. Yabe
UEL - Londrina

São José do Rio Preto
12 de Julho de 2019

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus pais Edison
e Priscila, que se fizeram presentes em
todos os momentos desta caminhada, me
apoiando e me encorajando, frente a cada
dificuldade e a cada desafio.*

AGRADECIMENTOS

A Deus que me deu o dom da vida e que me guiou sempre pelos caminhos corretos para que hoje eu pudesse estar aqui, me dando força pela fé, frente a cada obstáculo.

Aos meus pais, Edison e Priscila, pelo incentivo, força e apoio incondicional durante todos esses anos, não deixando que eu desistisse ou perdesse a coragem frente aos novos desafios que surgiram. Com certeza sem eles este trabalho não seria concluído.

Ao meu irmão, tias, tios, primas, e avós, pelas muitas palavras e mensagens de incentivo e carinho, sempre acreditando em mim.

A professora Dra. Márcia Cristina Bisinoti e ao professor Dr. Odair Pastor Ferreira pela amizade, orientação, paciência e apoio no desenvolvimento deste trabalho. E, também, aos professores Dr. Altair Benedito Moreira e Dra. Camila de Almeida Melo pela atenção e auxílio com o mesmo.

As minhas amigas Bruna, Janaína, Gabriela, Letícia, Patrícia e Thaís pela paciência e apoio nos momentos difíceis, pelos momentos de descontração quando eu precisava, e pelos muitos e muitos anos de amizade.

A todos os amigos do LECA, Leila, Lucas, Isabela, Ariane, Márcio, Renata, Camila, Isabele, Mariana, Vinícius, Erick, Carlos, Stefani, e em especial para os alunos de iniciação científica João Vitor e Felipe, que me auxiliaram na execução deste trabalho.

Aos amigos do LIQAV, Daniela, Cibele, Marcos, Olavo, Bianca, Jorge e Pâmela pelas amizades e momentos de descontração ao longo destes seis anos de convivência.

Aos professores da pós-graduação, e todos aqueles que passaram pela minha vida, me ensinando, incentivando e dando a base necessária para que eu chegasse até aqui.

Ao pessoal Laboratório de Química Analítica e Sucroquímica pela ajuda com as análises termogravimétricas e de infravermelho, em especial ao professor Dr. Maurício Boscolo por conceder a utilização dos equipamentos.

Aos amigos Silvana, Giovanni, Giuseppe, Melania, Claudia, Mariavittoria, Luigi, Diana, Antonio, Hiari, Yuanjun, Faten, e todos os outros, que tanto me ajudaram durante o período de estágio na Itália, tanto dentro como fora do laboratório, fazendo com que a minha experiência tão longe de casa fosse a mais maravilhosa possível. E um

agradecimento em especial para os professores Dr. Riccardo Spaccini e Dr. Alessandro Piccolo por todo o acolhimento e conhecimento compartilhado.

Ao laboratório CERMANU (NMR Research Centre for Agriculture, Food, Environment and Innovative Materials) do Departamento de Agricultura da Universidade de Napoli Federico II, pela parceria no desenvolvimento do trabalho e pelas análises realizadas.

Aos amigos Emílio e Thaiz pelo auxílio durante a execução de partes deste trabalho.

A Central Analítica da Universidade Federal do Ceará pelas imagens de microscopia eletrônica de varredura.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento dos projetos 2014/22400-3 e 2018/15733-7.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto 445487/2014-3.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

O Brasil é um dos maiores produtores de cana-de-açúcar do mundo. A produção de açúcar e etanol a partir da cana gera subprodutos, como a vinhaça e o bagaço de cana. A vinhaça vem sendo empregada na fertirrigação de culturas, e o bagaço de cana na cogeração de energia. Problemas como salinização do solo, contaminação de lençol freático, com a mosca do estábulo (dificultado o ganho de peso do gado e provocando diminuição na produção de leite) são relatados. O emprego destes na carbonização hidrotérmica (CHT) é uma alternativa, ambientalmente adequada, para sua disposição. A CHT é um processo de conversão termoquímica de biomassa, o qual produz um material sólido rico em carbono (carvão hidrotérmico), e uma fração líquida (água de processo). As características do carvão hidrotérmico mostram potencial para sua utilização como condicionantes de solos. Já a água de processo poderia ser utilizada como fertilizante líquido. Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar o carvão hidrotérmico quanto as suas características húmicas, comparando-as com as de solos Terra Mulata; avaliar os efeitos da aplicação de carvão hidrotérmico como fertilizante na cultura de milho para diferentes solos e taxas de aplicação. Ainda, foram avaliados os efeitos no desenvolvimento inicial de milho, alface e tomate, na presença da água de processo; a toxicidade da água de processo para *Artemia salina*; e o efeito do carvão hidrotérmico no desenvolvimento inicial de milho e tomate, por meio de extratos obtidos em água e solução ácida. A caracterização húmica mostrou que compostos resultantes de degradação biológica, assim como diferentes estruturas de lignina estavam presentes da composição dos ácidos húmicos de solos Terra Mulata, porém não foram observados na composição do material tipo-húmico. Entre as culturas analisadas, a água de processo melhor estimulou o desenvolvimento das sementes de milho, especialmente na concentração de 250 mg C L⁻¹. A água de processo foi classificada como praticamente não tóxica para *Artemia salina*. O extrato aquoso de carvão hidrotérmico melhor estimulou o desenvolvimento tanto de milho quanto de tomate, cujas melhores concentrações foram 100 e 50 mg C L⁻¹ respectivamente. Para a aplicação em solo, não foram observadas diferenças na produção de biomassa entre as taxas de aplicação avaliadas, indicando que o mesmo não atuou negativamente no desenvolvimento de milho.

Palavras-chave: solos, fertilizante, germinação, crescimento, carbonização.

ABSTRACT

Brazil is the largest producer of sugarcane in the world. The production of sugar and ethanol from sugarcane generates by-products such as vinasse and sugarcane bagasse. Vinasse has been used in crop fertigation, and sugarcane bagasse is used in energy cogeneration. Although their applications are known, there is a surplus of these materials that are stocked at the industries. Problems linked to soil salinization, groundwater contamination, problems with the stable fly (decrease at cattle gain weight and decrease in milk production) are reported. Their use in hydrothermal carbonization (CHT) is an environmentally friendly alternative for their disposal. CHT is a biomass thermochemical conversion process, which produce a solid material rich in carbon (hydrochar), and liquid fraction (process water). The hydrochar characteristics showed potential for its use as soil conditioners. Further, the process water could be used as liquid fertilizer. Thus, the aim of this work was the hydrochar characterization regarding its humic characteristics, comparing them with those from Terra Mulata soils; the evaluation of hydrochar as fertilizer in maize crop with different application rates using different soils. Further, it was evaluated the effects of maize, lettuce and tomato in the inicial development by the use of process water; the process water toxicity to *Artemia salina* organisms; the effects of hydrochar in the inicial development of maize and lettuce by acid and water extracts obtained from hydrochar. The humic characterization showed that compounds from microbiological degradation as different lignin derivatives were present in the humic acid from Terra Mulata soils, however these compounds were not observed in the humic-like material. Among the crops evaluated, the process water better stimulated the development of maize seeds, specially at concentration of 250 mg C L⁻¹. The process water was classified as practically non-toxic to *Artemia salina*. The aqueous extract from hydrochar better stimulated the development for maize at 100 mg C L⁻¹ and for tomato at 50 mg C L⁻¹. For soil application it was not observed differences in biomass production among the applications rates studied. This suggests that the hydrochar did not affected negatively the maize development.

Key-words: soil, fertilizer, germination, growth, carbonization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico da relação entre o volume de água de processo e massa de carvão hidrotérmico obtidos em cada reação de carbonização hidrotérmica.....	42
Figura 2. Gráficos de FTIR para as amostras de carvão hidrotérmico a) referente a cinco diferentes carbonizações escolhidas ao acaso e b) referente a três amostragens diferentes após a mistura de todo carvão hidrotérmico produzido.....	43
Figura 3. Diagrama de Van Krevelen para as amostras de carvão hidrotérmico.....	45
Figura 4. Análise termogravimétrica do carvão hidrotérmico.....	46
Figura 5. Imagens de microscopia eletrônica de varredura para a amostra de carvão hidrotérmico HH_3PO_4	47
Figura 6. FTIR das amostras de ácidos húmicos e fúlvicos extraídos de solos Terra Mulata (TM I, TM II e TM III).....	52
Figura 7. FTIR das amostras tipo-ácidos húmicos (MTH) e fúlvicos (MTF) extraídos de carvão hidrotérmico.....	53
Figura 8. Espectros de fluorescência molecular das amostras de ácido húmico e fúlvico extraídos de solos, e MTH e MTF extraídos de carvão hidrotérmico.....	55
Figura 9. Diagrama de Van Krevelen, no qual estão apresentadas as relações entre as razões atômicas H/C e O/C das amostras de ácido húmico TM I, TM II, TM III, e material tipo húmicos.....	57
Figura 10. Cromatogramas obtidos por CG-EM para as amostras de ácido húmico a) TM I, b) TM II e c) TM III, e para d) MTH.....	60
Figura 11. Efeito da concentração da água de processo sobre a porcentagem de germinação de sementes de milho, alface e tomate durante sete dias.....	63

Figura 12. Correlação do índice de velocidade de germinação das sementes de milho, alface e tomate com o aumento da concentração de AP expresso em função da concentração de carbono presente na AP.....	63
Figura 13. Porcentagem de germinação das sementes de milho, alface e tomate após 7 (sete) dias para as diferentes concentrações de água de processo.....	64
Figura 14. Comprimento a) da raiz e b) parte aérea ao final de 7 (sete) dias de experimento para as diferentes concentrações de água de processo.....	69
Figura 15. Avaliação da toxicidade de água de processo utilizando náuplios de <i>Artemia salina</i> como modelo experimental.....	70
Figura 16. Microscopia óptica e eletrônica de varredura de náuplios de <i>Artemia salina</i> expostos aos testes de toxicidade da água de processo.....	72
Figura 17. Espectros de fluorescência MEE para as frações AQ e AC nas diferentes concentrações de carbono (D0, D1 e D2).....	74
Figura 18. Nutrientes presentes nas diferentes concentrações dos extratos de carvão hidrotérmico.....	75
Figura 19. Porcentagem de germinação das sementes de milho e tomate, e comprimento de raízes e partes aéreas, para as diferentes concentrações das frações solúveis de carvão hidrotérmico.....	77
Figura 20. Comprimento da parte aérea das plântulas de milho após 1 semana da emergência (12 dias do plantio, dia do desbaste).....	79
Figura 21. Massa seca das raízes e folhas de milho recolhidas ao final do experimento de crescimento em solos Terra Mulata, e, também, solos tipo latossolo e argissolo, que receberam diferentes taxas de carvão hidrotérmico.....	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização da vinhaça utilizada no processo de carbonização (macro e micronutrientes, pH, COT), e, também, em vinhaças utilizadas por outros autores.....	40
Tabela 2. Concentração de macros e micronutrientes presente na amostra de bagaço de cana utilizada no processo de carbonização, e, também, em bagaço de cana utilizado por outros autores.....	41
Tabela 3. Determinação de macros e micronutrientes presentes na água de processo e no bagaço de cana.....	48
Tabela 4. Razões de absorvância de UV-Vis para as amostras de ácido húmico e ácido fúlvico extraídos de solos Terra Mulata, e material tipo-húmico (MTH) e tipo-fúlvico (MTF) de carvão hidrotérmico.....	50
Tabela 5. Teores de Carbono (C), Hidrogênio (H), Nitrogênio (N) e Enxofre (S) para amostras de AH dos solos TM e MTH extraído de carvão hidrotérmico.....	56
Tabela 6. Razões atômicas H/C e C/N obtidas a partir da Análise Elementar dos AH e MTH.....	58

ANEXO A - CONDIÇÕES INSTRUMENTAIS PARA ANÁLISE EM FAAS.....

Tabela 1. Condições instrumentais para determinação de alumínio, cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, manganês, sódio e zinco por espectrometria de absorção atômica com atomização por chama (FAAS).....	99
--	----

ANEXO B – RELAÇÃO DOS COMPOSTOS LIBERADOS POR THERMOCHEMOLYSIS PARA AS AMOSTRAS DE ÁCIDO HÚMICO E MATERIAL TIPO-HÚMICO.....

Tabela 1. Principais compostos identificados por GC-MS liberados pela amostra de ácido húmico Terra Mulata I (AH TMI) após <i>thermochemistry</i>	100
Tabela 2. Principais compostos identificados por GC-MS liberados pela amostra de ácido húmico Terra Mulata II (AH TMII) após <i>thermochemistry</i>	102
Tabela 3. Principais compostos identificados por GC-MS liberados pela amostra de ácido húmico Terra Mulata III (AH TMIII) após <i>thermochemistry</i>	104
Tabela 4. Principais compostos identificados por GC-MS liberados pela amostra de material tipo-húmico (MTH) após <i>thermochemistry</i>	106

LISTA DE ABREVIATURAS

AC Solução Ácida

AF Ácido Fúlvico

AQ Solução Aquosa

AH Ácido Húmico

CH Carvão Hidrotérmico

CHT Carbonização Hidrotérmica

CL₅₀ Concentração Letal Cinquenta

COT Carbono Orgânico Total

D0 Concentração de 10 mg L⁻¹

D1 Concentração de 50 mg L⁻¹

D2 Concentração de 100 mg L⁻¹

D3 Concentração de 250 mg L⁻¹

D4 Concentração de 500 mg L⁻¹

D5 Água de processo concentrada

FAAS Absorção Atômica com
Atomização por Chama

FTIR Espectroscopia no Infravermelho
com Transformada de Fourier

IHSS Sociedade Internacional de
Substâncias Húmicas

MOD Matéria Orgânica Dissolvida

MOS Matéria Orgânica do Solo

MTF Material Tipo-Fúlvico

MTH Material Tipo-Húmico

AP Água de Processo

SH Substâncias Húmicas

TM Terra Mulata

TM I Terra Mulata I

TM II Terra Mulata II

TM III Terra Mulata 3

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Cana-de-açúcar e vinhaça.....	17
2.2 Carbonização Hidrotérmica.....	18
2.3 Substâncias húmicas	21
2.4 Tipos de Solos e fertilizantes.....	23
2.4 Aplicação de biochar e carvão hidrotérmico	25
3 OBJETIVO	28
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1 Carbonização hidrotérmica.....	29
4.1.1 Caracterização da vinhaça e bagaço de cana	29
4.1.2 Reações de carbonização hidrotérmica.....	29
4.1.3 Caracterização do carvão hidrotérmico	30
4.1.4 Caracterização da água de processo (AP).....	30
4.2 Substâncias húmicas e material tipo-húmico.....	31
4.2.1 Coleta dos solos	31
4.2.2 Extração e caracterização das substâncias húmicas e material tipo-húmico .	31
4.3 Avaliação da aplicação dos produtos da carbonização hidrotérmica	34
4.3.1 Água de processo.....	34
4.3.2 Carvão hidrotérmico	36
4.3.3 Análise Estatística.....	38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
5.1 Caracterização da vinhaça e bagaço de cana-de-açúcar	39
5.2 Carbonização Hidrotérmica e caracterização dos produtos gerados	41
5.3 Substâncias Húmicas	49

5.3.1 Caracterização dos Ácidos Húmicos e Fúlvicos.....	49
5.4 Avaliação da aplicação da água de processo	61
5.4.1 Experimentos de germinação e desenvolvimento de sementes	61
5.4.2 Avaliação por meio da letalidade de náuplios de Artemia salina.....	70
5.5 Avaliação da aplicação de carvão hidrotérmico	72
5.5.1 Caracterização da fração solúvel de Carvão Hidrotérmico	72
5.5.2 Experimentos de germinação com as frações solúveis do carvão hidrotérmico	76
5.5.3 Experimento de Crescimento de Milho	79
6 CONCLUSÃO.....	83
REFERÊNCIAS	84
ANEXO A – CONDIÇÕES INSTRUMENTAIS PARA ANÁLISE EM FAAS	99
ANEXO B – RELAÇÃO DOS COMPOSTOS LIBERADOS POR <i>THERMOCHEMOLYSIS</i> PARA AS AMOSTRAS DE ÁCIDO HÚMICO E MATERIAL TIPO-HÚMICO.....	100

1 INTRODUÇÃO

Como resultado da vasta extensão territorial do Brasil, a produção agrícola é uma das bases da economia do país, ocupando cerca de 7,6 % de seu território nacional, o que equivale a uma área de 65.913.738 hectares (EMBRAPA, 2017). Dentre esta área, a produção de cana-de-açúcar merece destaque, compreendendo mais de 8 milhões de hectares, colocando o Brasil como um dos maiores produtores e consumidores tanto de açúcar quanto de etanol (CHRISTOFOLETTI et al., 2013). Embora a produção de cana seja bastante ampla em todo território nacional, ela se concentra principalmente na região centro-sul, produzindo mais de 38 milhões de toneladas de açúcar e mais de 27 bilhões de litros de etanol na safra 2017/2018 (UNICA, 2018).

A partir da cana-de-açúcar são produzidos o etanol e o açúcar, cujos principais resíduos de produção são a vinhaça e o bagaço de cana. A vinhaça é uma solução aquosa, rica em matéria orgânica, apresentando elevadas concentrações de potássio, sódio, cálcio, magnésio, entre outros (CHRISTOFOLETTI et al., 2013; MARINHO et al., 2014; MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015), gerada no processo para obtenção do etanol. Em média, para cada litro de etanol produzido, são gerados de 10 a 18 litros de vinhaça. Já o bagaço de cana é composto basicamente por celulose, hemicelulose e lignina (REZENDE et al., 2011).

A quantidade de resíduos produzidos pela indústria sucroenergética, assim como a falta de um método adequado para disposição destes, sem causar prejuízos ao meio ambiente, foram os motivos que levaram Melo e colaboradores (2016a) a propor o processo de Carbonização hidrotérmica (CHT) como uma forma alternativa para utilização destes resíduos. A carbonização hidrotérmica tem surgido como uma nova forma de tratamento dos resíduos da agroindústria, ganhado destaque nos últimos anos, mostrando-se como um método adequado para conversão de biomassa em materiais ricos em carbono (carvão hidrotérmico) (KAMBO; DUTTA, 2015a; LIBRA et al., 2011; YOSHIMURA; BYRAPPÀ, 2008). O processo de carbonização hidrotérmica ocorre na presença de água (KAMBO; DUTTA, 2015b; NIZAMUDDIN et al., 2017), e são geradas uma fase gasosa, uma fase líquida (água de processo) e uma sólida (carvão hidrotérmico) (POERSCHMANN et al., 2014; TEKIN; KARAGÖZ; BEKTAŞ, 2014).

Atualmente, os carvões hidrotérmicos têm sido estudados como possíveis fonte de energia, como condicionantes de solo, ou ainda como adsorventes (FANG et al., 2018; WANG et al., 2018). A avaliação do potencial de uso do carvão hidrotérmico para fins agrícolas têm sido conduzidos por meio de experimentos com plantas, avaliando tanto o processo de germinação (BARGMANN et al., 2013; FANG et al., 2015) quanto o de crescimento (REIBE et al., 2015a; RILLIG et al., 2010a), bem como as alterações provocadas na biota do solo pelo carvão hidrotérmico (GEORGE et al., 2012; MELO et al., 2017b; SALEM et al., 2013). Estes estudos têm mostrando desde resultados positivos, como aumento da produção de biomassa após aplicação de carvão hidrotérmico (MELO et al., 2018), quanto resultados negativos como a inibição da germinação de sementes de *B. rapa* e *Z. mays* em taxa de aplicação de 10 t ha⁻¹ (BUSCH et al., 2013).

Estudos sobre emprego da água de processo da CHT também têm sido relatados, principalmente, quanto a sua utilização em novos processos de carbonização (KABADAYI CATALKOPRU; KANTARLI; YANIK, 2017; LU; FLORA; BERGE, 2014; WEINER et al., 2014), como meio de cultura para crescimento de algas (BILLER et al., 2012; HOGNON et al., 2015), em estudos de germinação de sementes (BARGMANN et al., 2013; VOZHDAYEV et al., 2015) e mais recentemente utilizando *Artemia salina* para avaliar os efeitos tóxicos (MELO et al., 2017b).

Com o aumento populacional e a limitação quanto às terras que são agricultáveis, a busca por insumos que intensifiquem a produção em uma determinada área, ou seja, que ajudem na obtenção de maior rendimento das culturas, é de grande relevância, visto a crescente necessidade de alimentos (SPIERTZ, 2010). Segundo a empresa VALE S.A., que é uma produtora/fornecedora de insumos para fertilizantes, o Brasil é o quinto maior consumidor de fertilizantes no mundo (VALE, 2015). Com a utilização de recursos naturais para sua produção, uma das grandes preocupações é com as reservas de fósforos que são limitadas.

Pesquisadores da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) têm buscado produzir condicionantes de solos que se assemelhem com as chamadas “Terras Pretas de Índio” (TPI) (EMBRAPA, 2015). Estes solos são rico em carbono e nutrientes, e apresentam elevada fertilidade, a qual é mantida mesmo com o uso em cultivos sucessivos (JORIO et al., 2010; NOVOTNY et al., 2009). Estes solos recebem, também, a denominação de Terra Mulata (TM), quando apresentam coloração mais clara (KERN

et al., 2009). Tais solos são relatados como sendo de origem pré-colombiana, localizados principalmente na região da bacia amazônica. As particularidades dos solos Terra Preta de Índio despertam o interesse de pesquisadores, fazendo com que diversos materiais sejam produzidos a partir do processamento da biomassa no intuito de tentar reproduzir tais características. Dentre os processos mais empregados destaca-se a pirólise de biomassa (biochar), e mais recentemente a carbonização hidrotérmica (carvão hidrotérmico) (NOVOTNY et al., 2015). A ideia é que carvão hidrotérmico, ou biochar, possa ser aplicado em solos pobres em carbono ou nutrientes, de maneira que possam ser melhorados, sem a adição de fertilizantes minerais (EMBRAPA, 2013). Estudos avaliando a aplicação de materiais a base de carbono em solos têm mostrado efeitos tanto positivos quanto negativos (ANDERT; MUMME, 2015; BARGMANN et al., 2013; FORNES; BELDA; LIDÓN, 2015; MELO et al., 2018; RILLIG et al., 2010b).

Contudo, mesmo que métodos de conversão termoquímica de biomassa assegurem a produção de materiais ricos em carbono, os benefícios, em termos de nutrientes, que são disponibilizados pelo solo para o desenvolvimento das plantas estão diretamente relacionados as substâncias húmicas presentes, uma vez que elas influenciam nas propriedades químicas e físicas do solo, tais como a CTC (Capacidade de Troca de Cátions) (LIPCZYNSKA-KOCHANY, 2018; PICCOLO, 1996). As substâncias húmicas encontram-se naturalmente nos solos, fazendo parte da matéria orgânica do solo (MOS). Ainda, a MOS tem influência na capacidade de retenção e armazenamento de água pelo solo, razões pelas quais é utilizada como um indicativo da qualidade do mesmo (KWIATKOWSKA-MALINA et al., 2015 a,b).

Neste sentido, embora as características, já avaliadas, do carvão hidrotérmico obtido da carbonização de vinhaça e bagaço de cana, sejam um indicativo de que este possa atuar como condicionador de solos, é de extrema importância uma avaliação dos efeitos da aplicação, antes da sua utilização em larga escala. Ainda, a caracterização da água de processo, que ainda não foi realizada, e, também, a avaliação dos resultados da sua utilização como fertilizante, se positivos, viabilizariam a utilização deste processo como forma alternativa para tratamento destes resíduos. A presença de substâncias húmicas em materiais produzidos por métodos de conversão termoquímica poderia influenciar na melhora da fertilidade dos solos, o que agregaria valor a estes materiais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cana-de-açúcar e vinhaça

A produção de cana-de-açúcar ocorre em praticamente todas as regiões brasileiras, porém concentra-se na região centro-sul, com destaque para o Estado de São Paulo que é o maior produtor conforme dados fornecidos pela União da Indústria de Cana-de-açúcar (UNICA, 2015). Para a produção de etanol, o caldo de cana é fermentado produzindo um líquido denominado de vinho, cuja destilação gera o álcool, como produto principal, e a vinhaça, resíduo (CETESB, 2015). O etanol tem valor comercial conhecido, e a vinhaça é aplicada para fins de fertirrigação, a qual é controlada no estado de São Paulo pela CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo) por meio da norma P4.231.

Brito e colaboradores (2007) estudaram diferentes tipos de solo após receberem aplicação de vinhaça, e observaram que o teor de sódio no lixiviado era maior de acordo com o aumento da dose de aplicação, podendo acarretar na poluição das águas do lençol freático. Em casos cujos solos sofrem pouco processo de lixiviação, pode ocorrer maior concentração dos íons no mesmo, devido à grande quantidade de íons dissolvidos na vinhaça (SILVA; GRIEBELER; BORGES, 2007), levando ao aumento da salinização do solo (BUENO et al., 2009).

Estudos realizados por Rolim e colaboradores (2013) mostraram que o uso de lagoas de distribuição de vinhaça alterou as características do lençol freático, e que, em alguns pontos da área estudada, a água do lençol freático se mostrou inadequada para fins de irrigação. Quando a vinhaça atinge o meio aquático também pode ser prejudicial à fauna, podendo ser nociva, e até mesmo letal, aos peixes dependendo da concentração (MARINHO et al., 2014).

Desta forma, estes estudos, dentre outros, sugerem que outras formas de utilização da vinhaça devem ser estudadas, que não a sua utilização na fertirrigação, ou seu armazenamento em lagoas artificiais (DE SOUZA DIAS et al., 2015; HOARAU et al., 2018). Tais observações, aliadas a quantidade em que são gerados, tanto a vinhaça como o bagaço de cana, foram os motivos que levaram Melo e colaboradores (2016) a propor a utilização destes resíduos na carbonização hidrotérmica. A utilização da vinhaça, como meio hidrotermal, e o bagaço de cana como fonte de biomassa, levaram a produção de

um carvão hidrotérmico cujas características mostram potencial para aplicação como condicionante de solo (BENTO et al., 2019; MELO et al., 2016; SILVA et al., 2017).

2.2 Carbonização Hidrotérmica

A carbonização hidrotérmica e a pirólise são dois métodos utilizados para conversão termoquímica de biomassa. No processo pirolítico, a biomassa precisa estar seca, enquanto na carbonização hidrotérmica, além de a biomassa poder estar úmida, é necessária a presença de água para que ocorra a reação. Do processo de carbonização hidrotérmica obtêm-se o sólido chamado carvão hidrotérmico, já do processo pirolítico obtêm-se o biochar, ambos contendo elevado teor de carbono (FANG et al., 2018; FUNKE; ZIEGLER, 2012; JINDO et al., 2014; MA et al., 2012; QIAN et al., 2015).

No processo de carbonização hidrotérmica diversas fontes de biomassa têm sido utilizadas (amido, lodo de tratamento de esgoto doméstico, madeira, resíduos urbanos, da agricultura e da indústria) o que tem feito com que o método ganhe destaque nos últimos anos (LIBRA et al., 2011; PARSHETTI; KENT HOEKMAN; BALASUBRAMANIAN, 2013; TEKIN; KARAGÖZ; BEKTAŞ, 2014). O processo termoquímico para conversão da biomassa em materiais ricos em carbono ocorre em meio aquoso submetido a temperaturas intermediárias (150 a 350 °C), fazendo com que a pressão no reator seja autogerada pelo vapor da água, sendo esta, portanto, diretamente dependente da temperatura utilizada no processo (KAMBO; DUTTA, 2015b; YOSHIMURA; BYRAPPA, 2008). A presença da água é capaz de acelerar o processo de carbonização, facilitando as diversas reações que ocorrem, e ainda, a razão biomassa/água influencia tanto nas características finais dos produtos, quanto nas proporções em que são gerados (NIZAMUDDIN et al., 2017). Reações de desidratação, descarboxilação, aromatização, hidrólise, polimerização por condensação, ocorrem simultaneamente (FUNKE; ZIEGLER, 2012; KUMAR; OLAJIRE OYEDUN; KUMAR, 2018; LIBRA et al., 2011; NIZAMUDDIN et al., 2017). Durante o processo há a formação de produtos sólidos (carvão hidrotérmico), líquidos (água de processo) e gasosos (POERSCHMANN et al., 2014; TEKIN; KARAGÖZ; BEKTAŞ, 2014).

As características dos produtos gerados na carbonização hidrotérmica vão depender da matéria prima utilizada, e, também, das condições impostas no processo (LIBRA et

al., 2011). Parâmetros como tempo de reação, temperatura, utilização ou não de aditivos, e o tipo de biomassa, são capazes, também, de modificar as proporções em que os produtos são obtidos, e alterar suas características. Temperaturas elevadas produzem menor quantidade de carvão hidrotérmico, porém com elevado teor de carbono e baixa quantidade de oxigênio e hidrogênio estruturais, apresentando assim elevado poder de combustão, razão pela qual a temperatura destaca-se como o parâmetro mais importante. O tempo de reação pode influenciar na relação entre a quantidade dos produtos da carbonização. Maior tempo de reação facilita a formação tanto de gases quanto de sólido, comparado a quantidade de líquido (FUNKE; ZIEGLER, 2010; KUMAR; OLAJIRE OYEDUN; KUMAR, 2018; NIZAMUDDIN et al., 2017). A utilização de aditivos está diretamente ligada ao favorecimento de reações de hidrólise durante o processo hidrotérmico. Catalisadores ácidos são preferíveis quando há interesse em maiores rendimentos do produto líquido (água de processo) e menores rendimentos de carvão hidrotérmico (NIZAMUDDIN et al., 2017).

Diversas fontes de biomassa têm sido utilizadas na carbonização hidrotérmica, como amido, lodo de tratamento de esgoto doméstico, madeira, resíduos urbanos, da agricultura e da indústria (LIBRA et al., 2011; PARSHETTI et al., 2013; TEKIN; KARAGÖZ; BEKTAŞ, 2014). A composição da biomassa também irá influenciar nas características dos produtos gerados no processo de carbonização. De modo geral, a biomassa é composta por celulose (35-50%), seguida por hemicelulose (20-35%), lignina (15-20%), além de proteínas, gorduras, água e cinzas (15-20%). A temperatura de degradação da hemicelulose e lignina é de 180 e 200 °C, respectivamente, e a da celulose ocorre em temperaturas acima de 200 °C. Sendo assim, a origem da biomassa também tem influência na forma com que ocorre o processo hidrotérmico, levando a materiais com características diferentes (KUMAR; OLAJIRE OYEDUN; KUMAR, 2018; NIZAMUDDIN et al., 2017). As diferentes características dos produtos permitem que eles sejam empregados desde como fontes de energia (combustível sólido) (FUNKE; ZIEGLER, 2012; OLIVEIRA; BLÖHSE; RAMKE, 2013), até como fontes de nutrientes para os solos, quando adicionados no mesmo (DU et al., 2012; LIBRA et al., 2011; RILLIG et al., 2010b), entre outras.

A utilização de diferentes biomassas amplia cada vez mais as possibilidades de emprego do processo de carbonização hidrotérmica como forma de tratamento de

resíduos. Se comparada aos processos biológicos comuns de decomposição de biomassa, na carbonização hidrotérmica tem-se um ganho temporal, uma vez que o processo hidrotérmico pode ter duração de minutos ou horas, enquanto, geralmente, o tratamento biológico pode durar dias ou meses (OLIVEIRA; BLÖHSE; RAMKE, 2013). Neste sentido, a utilização de bagaço de cana e vinhaça foram avaliados como fonte de biomassa para reação de carbonização hidrotérmica obtendo-se resultados positivos, e ainda, as características apresentadas pelo carvão hidrotérmicos mostraram que este tem potencial para ser utilizado como condicionador de solos (BENTO et al., 2019; FREGOLENTE et al., 2019; MELO et al., 2016; SILVA et al., 2017).

As águas de processo geradas na CHT também estão sendo estudadas. Assim como para os carvões hidrotérmicos, em função das diversas biomassas empregadas no processo, as águas de processo apresentam diferenças composicionais, concentrações variadas de carbono, fósforo, potássio e nitrato (BARGMANN et al., 2013; BILLER et al., 2012; WEINER et al., 2014), assim como de cálcio e magnésio (ROSS et al., 2010). Na literatura é reportada a avaliação do uso destas águas em novos processos de carbonização (KABADAYI CATALKOPRU; KANTARLI; YANIK, 2017; LU; FLORA; BERGE, 2014; WEINER et al., 2014), nos quais têm promovido o acúmulo de espécies orgânicas e inorgânicas na superfície do carvão hidrotérmico (KABADAYI CATALKOPRU; KANTARLI; YANIK, 2017), favorecendo a formação de compostos com maior massa molecular, resultando em um carvão hidrotérmico com maior poder de combustão e teor de carbono (STEMANN; PUTSCHEW; ZIEGLER, 2013). Ainda, tal observação seria devido a acidez da água de processo, que utilizada como meio hidrotermal poderia agir como catalizador, facilitando as reações durante o processo, dispensando ou minimizando a necessidade de adição de ácidos ao meio reacional (STEMANN; PUTSCHEW; ZIEGLER, 2013).

Ainda é reportado que estas águas contêm, de forma geral, fenóis, ácidos orgânicos e furanos, formados durante o processo de degradação da biomassa (KAMBO; DUTTA, 2015a), os quais podem causar efeito tóxico no desenvolvimento das plantas. Tais atividades tóxicas têm sido avaliadas por meio de experimentos de germinação de sementes, crescimento de algas (BARGMANN et al., 2013; BILLER et al., 2012; HOGNON et al., 2015; VOZHDAYEV et al., 2015), e ainda utilizando organismos

modelos, como *Artemia salina*, para quantificação do seu possível efeito tóxico (MELO et al., 2017b).

2.3 Substâncias húmicas

A matéria orgânica do solo (MOS) é formada tanto por compostos com estrutura definida, quanto por compostos com estruturas indefinidas, ambos com grande importância para o ambiente terrestre (NEBBIOSO; PICCOLO, 2011), atuando na adsorção e distribuição de nutrientes para desenvolvimento das plantas, e interferindo no processo de adsorção de poluentes e pesticidas, amenizando os efeitos negativos que poderiam ser causados pela presença destes em excesso (HARTEMINK et al., 2014). O processo de degradação química e biológica da matéria orgânica é iniciado pela decomposição de compostos lábeis, que se decompõem mais facilmente, como aminoácidos, celulose e polissacarídeos, seguido pela degradação de compostos recalcitrantes (STEVENSON et al., 1994).

O material orgânico presente nos solos pode ser dividido em dois grandes grupos, o das substâncias não húmicas, as quais apresentam características químicas e físicas bem definidas como proteínas, aminoácidos, polissacarídeos e ácidos graxos, sendo compreendida por aproximadamente 20% da matéria orgânica do solo; e o das substâncias húmicas (SH), composta por moléculas de elevada massa molecular, ricas em grupos funcionais oxigenados, como carbonilas, carboxilas e hidroxilas fenólicas, representando, aproximadamente 80% da MOS. As substâncias húmicas apresentam elevada massa molecular e não possuem estrutura química definida (TADINI et al., 2015), apresentando grande quantidade de grupamentos funcionais na sua estrutura, sendo isto um dos fatores responsáveis pela sua eficiência agronômica (SENESI et al., 2007). Técnicas como ressonância magnética nuclear (RMN), eletroforese, espectroscopia na região do infravermelho, análise elementar, e mais recentemente a *thermochemistry*, são utilizadas na tentativa de elucidar a estrutura das substâncias húmicas (PICCOLO, 2002; SENESI, 1990; SENESI et al., 2007; TADINI et al., 2015).

Com base em sua solubilidade em meio aquoso, as substâncias húmicas (SH) podem ser divididas em: ácidos húmicos (AH), fração solúvel apenas em meio alcalino; ácidos fúlvicos (AF), fração solúvel tanto em meio ácido, quanto em meio alcalino; e

humina, fração insolúvel em qualquer condição de pH (BUFFLE et al., 1990; STEVENSON et al., 1994).

Os Ácidos Húmicos são compostos por macromoléculas de massa molecular relativamente elevada, formados a partir de algumas reações de síntese secundária de resíduos orgânicos de plantas, microrganismos e animais (STEVENSON et al., 1994, PICCOLO et al., 2002). Quimicamente são complexos, formados por polímeros, compostos aromáticos e alifáticos, apresentando maior massa molecular, maior teor de C, porém menor teor de O, e teor de H similar ao exibido pelos AF (SANTOS; CAMARGO, 1999; STEVENSON et al., 1994; ZECH et al., 1997). A massa molecular dos AH tende a serem maior que a dos AF, possuindo maiores grupamentos aromáticos e menores quantidades de grupos carboxílicos (CANELLAS; FAÇANHA, 2004). Benefícios são observados ao se utilizar ácidos húmicos, como aumento da complexação de cátions (potássio, cálcio e magnésio) presentes no solo, tornando-os mais disponíveis para absorção pelas raízes das plantas; retenção da umidade no sol; e estímulo do desenvolvimento radicular das culturas (CANELLAS et al., 2005).

Os Ácidos Fúlvicos apresentam estrutura com menor grau de polimerização (WOLF et al., 1994). Quimicamente são constituídos por polissacarídeos, aminoácidos, compostos fenólicos, apresentando massa molecular menor que os ácidos húmicos. Os AF apresentam alto conteúdo de grupos carboxílicos e fenólicos, fazendo com que essa fração de SH seja a mais reativa. Cada fração das SH é responsável por conferir benefícios específicos ao solo, onde os AF auxiliam nos processos de metabolismo e crescimento das plantas (STEVENSON et al., 1994; SILVA; MENDONÇA, 2007).

Solos Terra Preta de Índio (TPI) são uma variedade de solo rico em matéria orgânica encontrados em alguns pontos da região amazônica (KERN et al., 2009). Este nome foi designado a solos de origem pré-colombiana, de profundidade variável, e elevada fertilidade. Uma das principais características deste solo é a sua capacidade de manter a fertilidade mesmo com seu uso intensivo. Este fator ocorre devido às propriedades e características da matéria orgânica presente (MADARI et al., 2003; NOVOTNY et al., 2009), estando ligada não somente a presença de carbono na sua composição, mas também ao perfil desse carbono, apresentando-se em estruturas aromáticas mais condensadas conferindo maior recalcitrância à matéria orgânica (ARAUJO et al., 2014; LEMOS et al., 2011).

Alguns estudos foram realizados com o intuito de uma tentativa para reproduzir esse modelo de matéria orgânica (ARAÚJO et al., 2014; LINHARES et al., 2012). Desta forma, para avaliar os benefícios da utilização de carvões hidrotérmicos como fertilizantes/condicionantes de solos, se faz interessante a avaliação do material quanto a presença de material tipo-húmico. A extração e caracterização da fração tipo-húmica presente nesses materiais ricos em carbonos é de extrema importância para o entendimento dos benefícios que sua aplicação no solo poderia trazer para as plantas, dada a participação das substâncias húmicas na fertilidade dos solos.

2.4 Tipos de Solos e fertilizantes

Os solos podem ser classificados em diferentes categorias. Tal classificação dependerá das características apresentadas por ele, como morfologia, propriedades físicas, químicas e mineralógicas, variando também de acordo com a sua textura, determinada pela proporção de argila e areia presentes no mesmo (SANTOS et al., 2014). No Brasil, em termos de extensão geográfica, há um predomínio de solos do tipo Latossolo seguido pelo Argissolo.

Os Latossolos, de um modo geral, são solos ácidos e de baixa fertilidade, e apresentam textura de médio a muito argilosa. Eles são formados a partir de várias espécies de rochas e sedimentos, e ocorrem em regiões sob condições de clima e vegetação dos mais diversos, razão pela qual se apresentam em aproximadamente 39% do território nacional (SANTOS et al., 2014; SANTOS et al., 2006). Com predomínio de aproximadamente 24% da extensão geográfica do Brasil, encontram-se solos do tipo Argissolo. Esses solos são uma classe bastante heterogênea onde sua textura varia da superfície para baixo, tendo um aumento quanto à quantidade de argila. A fertilidade apresentada por esses solos é bastante diversificada, havendo predomínio de solos com relativa pobreza de nutrientes, sendo moderadamente ácidos (SANTOS et al., 2014; SANTOS et al., 2006).

Uma variedade de solo que tem ganhado destaque ultimamente é aquele conhecido como “Terra Preta de Índio”, e sua variável, de cor mais clara, conhecida como Terra Mulata. Este nome foi designado a solos de origem pré-colombiana, de profundidade variável, rico em matéria orgânica bem como outros elementos, encontrados em alguns

pontos da região amazônica. Sua origem é reportada como sendo consequência das atividades de povos indígenas, não sendo claro ainda se tratar de resultado de um processo intencional, para fertilização do solo, ou se são apenas consequência das atividades domésticas e cultivos agrícolas (JORIO et al., 2010; KERN et al., 2009; NOVOTNY et al., 2009).

Estudos realizados por Lemos e colaboradores (2011) com solos de uma área de Terra Preta mostraram que as atividades realizadas por antigos habitantes da área provocaram sim alterações nas características superficiais destes solos. A comprovação foi dada pela mudança de cor do solo devido ao acúmulo de matéria orgânica de origem animal, assim como mudança na textura do solo, relacionada à ocupação humana, entre outras. Esses solos apresentam cor escura e também restos de cerâmica e artefatos indígenas, que são materiais arqueológicos (KERN et al., 2009; MESCONT et al., 2011). A cor escura, provavelmente, seria devida à decomposição de material orgânico derivado da queima de vegetação, onde o solo seria utilizado para a agricultura, e também da queima de fogueiras domésticas. Já a presença de fósforo, cálcio e magnésio podem ser oriundas da decomposição de resíduos de peixes, conchas, entre outros (KERN et al., 2009).

A presença da Terra Preta na Amazônia não ocorre de forma concentrada, ela está dispersa em grande parte da região amazônica, em ambientes com diferentes características abióticas e bióticas, mas que estão sempre próximas a cursos da água, de rios que compõem a bacia hidrográfica amazônica, e a locais bem drenados (KERN et al., 2009). A variação tanto da extensão desses sítios, como da profundidade em que são encontradas as Terras Pretas são, provavelmente, devido ao tempo de permanência dessas populações no local, e da densidade ocupacional de cada assentamento. Uma das principais características deste solo é a sua capacidade de manter a elevada fertilidade, mesmo com seu uso intensivo, fator este devido às propriedades e características da matéria orgânica presente (NOVOTNY et al., 2009). Isto seria explicado não somente pela presença de carbono na sua composição, mas também no perfil desse carbono, no qual estruturas aromáticas mais condensadas justificariam a recalcitrância desta matéria orgânica (ARAÚJO et al., 2014; LEMOS et al., 2011).

Alguns estudos foram realizados como tentativa para reproduzir este modelo de matéria orgânica. Linhares e colaboradores (2012) promoveram a oxidação de carvão

ativado com hipoclorito de sódio, obtendo assim compostos orgânicos similares aos encontrados nas Terras Pretas. Já Araújo e colaboradores (2014) usaram carvões ativados obtidos de diferentes fontes como turfa, madeira, fibra de coco, entre outros, mostrando que as estruturas poli condensadas dos ácidos húmicos encontrados nas Terras Pretas são similares aos extraídos das frações preparadas em laboratório.

Estudos feitos com carvão hidrotérmico produzido com vinhaça indicaram a presença de estruturas aromáticas, provavelmente condensadas, evidenciadas tanto pela baixa razão atômica H/C quanto pela identificação por meio de análise espectral na região do infravermelho desse material, podendo apresentar recalcitrância considerável quando aplicado ao solo (FREGOLENTE et al., 2019).

2.4 Aplicação de biochar e carvão hidrotérmico

A utilização de carvão hidrotérmico como condicionantes de solos vêm sendo avaliada devido a sua similaridade com o biochar (KAN; STREZOV; EVANS, 2015; NIELSEN et al., 2014; TRIPATHI; SAHU; GANESAN, 2016; WANG et al., 2017). Estudos têm demonstrado que a resposta da aplicação de ambos materiais (carvão hidrotérmico e biochar) é altamente dependente tanto da biomassa utilizada no processo termoquímico, quanto das condições impostas nos processos (BARGMANN et al., 2013; REIBE et al., 2015b; SONG et al., 2014). Ainda, tem sido observado que a resposta, muitas vezes, é espécie-dependente, ou seja, pode favorecer o desenvolvimento de alguns tipos de plantas, enquanto que pode ser prejudicial para outras (BARGMANN et al., 2014). A presença destes materiais no solo pode influenciar nas suas características como textura e agregação, e também na comunidade microbológica presente (ABEL et al., 2013; RILLIG et al., 2010a).

Os efeitos na cultura de trigo após aplicação de biochar foram avaliados em duas doses (30 e 60 t ha⁻¹), ao longo de duas safras. Aumento na produção de grãos e maior rendimento de biomassa foram encontrados para ambas taxas de aplicação quando comparados com o controle, mostrando que o biochar promoveu melhora na qualidade do solo, sendo esta melhora persistente na safra subsequente (VACCARI et al., 2011). Estudos de Abel e colaboradores (2013) avaliaram o impacto da aplicação de carvão hidrotérmico e biochar na retenção de água, cujos resultados indicaram que a aplicação

de ambos foi benéfica para a retenção de água em solos com baixa capacidade de água disponível. O efeito do carvão hidrotérmico e do biochar na mineralização do Isoproturon (IPU), também foi estudado, demonstrando, ambos, elevada capacidade para retenção do herbicida, com destaque para o carvão hidrotérmico, que promoveu a mineralização controlada do IPU reduzindo o risco de lixiviação e acumulação do mesmo no solo (EIBISCH; SCHROLL; FUSS, 2015).

Mia e colaboradores (2014) avaliaram os Efeitos da aplicação de biochar, com taxas de 0, 10, 50 e 120 t ha⁻¹, na fixação biológica de nitrogênio de *Trifolium pratense* (trevo vermelho) em monoculturas, e também na presença de grama *Festuca rubra L.* e *Plantago lanceolata L.*, concluindo que diferentes taxas de aplicação provocavam mudanças distintas na produção de biomassa e na fixação biológica de nitrogênio. A taxa de aplicação de 120 t ha⁻¹ diminuiu a produção de biomassa tanto em culturas mistas quanto em monocultura do trevo vermelho. Já a taxa de 10 t ha⁻¹ proporcionou maior taxa de fixação biológica de nitrogênio, e, também, maior produção de biomassa (MIA et al., 2014).

Butnan e colaboradores (2015), relataram o efeito do biochar aplicado no solo em culturas subsequentes de milho, investigando os efeitos do tempo na aplicação. Foram analisados dois biochars, um obtido a temperatura de 350 °C e outro a 800 °C, e taxas de aplicação de 0, 1, 2 e 4 % m/m em Latossolo e Argissolo, no período de 32 e 82 dias. Os resultados indicaram que o efeito do biochar foi de longa duração. O biochar produzido a 250 °C, e taxa de aplicação de 1 a 2 % m/m, proporcionou melhores benefícios ao solo. Nutrientes como K, Ca e Mg foram avaliados nas folhas do milho, sendo observado aumento na concentração de K e diminuição das concentrações de Ca e Mg, para todas as taxas de aplicação, principalmente para a taxa de aplicação de 4% (BUTNAN et al., 2015). Já para experimentos realizados utilizando trigo, foi observada diminuição da biomassa, assim como aumento da concentração de K e Mg e diminuição de Ca nas plantas, com o aumento da taxa de aplicação de biochar no solo (BORCHARD et al., 2014).

Desta forma, entende-se que os resultados observados da aplicação de materiais ricos em carbono obtidos por métodos de conversão termoquímica de biomassa são variáveis. Ainda, as respostas mostraram ser dependentes de fatores como matéria prima utilizada no processo, seja carbonização hidrotérmica ou pirólise; condições reacionais

empregadas no processo; cultura avaliada no experimento; e taxas de aplicação. Sendo assim, as respostas podem ser diferentes para cada material produzido, mostrando a importância de ser realizada a avaliação de cada material produzido, para que efeitos reais da aplicação possam ser observados.

3 OBJETIVO

Considerando a hipótese de que a aplicação de carvão hidrotérmico em solos possa melhorar a fertilidade do mesmo, exibindo rendimentos similares aos observados em solos Terra Mulata, o objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da aplicação de carvão hidrotérmico no desenvolvimento de milho, utilizando dois tipos de solo, latossolo e argissolo.

Objetivos específicos:

- Avaliar se as características do carvão hidrotérmico produzido em reator com capacidade de 500 mL, comparadas ao carvão hidrotérmico produzido em reator de 60 mL;
- Caracterizar a água de processo obtida com a carbonização hidrotérmica de vinhaça e bagaço de cana;
- Caracterizar as substâncias húmicas extraídas de solos Terra Mulata e de carvão hidrotérmico, avaliando as diferenças e semelhanças entre elas;
- Avaliar a toxicidade da água de processo por meio de experimentos de germinação, e, também, utilizando *Artemia salina*;
- Avaliar o efeito de extratos obtidos de carvão hidrotérmico (extrato aquoso e ácido) no processo de germinação de sementes;
- Avaliar os efeitos da aplicação direta de carvão hidrotérmico em latossolo e argissolo, em diferentes taxas de aplicação, no desenvolvimento de milho.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Carbonização hidrotérmica

4.1.1 Caracterização da vinhaça e bagaço de cana

A vinhaça utilizada neste trabalho foi caracterizada quanto a concentração de carbono orgânico total, pH, turbidez, concentração de fósforo (Standard Methods 4500-PE), concentração de sulfato (Standard Methods 4500-SO₄⁻² E), e, também, quanto a presença de nutrientes por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização por Chama (FAAS) (condições instrumentais apresentadas no Anexo A, Tabela 1), sendo previamente submetida à decomposição ácida, seguindo o método 3010A EPA (US EPA, 1992).

O bagaço de cana utilizado foi caracterizado quanto aos nutrientes presentes por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização por Chama (FAAS) (Condições instrumentais apresentadas no Anexo A, Tabela 1), sendo realizada, previamente, extração ácida dos nutrientes, seguindo o método 3050B EPA (US EPA, 1996).

4.1.2 Reações de carbonização hidrotérmica

As reações de carbonização hidrotérmica utilizando a mistura vinhaça e bagaço de cana eram produzidas inicialmente, pelo grupo de pesquisa, em reatores com capacidade de 50 mL, conforme descrito por Melo (2016) e Silva (2017) e colaboradores. Neste trabalho, a capacidade do reator foi aumentada para 500 mL, contudo as condições reacionais foram mantidas, empregadas conforme a patente BR10201600222. Assim, a mistura vinhaça e bagaço de cana foi acidificada com ácido fosfórico 4% (v/v), a temperatura de carbonização foi de 230 °C, e o tempo de reação foi de 13 horas. Após a reação, o reator foi imerso em banho de gelo para sessar a reação. Em seguida ele foi aberto, o conteúdo foi separado por filtração a vácuo, sendo a água de processo (produto líquido) armazenada e o carvão hidrotérmico (produto sólido) lavado constantemente com água deionizada, até pH constante. Em seguida o carvão hidrotérmico foi seco em estufa até peso constante. Foram realizadas 61 reações de carbonização hidrotérmica nestas condições a fim de obter-se a quantidade de material necessária para utilização nos

experimentos de germinação e crescimento, e, também, para a avaliação das características húmicas do material.

4.1.3 Caracterização do carvão hidrotérmico

O carvão hidrotérmico (CH) foi caracterizado por espectroscopia de infravermelho com ATR (FTIR) (PerkinElmer, modelo Spectrum Two – UART Two), para o qual o material sólido foi colocado diretamente sobre o cristal do ATR. Os espectros foram obtidos na faixa espectral de 4000-400 cm^{-1} , com 20 varreduras e resolução de 1 cm^{-1} .

As determinações de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre foram realizadas com o auxílio de um Analisador Elementar (2400 Series II CHNS/O, Perkin Elmer), pelo Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará. O teor de oxigênio foi determinado por diferença, conforme descrito pela Equação 1.

$$O = 100 - (\%C + \%H + \%N + \%S + \%Ash) \quad (1)$$

A análise termogravimétrica foi feita utilizando um analisador termogravimétrico (PerkinElmer, modelo TGA 4000), empregando intervalo de temperatura de 50 a 900 $^{\circ}\text{C}$, com taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, sob fluxo de nitrogênio (20 mL min^{-1}).

O carvão hidrotérmico também foi caracterizado por microscopia eletrônica de varredura (MEV), pelo Laboratório de Materiais Funcionais Avançados (LaMFA) da Universidade Federal do Ceará. Para as análises, as amostras foram pulverizadas em fita de carbono, afixada sobre stub de alumínio, e recobertas com ouro, por meio da técnica de sputtering utilizando um equipamento Q150TES da Quorum. As imagens foram obtidas utilizando detector de elétrons secundário (SE) e tensão do feixe entre 5 e 20 kV.

Ainda, foram determinadas cinzas, matéria orgânica e umidade do carvão hidrotérmico (APHA, 1997), e também o pH (US EPA, 2004).

4.1.4 Caracterização da água de processo (AP)

A água de processo, produzida nas reações de carbonização hidrotérmica, foi caracterizadas quanto ao pH, turbidez (turbidímetro multimultiparâmetro HI 93703), cor (medidor de cor HI 96727, Hanna Instruments), carbono orgânico total (analisador de carbono orgânico TOC-VCSN, Shimadzu), concentração de sulfato (Standard Methods

4500-SO4-2), fósforo (EMBRAPA, 2000), e concentração de nutrientes por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização por Chama (condições instrumentais estão apresentadas no Anexo A, Tabela 1), sendo realizada previamente a extração ácida das amostras, seguindo o método 3010A EPA (US EPA, 1992).

4.2 Substâncias húmicas e material tipo-húmico

4.2.1 Coleta dos solos

Os procedimentos de amostragem e preservação de amostras de solo seguiram as recomendações propostas pelo método 2012 US EPA (US EPA, 2000). Foram selecionadas 3 áreas diferentes de ocorrência de solos Terra Mulata, sendo a primeira proveniente de uma região de área aberta, com vegetação nativa e cobertura vegetal rasteira (denominada de TM I); a segunda, de uma região de área fechada e com vegetação nativa (denominada de TM II); e a terceira, de região coletada próximo a áreas de cultivo e queimada (denominada de TM III), todas localizadas próximo à cidade de Itacoatiara-AM (autorização de coleta SISBio pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Ministério do Meio Ambiente, nº50042-2; e cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional associado (SISGen) número A0018C2). As amostras de solo foram coletadas na camada de 0-30 cm de profundidade, secas ao ar, e peneiradas (2 mm) para remoção de raízes e restos de vegetais.

4.2.2 Extração e caracterização das substâncias húmicas e material tipo-húmico

Para os três solos Terra Mulata, e para o carvão hidrotérmico (produzido conforme o item 2.1.2) a extração das substâncias húmicas e tipo-húmicas foi realizada seguindo o procedimento sugerido pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) (SWIFT, 1996). Foram utilizados, aproximadamente, 100 g de solo/carvão hidrotérmico, e NaOH 0,1 mol L⁻¹ como solução extratora, sendo mantidos sob atmosfera de nitrogênio e agitação por 4 horas. Em seguida, por diferença de pH, as substâncias húmicas foram separadas em ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina. Após separação, foi realizada purificação do ácido fúlvico utilizando coluna de resina XAD-8. O ácido húmico, após separação, foi redissolvido em solução de KOH 0,1 mol L⁻¹, e precipitado novamente

acidificando a solução. Na sequência etapas de purificação foram realizadas utilizando solução HCl 0,1 mol L⁻¹/ HF 0,3 mol L⁻¹, e mantidos sob agitação durante a noite. Ao final foi utilizando centrifugação para separação do ácido húmico da solução. O tratamento HCl/HF foi repetido até que o teor de cinzas no material fosse <1%. Após, o ácido húmico foi submetido à diálise como etapa final de purificação. Ao final dos processos de purificação, o ácido húmico e o ácido fulvico foram liofilizados. A humina não foi caracterizada neste trabalho. Para o carvão hidrotérmico, os extratos foram nomeados de material tipo-húmico (MTH) e material tipo fúlvico (MTF), uma vez que o processo de extração empregado foi o mesmo utilizado para extração em solos, contudo, por não se tratar do mesmo tipo de material, optou-se pela denominação apresentada.

Espectroscopia no UV-Vis

Para a caracterização por UV-Vis das amostras de ácido húmico, ácido fúlvico, material tipo-húmico e material tipo-fúlvico foram preparadas soluções contendo 20,0 mg COT L⁻¹, determinadas por Analisador de Carbono Orgânico Total (TOC-V CSN, Shimadzu), e a força iônica do meio foi ajustada com solução de KCl 0,1 mol L⁻¹. A partir dos espectros foram estimadas as razões E4/E6, E3/E5, E2/E4 e A₂₅₄/A₂₀₃.

Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)

Os espectros dos AH, AF, MTH e MTF na região do infravermelho, foram obtidos utilizando um espectrofotômetro com ATR acoplado. O material sólido foi colocado diretamente sobre o cristal do ATR, utilizando a faixa espectral de 4000-400 cm⁻¹, com 20 varreduras e resolução de 1 cm⁻¹.

Espectroscopia de Fluorescência Molecular

A análise de fluorescência molecular no modo matriz excitação/emissão foi obtido para as amostras de AH, AF, MTH e MTF. O intervalo de análise foi de 300 a 600 nm para emissão, 250 a 500 nm para excitação, aumentando sequencialmente em 5 nm, com abertura de fenda de 5 nm (TRAVERSA et al., 2014).

Análise Elementar (CHNOS)

As determinações de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre foram realizadas pelo Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará, empregando um Analisador Elementar (2400 Series II CHNS/O, Perkin Elmer) para as amostras de ácido húmico e material tipo-húmico. Considerando que as amostras de ácido húmico são livres de cinzas, a porcentagem de oxigênio foi determinada por diferença, seguindo a equação 2.

$$O = 100 - (\%C + \%H + \%N + \%S) \quad (2)$$

Pirólise off-line utilizando o Hidróxido de Tetrametilamônio aplicado à Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa (off-line TMAH-Thermochemolysis-GC-MS)

Foram submetidas a esta análise as amostras de AH de solos Terra Mulata e MTH. Para a pirólise foram pesadas aproximadamente 0,200 g de amostra em cubeta de quartzo. À amostra foram adicionados 500 µL de tetrametilamônio 25% (v/v) em metanol, mantendo a solução em repouso por 2 horas. Na sequência, a amostra foi introduzida no reator (cilindro de vidro) e aquecida até 400 °C, com taxa de aquecimento de 20 °C min⁻¹, permanecendo nesta temperatura por 10 minutos, mantida sob fluxo de hélio constante. Os produtos liberados foram coletados, continuamente, em dois Erlenmeyers contendo clorofórmio, mantidos em banho de gelo. As soluções foram combinadas, e concentradas por rota-evaporação. Na sequência, as amostras foram transferidas para vials de vidro, e analisadas por cromatografia gasosa.

Para as análises GC-MS foi utilizada coluna RTX-5MS WCOT, com tempo de corrida de 60 minutos, hélio como gás de arraste (1,90 mL min⁻¹), temperatura de injeção de 250 ° no modo split, e fluxo 30 mL min⁻¹, e faixa de varredura de m/z 45-650 (SPACCINI; PICCOLO, 2007).

4.3 Avaliação da aplicação dos produtos da carbonização hidrotérmica

4.3.1 Água de processo

Experimentos de germinação e desenvolvimento de sementes

Os experimentos de germinação foram realizados em placas de Petri utilizando agarose como meio de desenvolvimento. Foram usadas sementes de milho (*Zea mays*, Poaceae) (Seminis, 85% germinação), sementes de alface (*Lactuca sativa*, Asteraceae) (Sakata, 95% germinação) e sementes de tomate (*Solanum lycopersicum*, Solanaceae) (Sakata, 95% germinação), adquiridas comercialmente. A agarose foi preparada na proporção 1 g para 100 mL de solução. Por solução entende-se água deionizada e as diferentes diluições da água de processo (AP). A AP concentrada (amostra D5), com concentração de carbono orgânico total (COT) de 25190 mg C L⁻¹ foi diluída para soluções contendo 50, 100, 250 e 500 mg C L⁻¹ (amostras D1, D2, D3 e D4) e tiveram o pH corrigido para ~5,50 (BHATTACHARYA; KHUSPE, 2001; GONÇALVES et al., 2016).

As sementes foram previamente tratadas com solução de hipoclorito de sódio 10 % por 15 min. Em seguida foram lavadas exaustivamente com água destilada. Para estes ensaios, 10 sementes foram colocadas em cada placa de Petri (15 cm de diâmetro), com 5 repetições para cada concentração de água de processo, e colocadas aleatoriamente em câmara de germinação tipo B.O.D. (Marconi, MA 403), permanecendo à 25 °C, por 7 dias, com fotoperíodo de 16 h dia e 8 h noite. Os experimentos foram monitoradas dia a dia durante os sete dias, registrando o número de sementes germinadas diariamente. As sementes foram consideradas germinadas quando o comprimento superior ou igual a 0,5mm de parte aérea ou raiz estivesse emergente da semente. A partir destes resultados, foi calculado o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) conforme descrito na Equação 1:

$$IVG = \sum \frac{G_i}{N_i}$$

Onde, G_i = ‘número de sementes germinadas no dia de contagem’ e n_i = ‘dia da contagem’ (MAGUIRE, 1962; SILVA; MATOS, 2016; ZHOU et al., 2016).

Ao final do experimento foi feita contagem do número total de sementes germinadas em cada placa. Foram medidos os comprimentos da raiz e da parte aérea de todas as sementes germinadas utilizando o software ImageJ (versão 1.51i) para determinar o crescimento das plantas. A análise estatística dos resultados foi realizada conforme descrito no item 4.3.3.

Avaliação por meio da letalidade de náuplios de Artemia salina

A avaliação da letalidade da AP frente aos náuplios de *Artemia salina* foi realizada pelo Laboratório de Materiais Funcionais Avançados (LaMFA), da Universidade Federal do Ceará. Cistos de *Artemia salina* (Maramar) foram adquiridos comercialmente e preservados em sua embalagem original, em temperatura ambiente (24 °C). Os cistos foram incubados em frascos de vidro contendo água do mar artificial, preparada com mistura de sal marinho comercial (Blue Treasure, Reef Sea Salt) e água ultrapura, na relação de 0,20 g de cistos para 200 mL de água ultrapura, conforme descrito por Meyer et al. (1982). A eclosão ocorreu sob aeração e iluminação constantes, durante 48 h.

Foram utilizadas três concentrações de água de processo com base na quantidade de COT (10, 100 e 1000 mg C L⁻¹), e o pH do meio foi ajustado para 8. A avaliação da toxicidade aguda foi realizada em náuplios de *Artemia salina* durante 24 h de exposição. Os experimentos foram conduzidos em placa para cultura de células (24 poços) às quais foram adicionados 10 exemplares de náuplios por poço. Os animais não receberam alimentos durante o experimento, que foi realizado com 5 repetições para cada concentração. O controle negativo foi constituído apenas de água do mar artificial e 10 náuplios de *Artemia*. Ao final, as análises foram conduzidas mediante comparação das condições testadas com as condições controle.

As mudanças morfológicas e o acúmulo de material nos náuplios de *Artemia* foram observadas por microscopia ótica (microscópio Leica DM 2500), em campo claro (MADHAV et al. 2017). Após exposição ao ambiente de interesse, os organismos foram transferidos para lâmina de vidro e observados em ampliação de 200 vezes no microscópio ótico. As imagens foram capturadas pela câmera do microscópio, através do programa CellB.

Para a análise mais detalhada dos náuplios, após exposição à água de processo, indivíduos também foram submetidos à análise por microscopia eletrônica de varredura (SEM). Os animais foram fixados em solução contendo glutaraldeído 2,5%, formaldeído 4% em tampão cacodilato de sódio 0,1 mol/L pH 8. Em seguida o material foi desidratado em série crescente de acetona (30, 50, 70, 90 e 100 %) e seco com HMDS (hexametildisilano). Por fim, as amostras foram fixadas em stubs com fita de carbono, metalizadas com 20 nm de ouro (Quorum QT150ES) e observadas em microscópio eletrônico de varredura (Quanta FEG 450 - FEI) sob voltagem de 20 kV.

Após o período de 24 h, os dados obtidos nos testes de letalidade foram processados utilizando o software Microsoft Excel e, os valores de CL_{50} foram calculados a partir da porcentagem de morte e logaritmo das concentrações por análise Probit, conforme descrito por Finney (1971). A CL_{50} equivale à concentração de água de processo necessária para reduzir 50% da população de animais expostos.

4.3.2 Carvão hidrotérmico

Extração e caracterização da fração solúvel do Carvão Hidrotérmico

A extração da fração solúvel do carvão hidrotérmico foi realizada utilizando dois extratores, água deionizada (OH et al., 2012) e solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ (SUN et al., 2017), na proporção 1:15 de carvão hidrotérmico (gramas) e solução extratora (mililitros), sendo mantidos sob agitação por 12 horas. Em seguida a solução foi centrifugada para separação da fase aquosa (3500 rpm por 15 min), e depois filtrada duas vezes utilizando papel filtro comum, para separação efetiva do sólido (SUN et al., 2017). A concentração de carbono orgânico total (COT) no filtrado foi determinada utilizando um analisador de carbono orgânico total (TOC-VCSN, Shimadzu).

Experimentos de germinação

Foram preparadas diluições das frações solúveis nas concentrações 0, 10, 50 e 100 mg de C L⁻¹ (controle, D0, D1 e D2 respectivamente), utilizando água deionizada, e o pH foi corrigido para ~5. Foram avaliadas a germinação de sementes de milho e tomate em gel de agarose conforme descrito no item “*Experimento de desenvolvimento e*

germinação de sementes” para água de processo (item 4.3.1). O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) também foi determinado conforme descrito anteriormente. Ao final do experimento foi realizada a contagem do número de sementes germinadas em cada placa, e foram medidos os comprimentos da raiz e da parte aérea de todas as sementes germinadas utilizando o software ImageJ (versão 1.51i). A análise estatística dos resultados foi realizada conforme descrito no item 4.3.3.

Caracterização das frações solúveis

As frações solúveis foram caracterizadas por Fluorescência Molecular, no modo matriz excitação/emissão (luminescência total/3D) (MEE). Os espectros matriz excitação/emissão foram obtidos de 300 a 600 nm para emissão, 250 a 500 nm para excitação, aumentando sequencialmente em 5 nm (TRAVERSA et al., 2014). Todos os espectros foram feitos com abertura de fenda de 5 nm.

Ainda, foram determinados as concentrações de Al, Ca, Mg, K, Cu, Fe, Mn e Na nas frações solúveis dos dois extratores nas concentrações de carbono de 10, 50 e 100 mg C L⁻¹ por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização por Chama (condições instrumentais apresentadas no Anexo A, Tabela 1), sendo realizada previamente a extração ácida das amostras, seguindo o método 3010A EPA (US EPA, 1992).

Experimentos de crescimento de milho

Os experimentos foram realizados utilizando Argissolo, coletado na região de São Quatá (SP), Latossolo, coletado na região de Maringá (PR), e solo Terra Mulata coletado próximo à cidade de Itacoatiara-AM (autorização de coleta apresentada no item 4.2.1) (3°04'05.45"S e 58°33'51.11"O). Para Latossolo e Argissolo foram avaliadas aplicações de carvão hidrotérmico de 0 % m/m (apenas solo), 0,5 % m/m (equivalente a 10 t ha⁻¹), e 1 % m/m (equivalente a 20 t ha⁻¹). Para tanto, a massa de solo, assim como a massa de carvão hidrotérmico, equivalente à aplicação, foram colocados em sacos plásticos e misturados de forma a obter uma mistura homogênea. Após, foram pesados 500 g da mistura e adicionados em potes de plásticos, onde para cada taxa de aplicação foram realizadas 5 repetições. Os potes foram colocados aleatoriamente em câmara climática

(TE-4002, Tecnal), mantidos à 26 °C, 50 % de umidade, fotoperíodo de 16 h dia e 8 h noite, sendo irrigados, com água destilada, quando necessário.

Após o período de 90 dias de contato do solo com o carvão hidrotérmico, fez-se o plantio de 5 sementes de milho (*Zea mays*, Poaceae) (Seminis, 85% germinação) por pote. Da mesma forma foi realizado para os experimentos com solo Terra Mulata (sem adição de carvão hidrotérmico). As sementes foram plantadas à 2,5-3,0 cm de profundidade. Após 8 dias da emergência foi realizado o desbaste, deixando apenas uma planta por pote, e foi realizada adição de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, 70 kg ha⁻¹ de K₂O e 70 kg ha⁻¹ de N₂. Após 20 dias do plantio, cada pote recebeu uma aplicação adicional de 34 kg ha⁻¹ de K₂O e 50 Kg ha⁻¹ de N₂.

As plantas cresceram por 40 dias, e ao final do experimento as raízes foram separadas da parte aérea, e lavadas com água destilada. Foram determinadas as massas secas de raízes e partes aéreas de cada planta, secando-se em estufa à 105 °C por 24 horas. A análise estatística dos resultados foi realizada conforme descrito no item 4.3.3.

4.3.3 Análise Estatística

Para os experimentos de germinação utilizando tanto água de processo quanto extratos de carvão hidrotérmico, e também para os experimentos de crescimento de milho, a análise estatística foi realizada utilizando um modelo linear generalizado (GLM). Quando os resultados do GLM eram significativos ($p < 0,05$) os resultados foram, então, comparados aplicando o teste Tukey HSD assumindo significância estatística ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da vinhaça e bagaço de cana-de-açúcar

A vinhaça utilizada nas reações de carbonização apresentou pH 4,6, turbidez de 251 FTU e concentração de carbono orgânico total (COT) de 47,6 g L⁻¹, conforme apresentado na Tabela 1. Ferrarese (2011), analisou as características de vinhaça comum de novembro de 2009 a setembro de 2010, avaliando também a concentração de alguns elementos. Sódio, por exemplo, teve uma variação de 49 à 148 mg L⁻¹. Outro estudo quanto as características da vinhaça de uma usina também do estado de São Paulo, durante o ano de 2014, mostrou uma variação na concentração de potássio de 2,7 a 4,1 g L⁻¹, de 0,8 a 2,2 g L⁻¹ de cálcio, e de 164 a 348 mg L⁻¹ de magnésio, indicando que tais variações também são reflexos de mudanças tanto na produção (ora voltada mais para açúcar e ora para etanol) quanto na fase da colheita de cana (início ou final da safra) (FUESS; GARCIA; ZAIAT, 2018). Vinhaças provenientes de duas regiões diferentes do Brasil, e coletadas diretamente dos tanques de armazenamento mostram concentrações de potássio variando de 3,3 a 9,2 g L⁻¹, 0,6 a 1,2 g L⁻¹ de cálcio, 0,4 a 1,0 g L⁻¹ de magnésio, pH de 4,6 a 5,2 e concentração total de carbono de 7,6 a 15,6 g L⁻¹ (ALVES et al., 2015), indicando que há uma variabilidade destes parâmetros em função da usina, época de análise, entre outros fatores.

Tabela 1. Caracterização da vinhaça utilizada no processo de carbonização (macro e micronutrientes, pH, COT), e, também, em vinhaças utilizadas por outros autores.

	Este trabalho	FERRARESE, 2011	FUESS; GARCIA; ZAIAT, 2018	ALVES et al., 2015	MELO et al., 2016a
K	13,2±0,1 g L ⁻¹	2,0-4,6 g L ⁻¹	2,7-4,1 g L ⁻¹	3,3-9,2 g L ⁻¹	21,7 g L ⁻¹
Ca	2,4±0,01 g L ⁻¹	1,1-3,3 g L ⁻¹	0,8-2,2 g L ⁻¹	0,6-1,2 g L ⁻¹	2,7 g L ⁻¹
Mg	2,6±0,2 g L ⁻¹	0,6-1,6 g L ⁻¹	164-348 mg L ⁻¹	0,4-1,0 g L ⁻¹	1,2 g L ⁻¹
Na	78,3±1,6 mg L ⁻¹	49,2-148,0 mg L ⁻¹	-	-	-
Fe	84,5±1,5 mg L ⁻¹	10,2-29,8 mg L ⁻¹	-	8,0-33,0 mg L ⁻¹	-
Mn	17,1±0,2 mg L ⁻¹	1,2-3,6 mg L ⁻¹	-	2,0-7,0 mg L ⁻¹	-
Al	116,4±2,2 mg L ⁻¹	-	-	-	-
Cu	0,4±1,0E-2 mg L ⁻¹	0,1-0,3 mg L ⁻¹	-	1,0 mg L ⁻¹	-
Zn	0,35±1,0E-2 mg L ⁻¹	0,1-0,8 mg L ⁻¹	-	1,0 mg L ⁻¹	-
Sulfato	23,7±0,6 mg L ⁻¹	1,12-4,29 mg L ⁻¹	1,0-2,0 g L ⁻¹	-	-
Fosfato	84,0±3,7 mg L ⁻¹	6,1-32 mg L ⁻¹	-	-	-
pH	4,6	4,2-4,9	-	4,6-5,2	-
C	47,6 g L ⁻¹	11,11-30,46 mg L ⁻¹	-	7,6-15,6 g L ⁻¹	-

(-) Parâmetro não avaliado.

As concentrações exibidas na Tabela 1, para a amostra de vinhaça utilizada neste trabalho, mostram valores de potássio, cálcio e magnésio acima dos valores comumente encontrados. Assim como a elevada concentração de carbono orgânico na vinhaça. Tais resultados são porque a vinhaça utilizada neste trabalho trata-se de uma vinhaça concentrada. Melo e colaboradores (2017) também utilizaram vinhaça concentrada, a qual apresentou concentrações máximas de K, Ca e Mg de 21,7 g L⁻¹; 2,7 g L⁻¹ e 1,2 g L⁻¹, respectivamente. Algumas usinas fazem a concentração da vinhaça para facilitar o armazenamento e aplicação da mesma.

O bagaço proveniente da região do Rio de Janeiro (Brasil) apresentou composição de Fe, Mg e Mn diferentes, mas não tão distantes, dos valores encontrados para o bagaço utilizado neste trabalho (Tabela 2) (DAVID et al., 2018). Outra amostra de bagaço, proveniente do estado de São Paulo (Brasil) apresentou concentração de potássio na ordem de 1,9 g Kg⁻¹, 1,1 g Kg⁻¹ de Ca, e 0,7 g Kg⁻¹ de Mg (MELO et al., 2016), mostrando, novamente, variação quanto as características químicas do bagaço de cana.

Tabela 2. Concentração de macros e micronutrientes presente na amostra de bagaço de cana utilizada no processo de carbonização, e, também, em bagaço de cana utilizado por outros autores.

	Este trabalho	(MELO et al., 2016)a	DAVID et al., 2018
K	0,6±1,0E-2 g Kg ⁻¹	1,9 g Kg ⁻¹	1,8±0,3E-2 g Kg ⁻¹
Ca	1,6±0,1 g Kg ⁻¹	1,1 g Kg ⁻¹	0,6±0,01 g Kg ⁻¹
Mg	0,5±1,0E-2 g Kg ⁻¹	0,7 g Kg ⁻¹	0,5±0,3E-2 g Kg ⁻¹
Al	1,8±0,0 g Kg ⁻¹	-	-
Na	82,4±13,5 mg Kg ⁻¹	-	-
Mn	73,1±2,7 mg Kg ⁻¹	-	76,0±0,00 mg Kg ⁻¹
Cu	2,16±0,3 mg Kg ⁻¹	-	4,29±0,18 mg Kg ⁻¹
Fe	1,2±1,0E-2 g Kg ⁻¹	-	0,9±0,01 g Kg ⁻¹
Zn	8,7±0,4 g Kg ⁻¹	-	16,2±0,07 mg Kg ⁻¹

(-) Parâmetro não avaliado.

5.2 Carbonização Hidrotérmica e caracterização dos produtos gerados

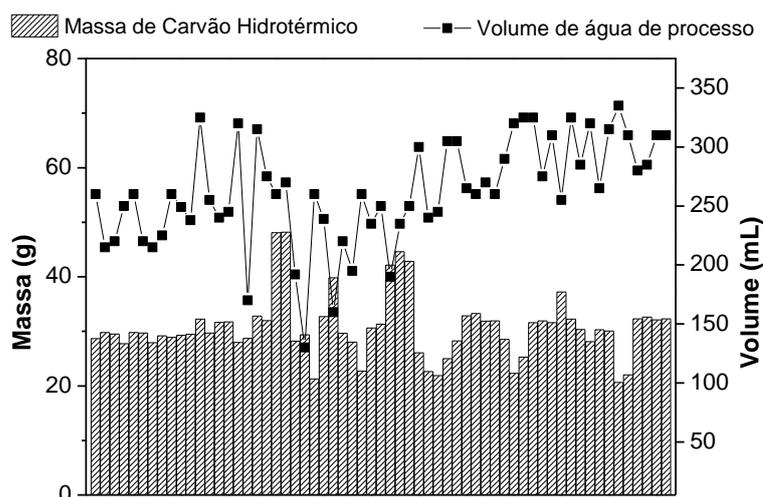
A reprodutibilidade das reações de carbonização hidrotérmica está diretamente ligada as variações que podem ocorrer durante o processo de carbonização, ao qual implicam-se variações tanto dos componentes reacionais (biomassa e aditivos) quanto variações ligadas ao processo (diferentes reatores). Neste trabalho, as biomassas empregadas no processo foram vinhaça e bagaço de cana. O bagaço de cana é um componente de origem vegetal, cuja composição é altamente variável dependente tanto do local de produção da cana, da época do ano, e, também, do processo ao qual a cana de açúcar foi submetida para subsequente obtenção deste bagaço. Sendo assim, as porcentagens de lignina, celulose, hemicelulose, cinzas e umidade no bagaço não são constantes. Da mesma forma acontece com a vinhaça, uma vez que esta é o resíduo líquido obtido no processo de destilação do caldo de cana fermentado, objetivando a obtenção de álcool. Diferenças no processo de destilação para obtenção de álcool (utilização do melaço ou caldo de cana no processo de fermentação), fazem com que a composição final da vinhaça seja diferente (CHRISTOFOLETTI et al., 2013). Ainda, em usinas em que água de lavagem da cana de açúcar é misturada à vinhaça, ou outras em que a vinhaça passa por um processo de concentração, onde a água presente na mesma é

evaporada, contribuem alterando a composição da vinhaça, sendo esta, portanto, altamente variável.

Para avaliar a reprodutibilidade do processo, neste trabalho a vinhaça e o bagaço de cana foram coletados uma única vez, sendo homogeneizados, e só então utilizados nas reações. Nas reações de carbonização hidrotérmica foram utilizados três reatores de mesma capacidade (500 mL), utilizados aleatoriamente. Como produtos da carbonização hidrotérmica têm-se a água de processo (líquido) e o carvão hidrotérmico (sólido) separado por filtração à vácuo.

Na Figura 1 é possível observar a variação em cada reação de carbonização hidrotérmica, frente as quantidades tanto de carvão hidrotérmico obtido, quanto de água de processo. A média de produção em massa de carvão hidrotérmico foi de $28,4 \pm 7,6$ g, e o volume de água de processo obtido foi de $247,9 \pm 43,9$, para as 61 reações.

Figura 1. Gráfico da relação entre o volume de água de processo e massa de carvão hidrotérmico obtidos em cada reação de carbonização hidrotérmica.

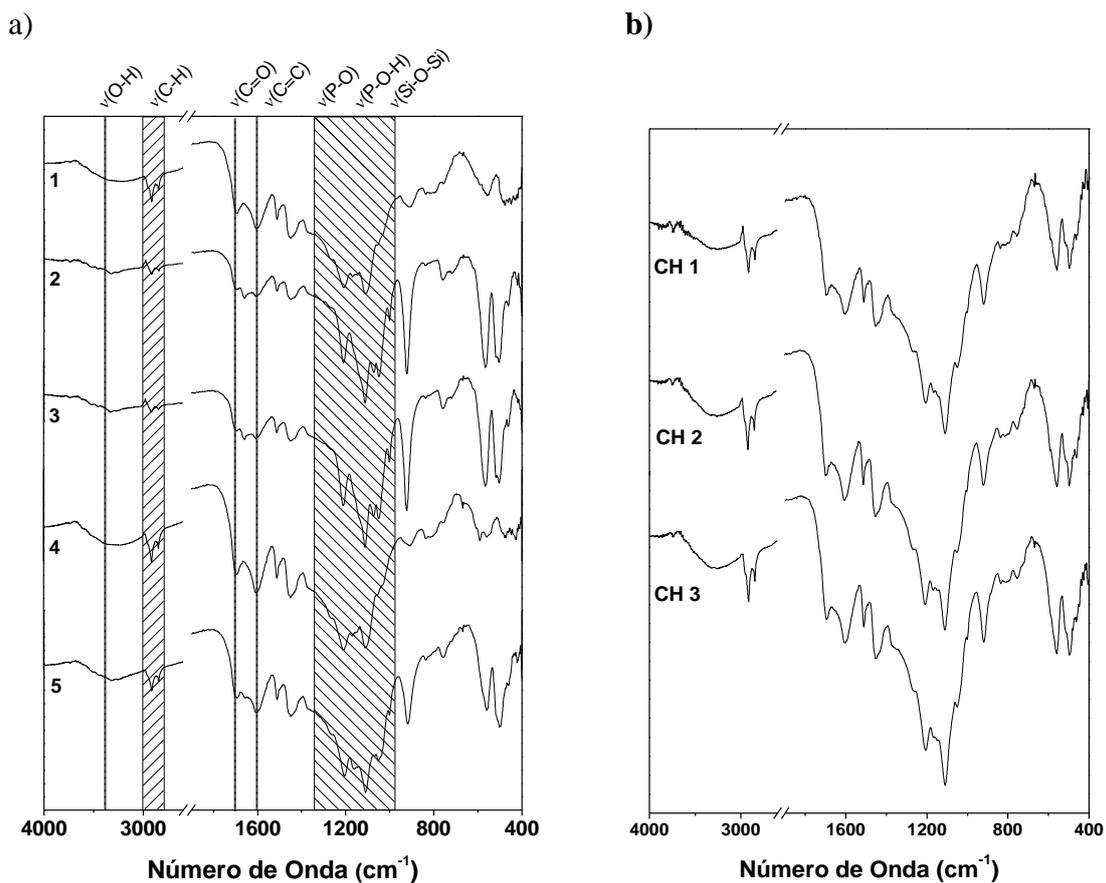


Fonte: Autoria própria.

Dentre as 61 reações de carbonização hidrotérmica realizadas, cinco amostras foram selecionadas aleatoriamente durante a produção, e foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho, conforme demonstrado na Figura 2 (1, 2, 3, 4 e 5). Ao final de todas as reações, todo o carvão hidrotérmico produzido foi misturado e peneirado (0,5 mm) para homogeneização da amostra, e após, foram separadas três amostras para

também serem caracterizadas por FTIR, nomeadas CH1, CH2 e CH3. Os espectros de infravermelho das amostras individuais foram comparados entre si, com os espectros obtidos das três amostras após a mistura e, também, com o espectro obtido por Melo et al. (2016), uma vez que os carvões hidrotérmicos foram obtidos seguindo o mesmo procedimento e utilizando biomassas semelhantes.

Figura 2. Gráficos de FTIR para as amostras de carvão hidrotérmico a) referente a cinco diferentes carbonizações escolhidas ao acaso e b) referente a três amostragens diferentes após a mistura de todo carvão hidrotérmico produzido.



Fonte: Autoria própria.

Com os gráficos de espectroscopia de infravermelho (Figura 2) conseguimos observar boa reprodutibilidade nas características do material produzido, tanto entre as reações quanto comparado ao carvão hidrotérmico obtido por Melo et al. (2016). Algumas

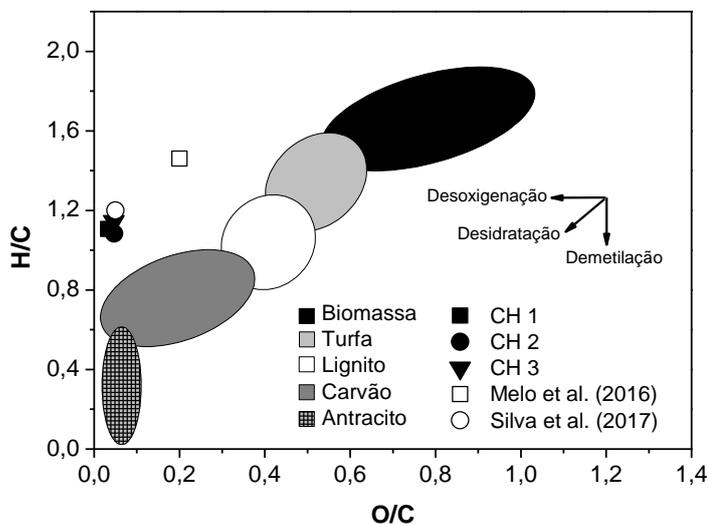
bandas foram identificadas (LIU; ZHANG; WU, 2010; MELO et al., 2016; ÖZÇİMEN; ERSOY-MERİÇBOYU, 2010; SUN; LI, 2004), como por exemplo em 300-3500 cm^{-1} , onde temos uma banda larga referente ao estiramento de ligações OH; duas bandas finas em 2900-2890 cm^{-1} sendo de estiramento C-H de alifáticos; aproximadamente em 1700 cm^{-1} foram atribuídas à C=O de ácidos carboxílicos, comprovado pelas bandas em 1600 e 1460 cm^{-1} referentes ao grupo carboxila; bandas na região de 1603 cm^{-1} como estiramento de C=C de aromáticos; duas bandas, uma na região de 1200 cm^{-1} e outra na de 1111 cm^{-1} atribuídas a estiramento C-O de aromático. Ainda, devido a utilização de ácido fosfórico no meio hidrotermal, as intensidades das bandas na região de 1200 a 1000 cm^{-1} provavelmente podem ter sido acrescidas, devido a estiramentos de bandas P-O e P-O-H de grupos PO_4^{3-} e HPO_4^{2-} presentes no meio (MELO et al., 2016; SILVA et al., 2017).

As propriedades elementares do material foram mantidas entre as reações de carbonização, sendo que a média e desvio padrão de nitrogênio foram de $3,02 \pm 0,06$ %, $60,40 \pm 0,71$ % de carbono, $5,60 \pm 0,13$ % de hidrogênio e $1,62 \pm 0,21$ % de enxofre. O carvão hidrotérmico apresentou 0,96 % de umidade, 25,9 % de cinzas e 74,0 % de matéria orgânica. Na Figura 3 podemos observar a relação entre as razões O/C e H/C dos carvões hidrotérmicos produzidos (CH1, CH2 e CH3) comparados às razões obtidas por Melo et al. (2016), estando mais próximas às demonstradas por Silva et al. (2017). Para as reações utilizando a mesma biomassa é observado reprodutibilidade nas características do material, contudo, quando comparamos com o carvão hidrotérmico obtido por Melo et al. (2016) observa-se certa diferença entre eles, mostrando que os carvões agora produzidos se apresentam, provavelmente, mais desoxigenados e desidratados.

Tais diferenças podem ser devidas as diferenças nas biomassas. Por exemplo, materiais lignocelulósicos, como o bagaço de cana, são compostos em diferentes proporções por lignina (10-25 %), celulose (40-60 %) e hemicelulose (15-30 %), os quais se decompõem em diferentes temperaturas, sendo a lignina o componente mais estável. A interação destes mesmos componentes durante o processo de conversão termoquímica, e ainda a interação entre os intermediários formados durante o processo, acarretarão na produção de compostos específicos devido as proporções iniciais dos componentes da biomassa (lignina, celulose e hemicelulose) (KAN; STREZOV; EVANS, 2015; WANG et al., 2017). Desta forma, embora observada semelhança na composição inorgânica entre

os bagaços de cana utilizado nesse trabalho com o utilizado por Melo et al. (2016), a composição orgânica pode ser a resposta para a diferença no grau de carbonização observado entre estas amostras.

Figura 3. Diagrama de Van Krevelen para as amostras de carvão hidrotérmico.

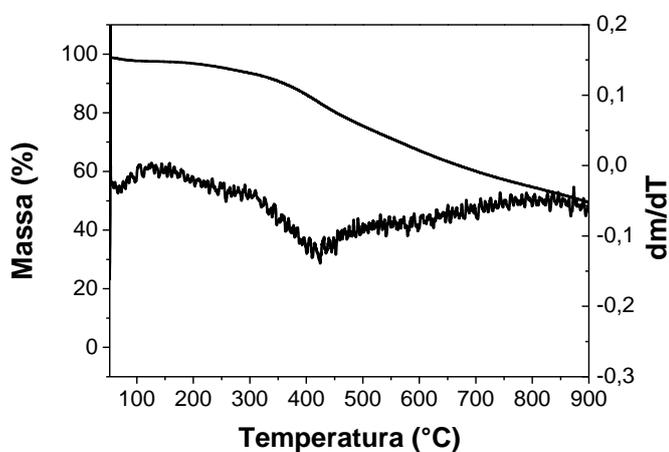


Ainda, deve-se levar em consideração a composição da vinhaça, responsável pela formação do meio hidrotermal, uma vez que para estas reações de carbonização, a água, necessária para o processo, é advinda apenas da vinhaça. Embora ambas as vinhaças utilizadas nos trabalhos sejam vinhaças concentradas, a concentração de matéria orgânica nas mesmas provavelmente é diferente. Desta forma, entende-se que há uma variação quanto as características do carvão hidrotérmico obtido a partir de vinhaça e bagaço de cana utilizando ácido fosfórico como aditivo no meio reacional, contudo tal variação é mínima quando a vinhaça e o bagaço de cana utilizados têm variação mínima na sua composição (CH 1, CH 2 e CH 3).

A análise termogravimétrica do carvão hidrotérmico mostrou dois eventos de perda de massa, o primeiro caracterizando perda de água adsorvida (umidade) no intervalo de temperatura de 50-150 °C. O segundo no intervalo de 350-450 °C está ligado ao processo de combustão, representando a eliminação de matéria orgânica (Figura 4), podendo estar relacionado a queima de lignina ainda presente no material, a qual é mais resistente a degradação térmica (GHETTI; RICCA; ANGELINI, 1996), representando perda de massa de aproximadamente 20 %. Como a porcentagem final de massa foi de 49,4 %, 45

entende-se que o carvão hidrotérmico obtido apresenta boa estabilidade térmica, embora ainda tenha matéria orgânica não carbonizada na sua constituição.

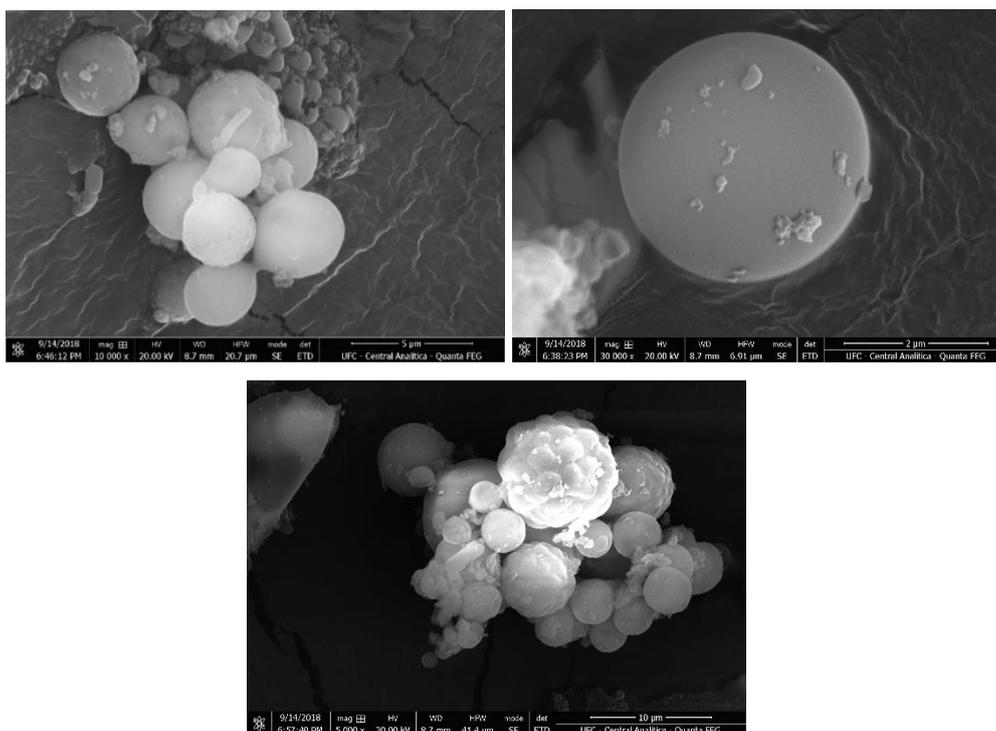
Figura 4. Análise termogravimétrica do carvão hidrotérmico.



Fonte: Autoria própria.

Na Figura 5 estão apresentadas as imagens de microscopia eletrônica de varredura do carvão hidrotérmico. A amostra apresentou grande quantidade de partículas esféricas na ordem de poucos micrometros. Quanto a superfície das esferas, foram observadas tanto superfícies rugosas quanto lisas. É descrito na literatura que a carbonização da lignina resulta na formação de esferas, as quais em meio ácido tendem a apresentar superfície lisa. Contudo, a rugosidade das esferas pode estar associada a uma carbonização incompleta da celulose ou à deposição de compostos inorgânicos sobre a superfície da mesma.

Figura 5. Imagens de microscopia eletrônica de varredura para a amostra de carvão hidrotérmico.



Fonte: Autoria própria.

A caracterização dos nutrientes presentes no carvão hidrotérmico mostrou elevadas concentrações de potássio, cálcio, magnésio e alumínio (Tabela 3). O carvão hidrotérmico produzido por Melo et al (2016) sob as mesmas condições reacionais apresentou $12,6 \text{ g Kg}^{-1}$ de K, $8,1 \text{ g Kg}^{-1}$ de Ca e $12,9 \text{ g Kg}^{-1}$ de Mg. Para cálcio, a concentração obtida foi a mesma encontrada para o carvão hidrotérmico (CH), contudo as concentrações de potássio e magnésio foram maiores, o que pode ser explicado pelo fato de que, tanto na vinhaça quanto no bagaço de cana utilizado por Melo, tais elementos também foram encontrados em maiores concentrações. Silva et al. (2017) encontrou maiores concentrações de nitrogênio, cálcio, magnésio e potássio, respectivamente, seguindo o mesmo que foi encontrado para o CH para Ca, Mg e K. Silva et al. (2017), ainda, mostrou que maiores temperaturas foram capazes de aumentar a incorporação dos macros e micronutriente no carvão hidrotérmico, para mesmo tempo de reação e acidez do meio reacional, destacando-se o potássio, manganês e fósforo como os elementos com maior aumento de concentração no carvão hidrotérmico.

Tabela 3. Determinação de macros e micronutrientes presentes na água de processo e no bagaço de cana.

Carvão Hidrotérmico (CH)						
K	Ca	Al	Na	Mg	Mn	Fe
g Kg ⁻¹	g Kg ⁻¹	g Kg ⁻¹	mg Kg ⁻¹	g Kg ⁻¹	mg Kg ⁻¹	g Kg ⁻¹
1,8±0,03	7,9±0,4	2,1±0,03	301,6±16,9	2,6±0,08	39,8±2,6	0,5±0,01
Zn	Cu					
mg Kg ⁻¹	mg Kg ⁻¹					
23,9±3,7	21,6±0,3					
Água de processo (AP)						
K	Ca	Al	Na	Mg	Mn	Fe
g L ⁻¹	g L ⁻¹	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹	g L ⁻¹	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹
14,7±0,2	1,1±0,1	44,9±0,8	72,6±2,5	2,2±0,04	11,02±0,5	102,2±0,6
Zn	Cu					
mg L ⁻¹	mg L ⁻¹					
2,6±0,4	0,15±1,0E-2					

O aumento da capacidade do reator, passando de 50 mL para 500 mL mostrou pouca influência sobre as características finais do carvão hidrotérmico. Quanto ao grau de carbonização do carvão hidrotérmico, as variações parecem estar mais ligadas as características das biomassas utilizadas, do que a capacidade do reator, uma vez que pelo diagrama de Van Krevelen foi possível observar semelhança entre as razões O/C e H/C com as de Silva et al. (2017). Ainda, observou-se que os macros e micronutrientes incorporados ao material final mantiveram a proporção para carbonizações realizadas em reatores de 50 mL e 500 mL.

A água de processo (AP) gerada na carbonização da vinhaça e bagaço de cana apresentou pH 2,5±0,1, cor de 20555 PCU, turbidez de 178 FTU e concentração de carbono orgânico total (COT) de 25,2±3,6 g L⁻¹. O valor de pH da AP mostrou-se mais ácido que os encontrados por Bargmann et al. (2013) na água de processo oriunda da carbonização de grãos utilizados na fabricação de cerveja e lascas de beterraba, cujo meio reacional recebeu adição de ácido cítrico e carbonato de cálcio; e também na água da carbonização de grama, madeira, palha, entre outros, carbonizados em meio hidrotermal composto apenas por água. Porém, o pH da AP está próximo ao encontrado por Weiner et al. (2014) na água de processo gerada pela carbonização de papel, cujo meio hidrotermal era composto por solução de 0,001 mol L⁻¹ de ácido sulfúrico na proporção sólido líquido 1:10. A concentração de carbono orgânico na AP é elevada, se comparada

à oriunda da carbonização de papel (WEINER et al., 2014), contudo semelhante àquela da carbonização de miscanthus (KAMBO; MINARET; DUTTA, 2017). Os macros e micronutrientes presentes na água de processo obtida neste estudo apresentaram concentrações na ordem de mg L^{-1} (Tabela 3).

A concentração de sulfato foi de $11,9 \pm 0,7 \text{ mg L}^{-1}$ e a de fósforo total foi de $168,1 \pm 9,6 \text{ mg L}^{-1}$. A concentração de potássio na AP (Tabela 3) foi duas vezes superior a encontrada por Bargmann et al. (2013). Tal diferença, provavelmente, está associada à presença da vinhaça na carbonização hidrotérmica realizada neste trabalho, a qual possui concentração inicial de potássio na ordem $13,2 \text{ g L}^{-1}$. As comparações supramencionadas sugerem a inviabilidade de fazer uma correlação entre os dados de água de processo obtidos a partir de carbonizações de diferentes biomassas, mostrando que as características são distintas e dependentes da biomassa e meio hidrotermal de partida.

5.3 Substâncias Húmicas

5.3.1 Caracterização dos Ácidos Húmicos e Fúlvicos

Utilizando-se dos valores de absorvância, obtidos por espectroscopia UV-Vis, foram calculadas algumas razões, apresentadas na Tabela 4. Baixos valores para a razão E4/E6 indicam elevada massa molecular, e, também maior grau de condensação dos núcleos aromáticos nas estruturas dos ácidos húmicos (AH) e fúlvicos (AF), mostrando que a matéria orgânica, provavelmente apresenta-se mais humificada. Inversamente, maiores valores dessa razão são característicos de estruturas com maior quantidade de cadeias alifáticas, e, portanto, de matéria orgânica menos humificada (CANELLAS et al., 2005; STEVENSON et al., 1994; CANELLAS et al., 2001). Na literatura, valores entre 3,0 e 5,0 são característicos de ácidos húmicos, enquanto para ácidos fúlvicos são encontrados valores superiores a 7,0. Desta forma, frente aos valores expostos na Tabela 4, entende-se que para a razão E4/E6 os ácidos húmicos extraídos de solos Terra Mulata seguiram os padrões encontrados na literatura, indicando a presença de centros aromáticos condensados, e com elevada massa molecular, e o mesmo foi observado para o MTH de carvão hidrotérmico. Ainda, para os ácidos fúlvicos, os valores encontrados também seguem o descrito na literatura, para os quais foram obtidas razões entre 9 e 12, caracterizando os ácidos fúlvicos como estruturas de característica alifática.

Os valores da razão E2/E4 (270nm/407nm) para os AH dos solos TM e para MTH variaram de 2,27 a 2,68, e para os AF dos solos e MTF variaram de 8,5 a 13,8. Maiores razões E2/E4 estão ligadas a maior participação de compostos com estruturas de lignina. Maiores quantidades de lignina diminuem a taxa de decomposição da MO, sendo um indicativo de matéria orgânica com baixa humificação. Valores baixos indicam que os compostos lignínicos sofreram maior degradação, facilitando a decomposição da matéria orgânica, caracterizando-a como mais humificada (BUDZIAK; MANGRICH, 2004). Os valores encontrados para esta razão referentes aos ácidos húmicos foram baixos, indicando baixas quantidades de compostos com estruturas de ligninas, mais uma vez caracterizando-os com elevado grau de humificação. Os valores encontrados para as amostras de AF foram maiores, estando em conformidade com os resultados da razão E4/E6, indicando menor grau de humificação (FOOKEN; LIEBEZEIT, 2000).

Tabela 4. Razões de absorvância de UV-Vis para as amostras de ácido húmico e ácido fúlvico extraídos de solos Terra Mulata, e material tipo-húmico (MTH) e tipo-fúlvico (MTF) de carvão hidrotérmico.

ÁCIDO HÚMICO				
Amostra	A₄₆₅/A₆₆₅ (E4/E6)	A₂₇₀/A₄₀₇ (E2/E4)	A₃₅₀/A₅₅₀ (E3/E5)	A₂₅₃/A₂₀₃
TM I	3,26	2,68	3,80	0,66
TM II	1,98	2,27	2,44	0,71
TM III	3,61	2,52	3,99	0,66
MTH	2,27	2,46	3,40	0,66
ÁCIDO FÚLVICO				
Amostra	A₄₆₅/A₆₆₅ (E4/E6)	A₂₇₀/A₄₀₇ (E2/E4)	A₃₅₀/A₅₅₀ (E3/E5)	A₂₅₃/A₂₀₃
TM I	9,33	10,28	21,50	0,49
TM II	10,20	8,51	20,88	0,48
TM III	9,83	9,41	21,28	0,53
MTF	12,00	13,85	28,45	0,33

Para tentar estimar a massa molecular das substâncias húmicas, é utilizada a razão E3/E5 (350nm/550nm), em que altos valores desta razão sugerem baixa massa molecular, enquanto baixos valores para razão indicam alta massa molecular (HELAL et al., 2011). Entre os ácidos húmicos a TM II apresentou maior massa molecular, indicando a presença de estruturas aromáticas mais condensadas e com maior tamanho molecular que os AH da TM I e TM III, uma vez que quanto menor a razão maior é o grau de condensação estrutural dos AH (DICK et al., 1998), e para os ácidos fúlvicos o carvão hidrotérmico apresentou menor massa molecular. Ácidos fúlvicos, que não possuem núcleos aromáticos tão desenvolvidos como as dos ácidos húmicos, apresentam, também, cadeias alifáticas na sua estrutura, justificando, assim, apresentarem menor massa molecular (RASHID et al., 1985).

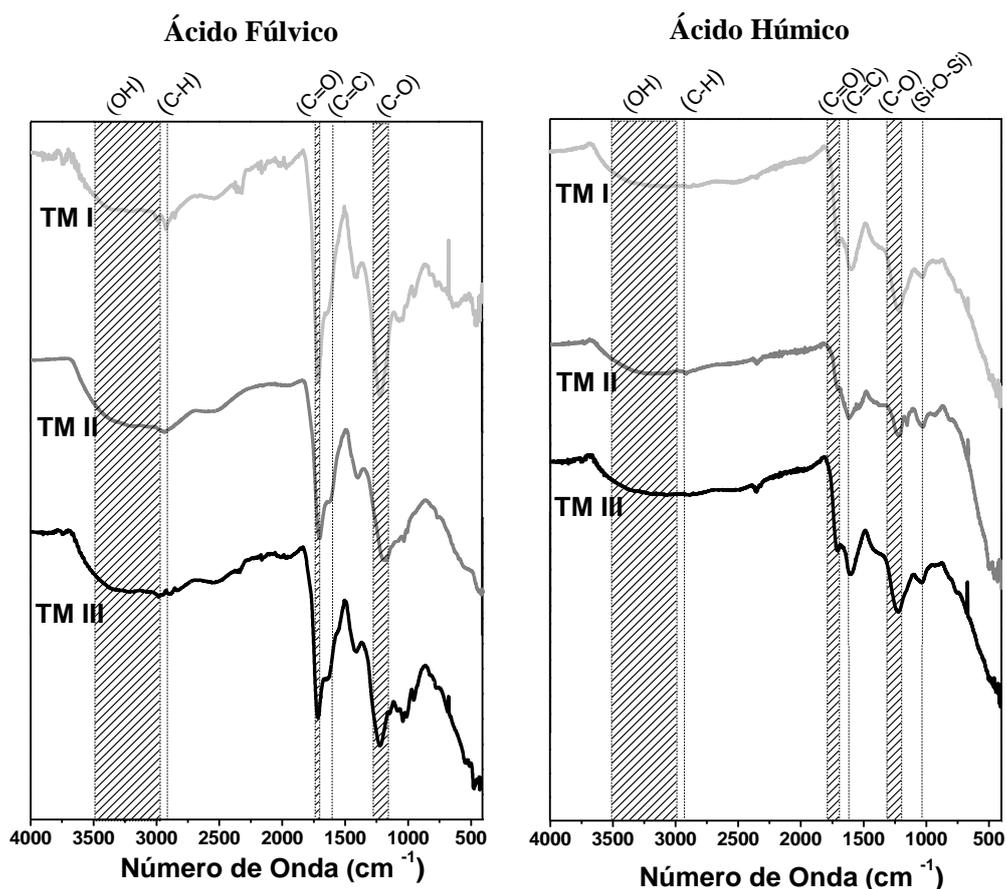
A razão A_{254}/A_{203} fornece informações sobre as características dos anéis aromáticos. Baixas razões são características de anéis aromáticos substituídos em grande parte por grupos funcionais alifáticos, enquanto altas razões são típicas de anéis aromáticos substituídos por hidroxilas, carbonilas, ésteres e grupos carboxilas (STEVENSON et al., 1994; DOBBS et al., 2009). Os valores dessa razão para os ácidos húmicos e fúlvicos, em geral, mostraram-se baixos, indicando baixo nível de substituição dos anéis aromáticos das estruturas. Contudo, como os valores desta razão foram maiores para os AH, provavelmente suas estruturas apresentem mais substituições com diferentes grupos funcionais que os AF, os quais são substituídos basicamente por estruturas alifáticas, indo de acordo com o encontrado na literatura.

Os grupamentos funcionais identificados no espectro FTIR (Figura 6) são concordantes com as informações obtidas pelas razões de absorbância, na qual mostram pequena diferença entre a intensidade de algumas bandas, como por exemplo a banda de C=O e C=C. Para os ácidos fúlvico extraídos de solos Terra Mulata, a banda de C=O mostrou-se mais intensa que a de C=C, enquanto que para os ácidos húmicos aconteceu o contrário. Tal observação sugere a presença de grupamentos aromáticos mais estruturados nos ácidos húmicos, mostrando uma matéria orgânica mais humificada comparado aos ácidos fúlvicos, sendo esta observação concordante com a razão E4/E6. Ainda, para os MTH e MTF de carvão hidrotérmico (Figura 7), observa-se um deslocamento da banda referentes a C=C de aromáticos para região de maior energia no

MTH, aproximando-se da região identificada para ácidos húmicos e fúlvicos dos solos tipo Terra Mulata.

Grupamentos funcionais como álcoois, ácidos carboxílicos, e ésteres estariam presentes em ambas as estruturas (ácidos húmicos e fúlvicos), representados pelas bandas em $3500-3300\text{ cm}^{-1}$ (deformação de ligação O-H e N-H) (DICK et al., 2003), $1730-1710\text{ cm}^{-1}$ ($\text{C}=\text{O}$ de grupos carboxilatos), $1250-1030\text{ cm}^{-1}$ (ligação C-O), respectivamente.

Figura 6. FTIR das amostras de ácidos húmicos e fúlvicos extraídos de solos Terra Mulata (TM I, TM II e TM III).

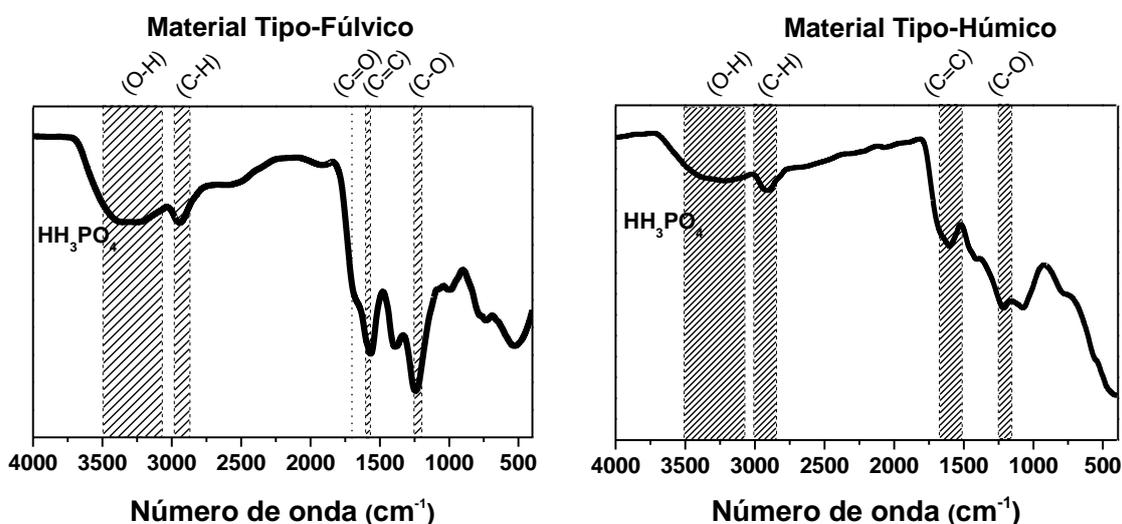


Fonte: Autoria própria.

Bandas na região de 2900 cm^{-1} , referente a grupamentos C-H em alifáticos, foram identificadas para os ácidos fúlvicos de solos Terra Mulata, e para MTH e MTF de carvão hidrotérmico, nos quais se apresentaram mais definidas (LUA, YANG; 2004).

Novamente, a presença de grupos C-H de alifáticos são concordantes com a razão A_{254}/A_{203} , indicando que a substituição dos grupamentos aromáticos nos ácidos fúlvicos são, em sua maioria, de característica alifática. Bandas na região de 1420-1380 cm^{-1} referentes à deformação de ligação C-H em CH_2 e CH_3 são também observadas nos espectros fúlvicos e húmicos, sendo mais pronunciada para os ácidos fúlvicos, reforçando a ideia de um material com característica mais alifática e menos aromática, comparada aos ácidos húmicos.

Figura 7. FTIR das amostras material tipo-húmico (MTH) e material tipo-fúlvico (MTF) extraídos de carvão hidrotérmico.

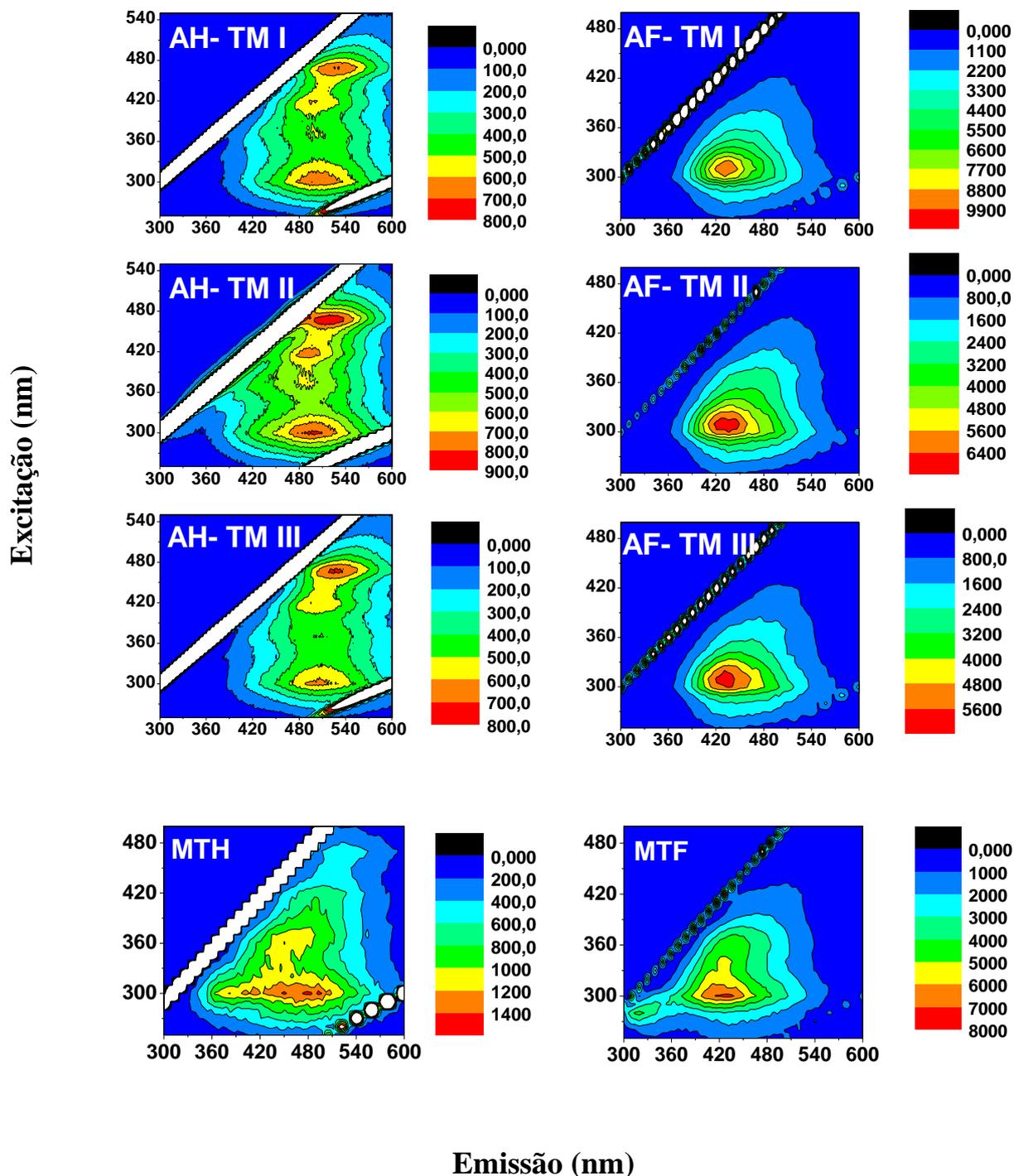


Fonte: Autoria própria.

As intensidades de fluorescência das amostras de ácido fúlvico variaram em intensidade, para as amostras dos solos Terra Mulata, porém as regiões de fluorescência foram semelhantes (Figura 8). Senesi (1990) listou uma série de compostos que poderiam compor estruturalmente os ácidos fúlvicos, determinando os comprimentos de onda de excitação/emissão de intensidades máxima de fluorescência. Desta forma, estruturas do características de flavonas, cumarinas e derivados de cromonas (SENESI, 1990), provavelmente, compõem os ácidos fúlvicos de solos, e também o MTF de carvão hidrotérmico. Ainda, compostos que apresentam estruturas semelhantes a proteínas, principalmente as que contêm o aminoácido tirosina podem estar presentes no MTF de carvão hidrotérmico, dada a região de fluorescência (CHEN et al., 2003; SHENG; YU,

2006; YAMASHITA; TANOUE, 2003). Observou-se um deslocamento do pico máximo de fluorescência da amostra de MTF comparado aos ácidos fúlvicos dos solos Terra Mulata para menores comprimentos de onda. Esse deslocamento poderia indicar a presença de grupamentos alifáticos em maiores quantidades, os quais são característicos por fluorescerem nesta região, corroborando com os dados obtidos por espectroscopia no UV-vis e no infravermelho.

Figura 8. Espectros de fluorescência molecular das amostras de ácido húmico e fúlvico extraídos de solos, e MTH e MTF extraídos de carvão hidrotérmico.



Fonte: Autoria própria.

As amostras de ácido húmico dos solos Terra Mulata também assemelharam-se nas regiões de intensidade máxima de fluorescência características de ácidos húmicos (CHEN

et al., 2003), apresentando intensidades semelhantes. Para as amostras de ácido húmico dos solos foram identificados dois picos máximos de fluorescência. O pico máximo inferior do gráfico para as três amostras de AH variou de Ex/Em (300/504-510nm), enquanto o pico máximo superior variou de Ex/Em (465-470/514-532m), caracterizando as estruturas como sendo semelhantes a derivados de cromona, flavonoides e compostos fenólicos policondensados (SENESI et al., 1991; TRAVERSA et al., 2014). Para o MTH a intensidade de fluorescência foi em Ex/Em 300/499 nm, contudo a região de intensidade máxima de fluorescência não mostrou-se tão concentrada quanto nos espectros dos ácidos húmicos de solo, indicando a presença de compostos de diferente natureza com intensidades semelhantes, provavelmente caracterizando um material mais heterogêneo, com estruturas de diferentes ácidos carboxílicos na sua composição (SENESI et al., 1991).

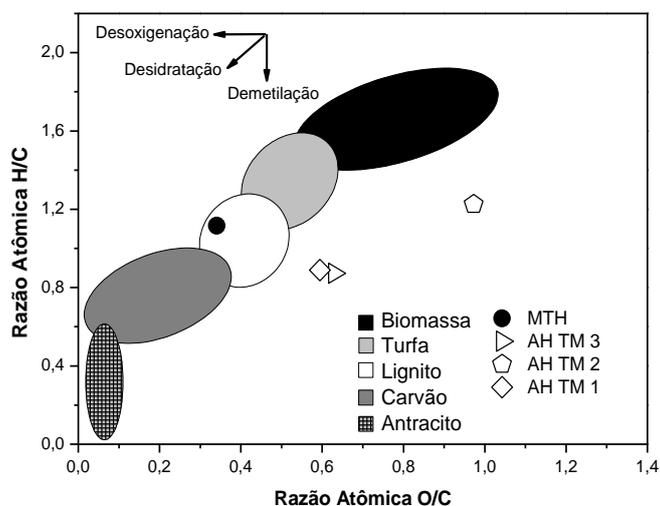
Os teores de carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N) e enxofre (S) das amostras de AH dos solos e MTH dos CH constam na Tabela 5.

Tabela 5. Teores de Carbono (C), Hidrogênio (H), Nitrogênio (N) e Enxofre (S) para amostras de AH dos solos TM e MTH extraído de carvão hidrotérmico.

AMOSTRA	C (%)	H (%)	N (%)	S (%)	O (%)
AH TM I	51,2 ± 0,13	3,8 ± 0,10	3,4 ± 0,14	0,9 ± 0,23	40,6±0,62
AH TM II	39,6 ± 0,08	4,0 ± 0,19	4,0 ± 0,07	0,9± 0,05	51,4±0,39
AH TM III	50,2 ± 0,27	3,0 ± 0,01	2,9 ± 0,01	1,0 ± 0,18	42,2±0,08
MTH	62,3 ± 0,07	5,8 ± 0,10	2,60 ± 0,04	1,04 ± 0,03	28,3±0,09

As porcentagens elementares mostram que tanto os ácidos húmicos quanto o material tipo-húmico são constituídos em sua maioria por carbono. Com o auxílio do diagrama de Van Krevelen (Figura 9) é possível tentar inferir sobre a estrutura dos ácidos húmicos e do MTH, utilizando-se das razões atômicas H/C e O/C, calculadas com base nas porcentagens elementares.

Figura 9. Diagrama de Van Krevelen, no qual estão apresentadas as relações entre as razões atômicas H/C e O/C das amostras de ácido húmico TM I, TM II, TM III, e MTH.



Fonte: Autoria própria.

Os AH TM I e TM III mostraram-se semelhantes quanto as razões atômicas avaliadas, indicando serem materiais com características mais aromáticas. A razão atômica H/C tem sido frequentemente associada ao grau de condensação dos anéis aromáticos presentes nas estruturas das SH, e por sua vez, o grau de humificação, sendo que valores baixos remetem a maior aromaticidade e condensação dos núcleos aromáticos, e valores maiores à presença de compostos mais alifáticos (STEVENSON, 1994). Desta forma, esta razão indica que os AH TM I e TM II são caracterizados estruturalmente por maior presença de anéis aromáticos, quando comparados com o AH TM II e com o MTH.

O valor alto da razão H/C para o AH da TM II indicou a presença de compostos alifáticos na estrutura desta amostra, assemelhando-se a valores para AH de solos tropicais e podzóis reportados na literatura (FERREIRA et al., 2002; VAZ et al., 2015), e os AH dos solos TM I e III valores próximos aos encontrados para solos Terra Preta de Índio, que como as Terras Mulata, são solos antropogênicos, cuja característica é apresentar maior grau de humificação.

Ainda, a razão O/C estaria ligada a ocorrência de substituintes do anel aromático das estruturas dos materiais, indicando provável composição dos grupos funcionais (SPOKAS, 2010). Uma vez que esta razão se apresenta menor para os AH TM I e TM III, entende-se que estas estruturas encontram-se menos oxigenadas comparadas a

estrutura do AH TM II. Já para o material tipo húmico, suas características estruturais são de um material menos oxigenado.

Ainda, por meio das porcentagens elementares foi possível o cálculo de outra razão, a razão C/N, a qual é capaz de auxiliar, indiretamente, na determinação do grau de condensação da matéria orgânica, onde determinando a incorporação de N na estrutura das substâncias húmicas, possibilita estimar a estabilidade bioquímica da MOS (CUNHA et al., 2007). Foi observado que as três amostras de AH dos solos encontram-se na faixa que indica estabilidade biológica (10-20) (STEVENSON, 1994). Para amostra de MTH, que, conforme dito anteriormente, não passou por um processo natural de humificação, esta razão pode, apenas, fornecer informação quanto a incorporação deste elemento na estrutura do material. Na Tabela 6 estão demonstradas as razões atômicas H/C e C/N dos AH dos solos e o MTH.

Tabela 6. Razões atômicas H/C e C/N obtidas a partir da Análise Elementar dos AH e MTH.

Amostra	Razão H/C	Razão O/C	Razão C/N
AH TM I	0,89	0,59	17,80
AH TM II	1,23	0,97	11,38
AH TM III	0,88	0,63	19,95
MTH	1,08	0,34	28,83

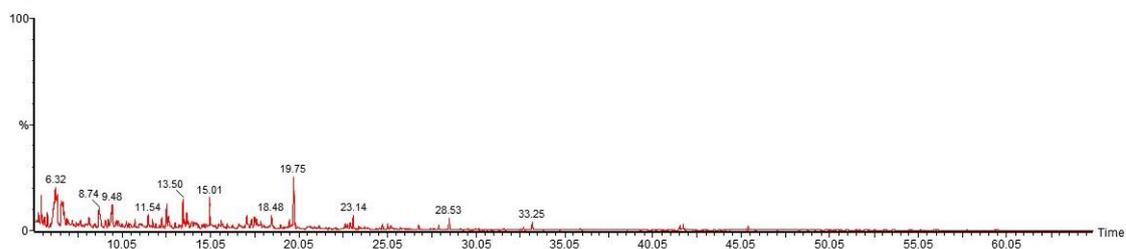
Na figura 10 estão os cromatogramas obtidos para as amostras de ácido húmico da TM I, TM II, TM III e para a amostra de MTH. É possível observar que para as amostras de ácido húmico de solos, a quantidade de picos é maior no intervalo de 5 a aproximadamente 35 minutos, concentrando nesta região, maior quantidade de compostos de lignina. Para a amostra de MTH a concentração de picos ocorre após os 35 minutos de análise, indicando, na amostra, a presença de maior quantidade de ácidos graxos, hidrocarbonetos de cadeias longas, e, também, ramificados. A presença de ácidos carboxílicos identificados no cromatograma do MTH é concordante com o espectro de fluorescência molecular, que sugere a presença de ácidos pela região de máximo de intensidade de fluorescência, característica de tais compostos, região esta mais intensa, e maior, comparada as demais amostras. Estruturas fenólicas e aromáticas também foram encontradas em todos os cromatogramas, indo de acordo com a o identificado pela técnica

de fluorescência molecular, contudo, sendo possível apenas a identificação da classe de compostos.

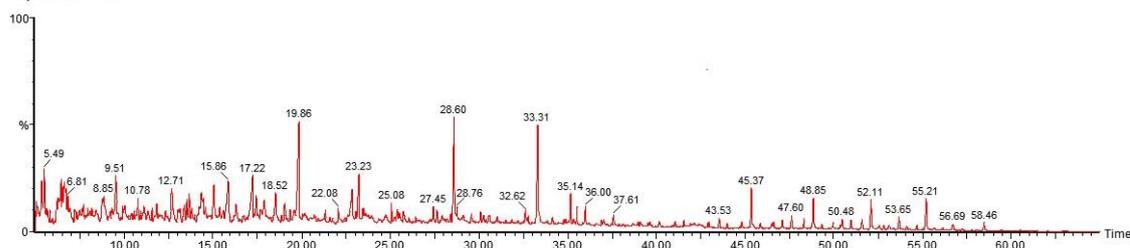
Para os ácidos húmicos, foram também identificados compostos resultantes de atividade microbiana, que seriam os ácidos graxos insaturados ou ainda alguns ácidos graxos ramificados tais como éster metílico de ácido n-octadecenóico (identificado como C18:1 FAME Mic), éster metílico de ácido iso-heptadecanóico (C17 iso FAME Mic), ou ainda éster metílico de ácido ante-iso-pentadecanóico (C15 anteiso FAME Mic-PLFA), entre outros (Tabela 1,2,3 – Anexo B) (CHEFETZ et al., 2000; SPACCINI et al., 2013).

Figura 10. Cromatogramas obtidos por GC-MS para as amostras de ácido húmico a) TM I, b) TM II e c) TM III, e para d) MTH.

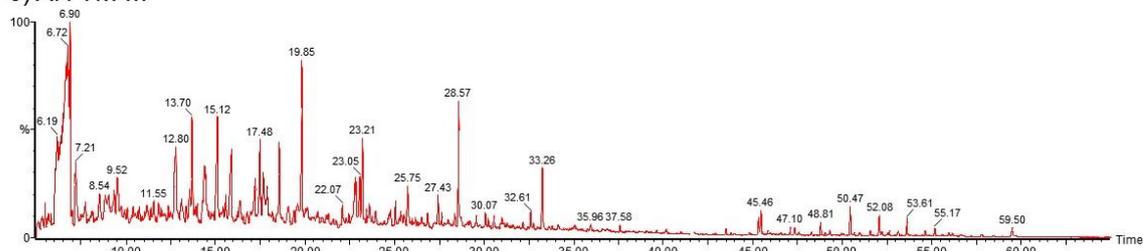
a) AH TM I



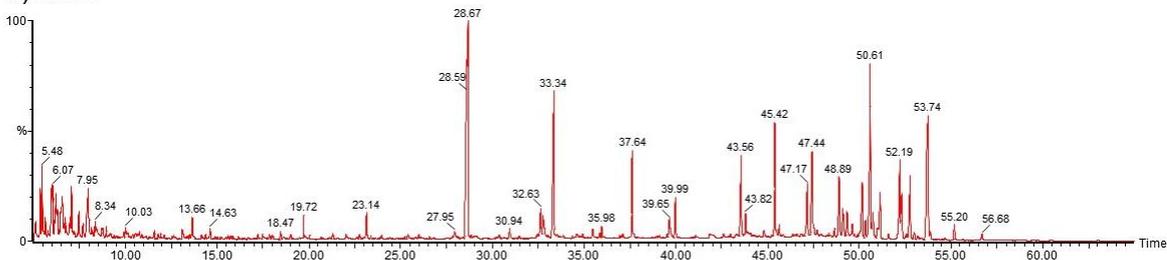
b) AH TM II



c) AH TM III



d) MTH



Fonte: Autoria própria.

Para a caracterização dos ácidos húmicos e material tipo-húmico foi utilizada a razão siringil/guaiacil, dividindo a soma das áreas dos picos dos derivados de siringil, pela soma das áreas dos picos dos derivados de guaiacil. Esse parâmetro obtido pela *thermochemistry* permite a avaliação do grau de degradação da lignina, assim como permite inferir sobre o grau de oxidação dos compostos derivados de lignina (CHEFETZ et al., 2000; SPACCINI et al., 2013; VANE et al., 2001). Os cálculos da razão S/G

apresentaram um valor de 0,73 para o AH TMI; 0,30 para o AH TMII; 0,60 para o AH TM III; e 0,58 para o MTH. No estudo de Chefetz e colaboradores (2000), que avaliaram a matéria orgânica do solo em profundidade, aplicando o processo de *thermochemolysis* na presença de hidróxido de tetrametilamônio, eles concluíram que a diminuição da razão S/G estaria ligada ao processo de humificação, uma vez que esta diminuiu com o aumento da profundidade do solo. Estruturas de lignina do tipo S (siringil) seriam mais facilmente degradadas, quando comparadas com estruturas do tipo G (guaiacil), já que o guaiacil apresenta maior quantidade de grupos metóxi na sua estrutura. Partindo desse pressuposto, e considerando os valores encontrados para as razões S/G dos ácidos húmicos de solos Terra Mulata, provavelmente, o AH TM II apresenta uma estrutura mais humificada comparado aos demais. Tal observação vai de encontro com os dados obtidos anteriormente (espectroscopia de UV-Vis), indicando que os AH TM I e TM III são estruturalmente mais parecidos, apresentando menor grau de humificação.

Como o carvão hidrotérmico não passou por um processo natural de humificação, para o MTH, provavelmente, essa razão (S/G) pode ser utilizada tanto como um indicativo de como o processo termoquímico de produção do carvão hidrotérmico foi capaz de degradar a lignina, quanto indicar as características do material utilizado na obtenção do carvão hidrotérmico; ou seja, pode servir como um indicio da composição do bagaço de cana utilizado no processo hidrotérmico. Contudo, é possível inferir que a representatividade dos grupos S e G no MTH é similar à do AH TM III, indicando maior quantidade de lignina do tipo G.

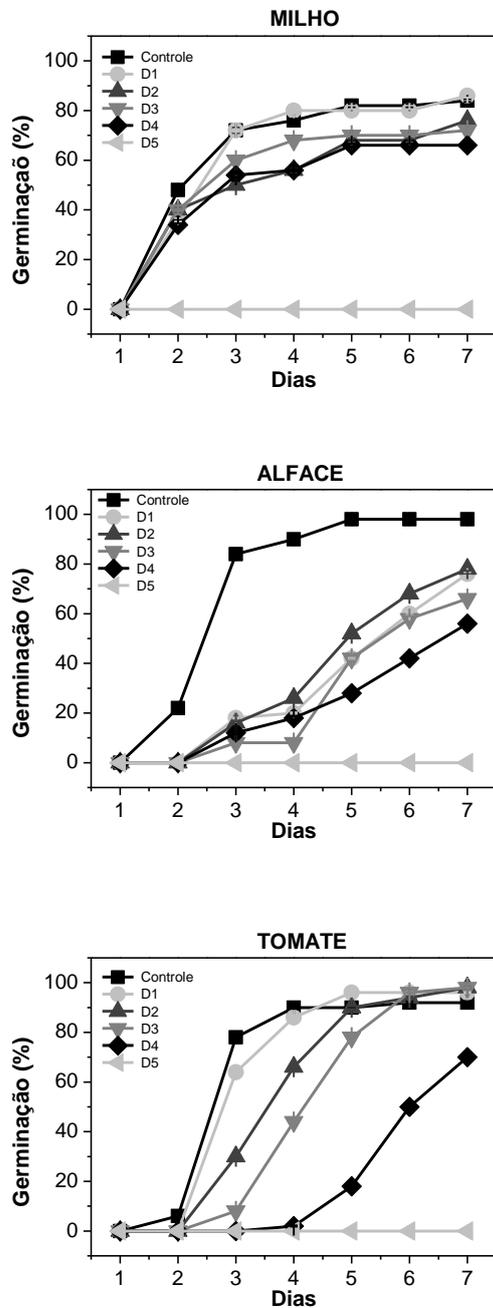
5.4 Avaliação da aplicação da água de processo

5.4.1 Experimentos de germinação e desenvolvimento de sementes

A contagem da quantidade de sementes germinadas (Figura 11) expressa na forma de porcentagem de germinação, para os meios contendo a água de processo diluída indica que a presença da água de processo (AP) provocou atraso no processo de germinação. Contudo, inibição completa da germinação foi observada apenas para a AP concentrada (D5), para todas as sementes estudadas.

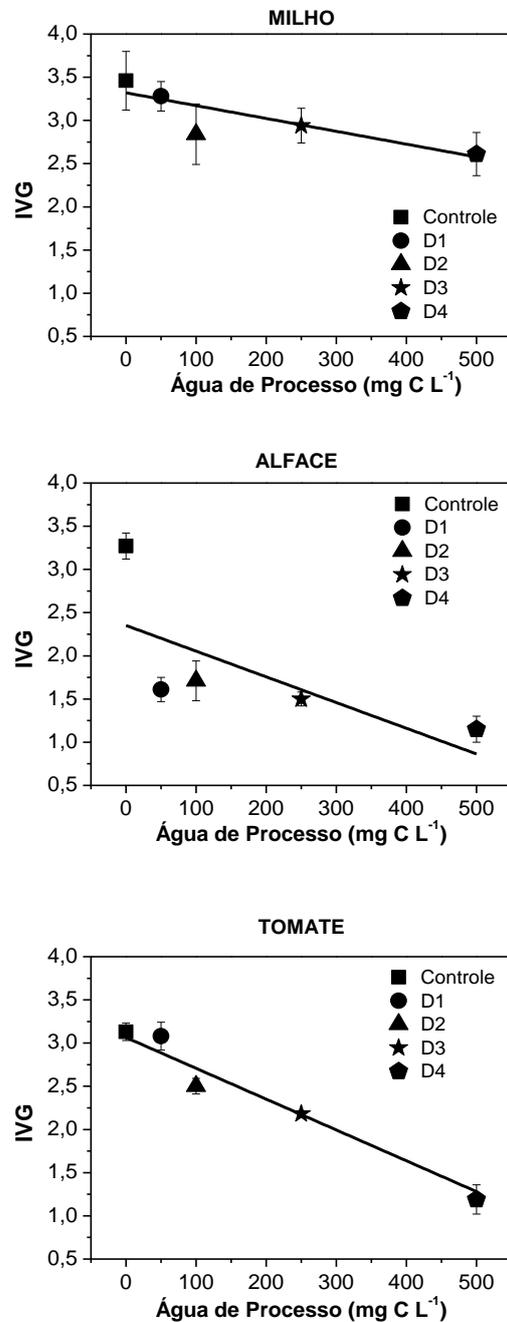
Para sementes de milho (Figura 11) a concentração D1 (50 mg C L⁻¹) apresentou comportamento semelhante ao controle, não mostrando atraso na germinação como as demais concentrações estudadas. Para alface, em todas as concentrações estudadas houve atraso no processo de germinação (Figura 11). Para tomate, a concentração D1 (Figura 11) apresentou comportamento semelhante ao controle no processo de germinação. Por outro lado, para as concentrações D2, D3 e D4 foi observado atraso no processo de germinação. Assim, para todas as sementes verifica-se aumento na quantidade dos dias necessários para ocorrência da germinação, mostrando um efeito de retardamento deste processo por influência do meio (Figura 12), sendo comum a todas as sementes com o aumento da concentração da AP.

Figura 11. Efeito da concentração da água de processo sobre a porcentagem de germinação de sementes de milho, alface e tomate durante sete dias.



Fonte: FREGOLENTE et al. (2018), autorizada pela revista (autorização n° 4638360669074).

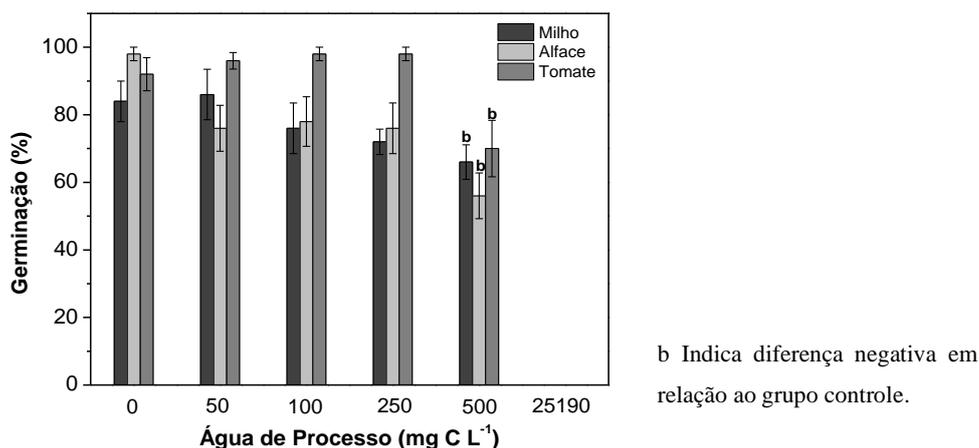
Figura 12. Correlação do índice de velocidade de germinação das sementes de milho, alface e tomate com o aumento da concentração de AP expresso em função da concentração de carbono presente na AP.



Fonte: FREGOLENTE et al. (2018), autorizada pela revista (autorização n° 4638360669074).

A Figura 13 exibe a quantidade total de sementes germinadas para cada concentração de AP ao final dos sete dias de experimento. Embora não haja diferença estatística para a quantidade final de sementes germinadas, entre o controle e as diluições D1, D2 e D3, observa-se uma tendência linear da porcentagem final de sementes germinadas com o aumento da concentração de AP até a concentração D3, sendo esta tendência crescente para tomate e decrescente para milho e alface. Desta forma, para milho e alface, o aumento da concentração de AP no meio leva há uma tendência de redução do número de sementes germinadas ao final do experimento, embora se observa aumento na porcentagem de germinação em D1, com para tomate, observa-se aumento no número de sementes germinadas com o aumento da concentração de AP até a concentração D3. Nota-se que a concentração D4 mostrou diferença significativa negativa no número de sementes germinadas para todas as culturas estudadas, e que para a concentração D5, a qual é referente à AP concentrada, não foi observada germinação para nenhuma das culturas avaliadas.

Figura 13. Porcentagem de germinação das sementes de milho, alface e tomate após 7 (sete) dias para as diferentes concentrações de água de processo.



Fonte: FREGOLENTE et al. (2018), autorizada pela revista (autorização n° 4638360669074).

Vale comentar, que embora exista atraso no processo de germinação, ao final de sete dias de experimento, a quantidade de sementes germinadas no controle foi semelhante à quantidade encontrada para as diluições D1, D2 e D3, não havendo diferença estatística entre as diluições e o controle. Portanto, os resultados sugerem que

dependendo da concentração da AP pode ocorrer desde retardamento no processo de germinação até a não ocorrência do mesmo.

A resistência do processo de germinação, frente às alterações do meio pode estar relacionada às características fisiológicas das sementes, tais como tamanho, permeabilidade da casca, diferença quanto à quantidade necessária de cada nutriente, assim como o metabolismo e comportamento frente às substâncias tóxicas que possam estar em contato (MOSSE et al., 2010; WILLIAMNS; HOAGLAND, 1982). Tais afirmações corroboram com os dados de Índice de Velocidade de Germinação (IVG), Figura 12, onde foi observada variação na velocidade de germinação de cada semente frente às concentrações de AP estudadas. O aumento da concentração da AP ocorre de D1 para D5, contudo no gráfico constam apenas os valores para as concentrações em que ocorreu germinação das sementes. O IVG da amostra D5 não foi utilizado para a determinação da tendência linear por não ter sido observada germinação nesta concentração para nenhuma das culturas testadas.

Observa-se tendência linear do IVG em relação às concentrações de água de processo, expressa na Figura 12 em função das concentrações de carbono na água de processo. A concentração de carbono na água de processo foi usada como parâmetro para as diluições, por isso a apresentação da variação do IVG com o aumento deste parâmetro. Foi observada diminuição do IVG com o aumento da concentração de AP, para todas as sementes analisadas, evidenciando o retardamento no processo de germinação das sementes.

As inclinações das retas na Figura 13 (coeficiente de correlação das curvas de 0,91, 0,71 e 0,97 para o milho, alface e tomate, respectivamente) indicam que a velocidade de germinação do milho foi a que menos sofreu influência pela água de processo no processo de germinação. Por outro lado, a germinação da alface diminuiu na presença da água de processo, em todas as concentrações avaliadas. Para tomate, a diminuição na velocidade de germinação diminuiu com o aumento da concentração de AP. Além disso, observa-se que para a concentração D1 o IVG encontra-se próximo do IVG do controle, indicando que nesta concentração não há inibição no processo de germinação.

Bargmann e colaboradores (2013) constataram efeito tóxico para todas as águas analisadas em estudos avaliando o efeito de água de processo concentrada de diferentes

processos de carbonização hidrotérmica sobre germinação de cevada, observando desde inibição completa da germinação quanto diminuição na quantidade de sementes germinadas. Para as águas de processo avaliadas, a intensidade na inibição estava ligada à matéria prima utilizada no processo de carbonização. Foi observado resultado semelhante para a cultura do milho por Vozhdayev e colaboradores (2015), no qual ocorreu diminuição no número de sementes germinadas para água de processo diluída, e inibição completa na germinação de sementes para água de processo concentrada. Tais observações corroboram com os resultados obtidos neste trabalho para as diluições avaliadas, e, também para a água de processo concentrada.

Nos casos acima mencionados, a água de processo avaliada era proveniente de meio hidrotermal produzido com água. Neste trabalho, a água de processo foi gerada por meio da carbonização da vinhaça e bagaço de cana, no qual o meio hidrotermal foi produzido pela própria vinhaça. Como esta é composta de uma mistura complexa de compostos orgânicos e íons (potássio, sódio, magnésio, entre outros) em elevadas concentrações (BUENO et al., 2009; CHRISTOFOLETTI et al., 2013; MARINHO et al., 2014; MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015), tais características fazem com que, provavelmente, após o processo de carbonização hidrotérmica, a composição da AP apresente características físico-químicas diferentes se comparada às águas de processos geradas sob carbonização hidrotérmica quando o meio hidrotermal é apenas água.

É relatado que a presença íons tais como K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , entre outros, podem afetar o processo de germinação, inibindo-o, além de influenciar negativamente o desenvolvimento das raízes (JAFARZADEH; ALIASGHARZAD, 2007). Assim, para a amostra D5, a elevada concentração desses elementos (Tabela 3), provavelmente, foi um dos fatores que limitou a germinação das sementes. Para as amostras diluídas (D1, D2, D3 e D4) o aumento da concentração de tais cátions, aliado ao conseqüente aumento de outros componentes da AP (ex: compostos orgânicos), provavelmente, influenciou retardando o processo de germinação. Tal observação está de acordo com o observado por Mosse et al. (2010), onde trabalhando com efluente da produção de vinho, contendo elevados níveis de sódio e potássio, além de ácidos orgânicos e polifenóis, constatou que o IVG foi negativamente afetado com o aumento da concentração do efluente. Ainda, tais efeitos também poderiam ser atribuídos, à presença de substâncias fitotóxicas na água de processo, as quais são geradas durante o processo de carbonização hidrotérmica, tais

como ácidos orgânicos, fenóis e aldeídos (KAMBO; DUTTA, 2015a; KUITERS, 1989; VOZHDAYEV et al., 2015).

Assim, a hipótese atribuída para justificar a inibição/atraso de germinação e desenvolvimento das sementes aqui testadas, está associada, principalmente, à presença de compostos como ácidos carboxílicos e acéticos, álcoois, ácidos graxos (C17 e C18), além de fenóis e furanos (DA SILVA, 2018; LARANJA, 2018; MELO et al., 2017a). Tais compostos foram identificados por Melo et al (2017b) na AP gerada na carbonização de vinhaça e bagaço de cana, a qual ocorreu sob as mesmas condições utilizada neste trabalho. Na amostra de água de processo concentrada (D5) têm-se as maiores concentrações dos compostos orgânicos e cátions. Assim, estas maiores concentrações, provavelmente, foram as responsáveis pela não germinação das sementes. Contudo, para as amostras diluídas, a presença destes compostos, porém em menores concentrações, provavelmente, contribuiriam apenas para o retardamento da germinação das sementes. Tais resultados estão de acordo com o observado por Vozhdayev et al. (2015) que também detectaram apenas diminuição na quantidade de sementes germinadas para a água de processo diluída. Como a AP se trata de uma matriz complexa, composta por substâncias orgânica e inorgânicas, há uma dificuldade na especificação de qual(is) composto é(são) o(s) responsável(is) por tais observações negativas, quanto ao desenvolvimento e germinação, da mesma forma que constatado para efluentes da produção de vinho e de azeite de oliva (MOSSE et al., 2010; PAREDES et al., 1999; PIERANTOZZI et al., 2012).

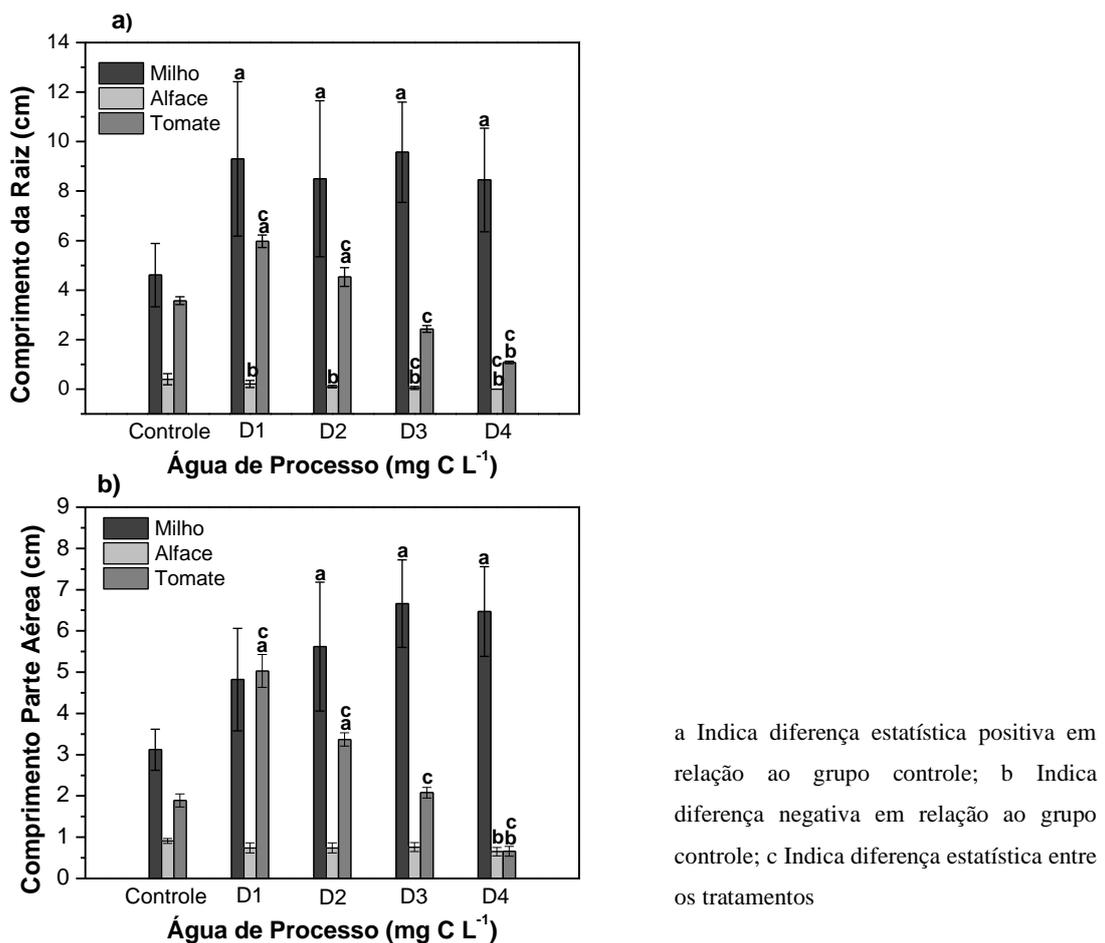
O efeito do meio no desenvolvimento das raízes está evidenciado na Figura 14a, a qual apresenta o comprimento das raízes medido no sétimo dia de experimento, observando-se respostas diferentes entre as sementes avaliadas. Sementes de milho têm sido utilizadas em estudos com efluentes/poluentes (LI et al., 2017a; SANG et al., 2010), e também foram utilizadas para testar o efeito de extratos de biochar (SUN et al., 2017), mostrando que a quantidade de carbono no meio pode melhorar o processo de germinação e crescimento das sementes. Sun et al. (2017) atribuiu os efeitos positivos observados no crescimento da raiz à quantidade de carbono presente na solução. Para tal afirmação, compararam o desenvolvimento de sementes de milho nas soluções extraídas de biochar, com outras com concentrações de íons inorgânicos similares, e observaram que estes não influenciaram negativamente ou positivamente no desenvolvimento das raízes. Sendo

assim, entende-se que a quantidade de carbono nas diluições da AP, provavelmente, pode ter influenciado positivamente no desenvolvimento das raízes de milho, estimulando o crescimento, uma vez que o aumento deste no meio levou a melhor desenvolvimento das raízes, apresentando significância estatística positiva em relação ao grupo controle para as concentrações D1, D2, D3 e D4, conforme demonstrado na Figura 14a. Levando em consideração a concentração de carbono presente na água de processo, o efeito observado por Sun et al. (2017) explicaria o desenvolvimento crescente das raízes do milho, com o aumento da concentração de carbono no meio até a diluição D4, uma vez que o aumento na concentração de carbono também está acompanhado ao aumento na concentração dos compostos orgânicos e inorgânicos.

Na Figura 14a, é observado o efeito negativo à presença da água de processo no desenvolvimento das sementes de alface, uma vez que todas as diluições estudadas apresentaram significância estatística negativa em relação ao controle. É relatado que plantas vasculares, tais como alface, são mais sensíveis às variações do meio quanto à toxicidade, razão pela qual são utilizadas em estudos toxicológicos como, por exemplo, de efluentes (MOSSE et al., 2010; PIERANTOZZI et al., 2012; PRIAC; BADOT; CRINI, 2017; URBANO et al., 2017; YOUNG et al., 2012), e substâncias tais como alumínio (SILVA; MATOS, 2016), grafeno (BEGUM; IKHTIARI; FUGETSU, 2011), biochar (OH et al., 2012), entre outros. Assim, entende-se que a razão pela qual para as sementes de alface não foi observado o mesmo desenvolvimento que para as sementes de milho e tomate, é a sensibilidade desta classe de plantas à determinados compostos, os quais acabaram por inibir o crescimento das raízes. O efeito negativo no crescimento de raízes e parte aérea de alface devido à presença alumínio foi reportado por Silva e Matos (2016). O aumento na concentração de Al pelo aumento na concentração da água de processo poderia aumentar a rigidez da parede celular afetando a divisão celular, dificultando o crescimento e desenvolvimento das raízes e parte aérea, sendo uma das possíveis causas para a inexistência de raízes na amostra D4 (SILVA; MATOS, 2016). Ainda, a presença de ácido acético no meio também pode influenciar o crescimento das raízes de alface, que segundo Bargmann e colaboradores (2013) a presença deste composto afetaria, principalmente, o crescimento das raízes. Tal observação também explicaria o menor desenvolvimento das raízes de tomate na concentração D3, cujo desenvolvimento foi próximo ao observado para o controle. Para as diluições D1 e D2 o

crescimento das raízes das sementes de tomate mostrou-se significativamente positivo em relação ao controle. Assim, provavelmente, para concentrações maiores que D3, além do ácido acético e alumínio, outros compostos orgânicos e inorgânicos presentes no meio estariam, também, influenciando no desenvolvimento das raízes de tomate.

Figura 14. Comprimento a) da raiz e b) parte aérea ao final de 7 (sete) dias de experimento para as diferentes concentrações de água de processo.



Fonte: FREGOLENTE et al. (2018), autorizada pela revista (autorização n° 4638360669074).

O desenvolvimento da parte aérea do milho foi estimulado pela presença da água de processo no meio de crescimento. Para as concentrações D2, D3 e D4 obteve-se significância estatística positiva em relação ao controle, destacando-se a concentração D3 que apresentou melhores resultados (Figura 14b). Já a alface, assim como para as raízes,

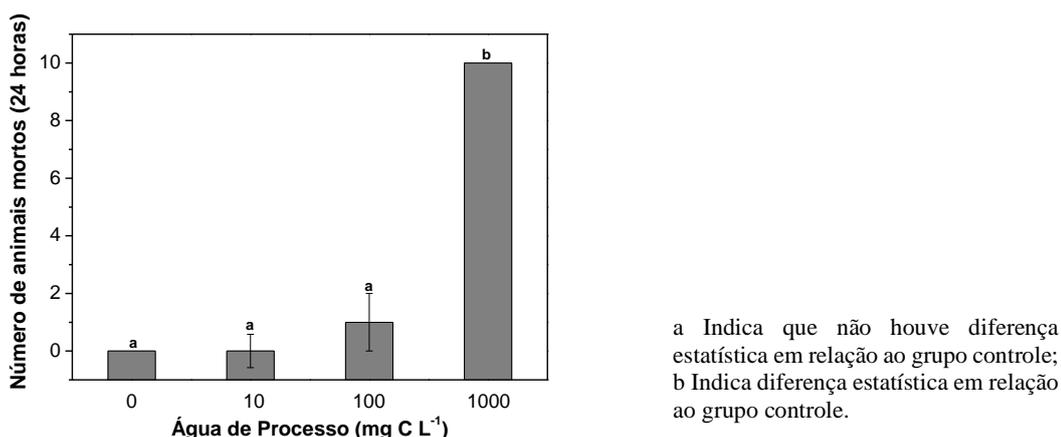
a presença da AP no meio inibiu o desenvolvimento da parte aérea, e para a amostra D4 o desenvolvimento observado foi abaixo do exibido pelo controle. O mesmo comportamento apresentado para as raízes de tomate foi observado para a parte aérea, destacando-se a concentração D1 como a que melhor estimulou o desenvolvimento.

Desta forma, para as sementes de milho, embora observado atraso no processo de germinação, a porcentagem de germinação não foi afetada na concentração D3, apresentando esta melhor desenvolvimento das raízes e parte aérea. Para as sementes de tomate, a concentração D1 foi a que melhor estimulou o seu desenvolvimento em todos os parâmetros analisados. Para alface, a água de processo apresentou efeito tóxico em todas as concentrações avaliadas, evidenciado a diminuição na porcentagem de sementes germinadas em relação ao grupo controle e baixo desenvolvimento das raízes e partes aéreas.

5.4.2 Avaliação por meio da letalidade de náuplios de *Artemia salina*

A exposição dos náuplios de *Artemia salina* à concentração de 10 mg C L⁻¹ da AP, bem com o controle, não provocou nenhuma morte. A exposição dos indivíduos à concentração de 100 mg C L⁻¹ acarretou a morte de apenas um indivíduo. Por outro lado, à exposição dos náuplios a concentração de 1000 mg C L⁻¹ provocou a morte de todos os indivíduos (Figura 15). A partir desses ensaios foi possível calcular a CL₅₀, cujo valor encontrado foi de 185 mg C L⁻¹.

Figura 15. Avaliação da toxicidade de água de processo utilizando náuplios de *Artemia salina* como modelo experimental.

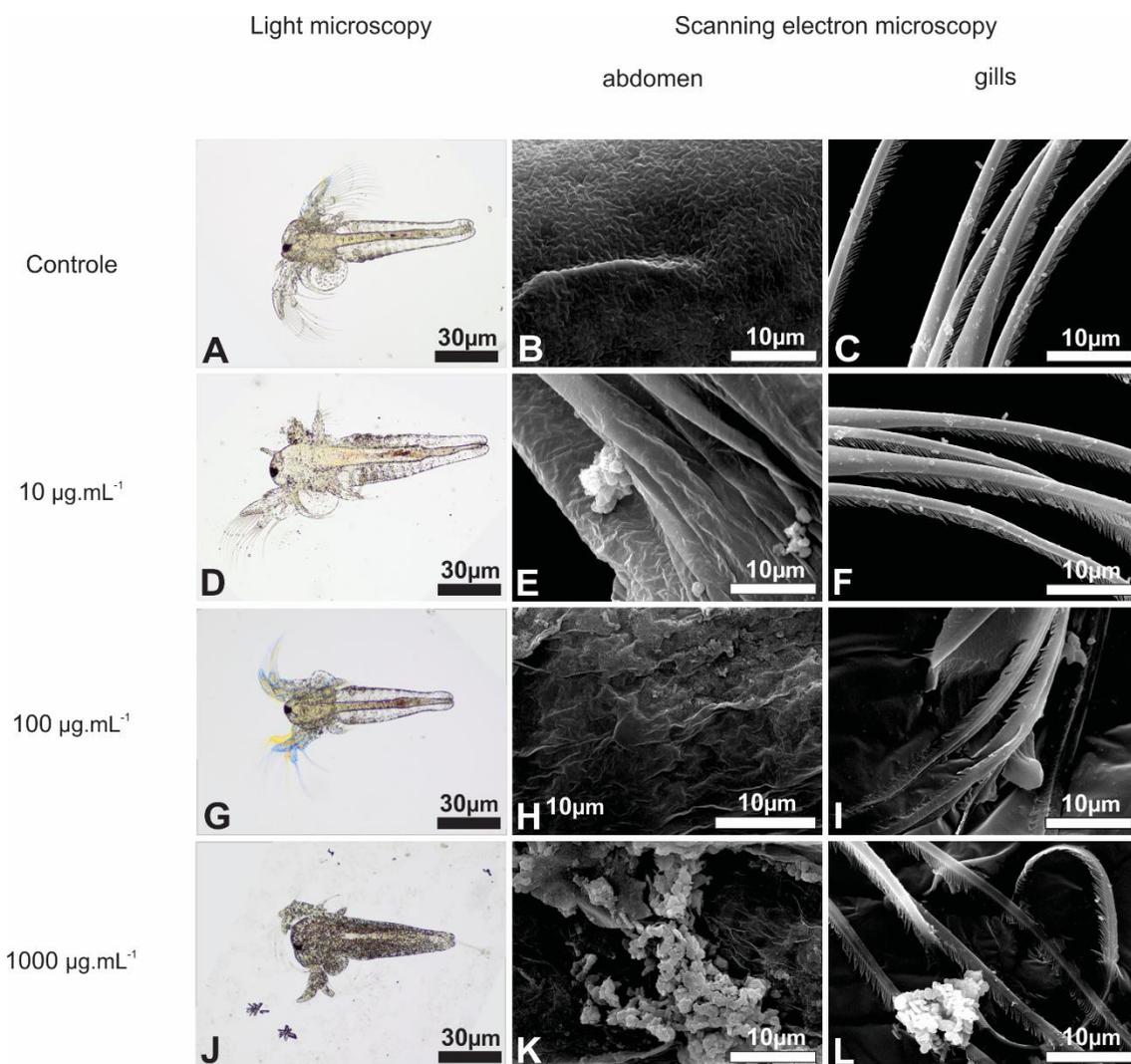


Fonte: FREGOLENTE et al., 2018, autorizada pela revista (autorização n° 4638360669074).

Náuplios do grupo controle apresentaram morfologia típica, incluindo intestino sem dilatações e com lúmen translúcido (Figura 16a) e sem partículas na superfície do abdômen (Figura 16b), porém com poucas partículas aderidas às antenas (Figura 16c) provenientes do meio de cultura. A exposição dos náuplios a 10 mg C L^{-1} de água processo começou a induzir mudanças estruturais nos indivíduos. Foi possível observar dilatação do trato digestório (Figura 16d), embora poucas partículas tenham sido visualizadas no abdômen (Figura 16e) ou antenas (Figura 16f). Náuplios expostos a 100 mg C L^{-1} exibiram dilatação do trato digestório, bem como acúmulo de material denso (Figura 16g). Contudo, foi observado pouco material acumulado na superfície do abdômen (Figura 16h) e nas antenas (Figura 16i). Já nos indivíduos expostos a 1000 mg C L^{-1} foram observados danos morfológicos consideráveis. O trato digestório se apresentou dilatado, com abundância de material denso em seu interior, e severos danos às antenas (Figura 16j/l), bem como grande acúmulo de material na superfície do abdômen (Figura 16j/k). Contudo, a água de processo da carbonização hidrotérmica de vinhaça e bagaço de cana pode ser considerada praticamente não tóxica. Tal conclusão baseia-se na proposta do GESAMP (2002), em que para o ambiente marinho substâncias que possuam CL_{50} maior que 100 e menor que 10000 mg L^{-1} são consideradas praticamente não tóxicas.

Embora a concentração de 10 mg C L^{-1} não tenha provocado nenhuma morte, e a concentração de 100 mg C L^{-1} tenha provocado apenas a morte de um indivíduo, a presença da AP nestas duas concentrações desencadeou mudanças estruturais, tais como dilatação do tubo digestório, acúmulo de material denso no seu interior e danos às antenas nas *Artemias*. Tais mudanças estruturais também foram descritas para outros materiais nanoestruturados, como relatado por Ozkan e colaboradores (2016) que observaram mudanças estruturais de *Artemias* expostas a nanopartículas de TiO_2 e AgTiO_2 ; e por Madhav e colaboradores (2017), que também constataram alterações estruturais em indivíduos expostos à nanopartículas de cobre.

Figura 16. Microscopia óptica e eletrônica de varredura de náuplios de *Artemia salina* expostos aos testes de toxicidade da água de processo.



Fonte: FREGOLENTE et al. (2018), autorizada pela revista (autorização n° 4638360669074).

5.5 Avaliação da aplicação de carvão hidrotérmico

5.5.1 Caracterização da fração solúvel de Carvão Hidrotérmico

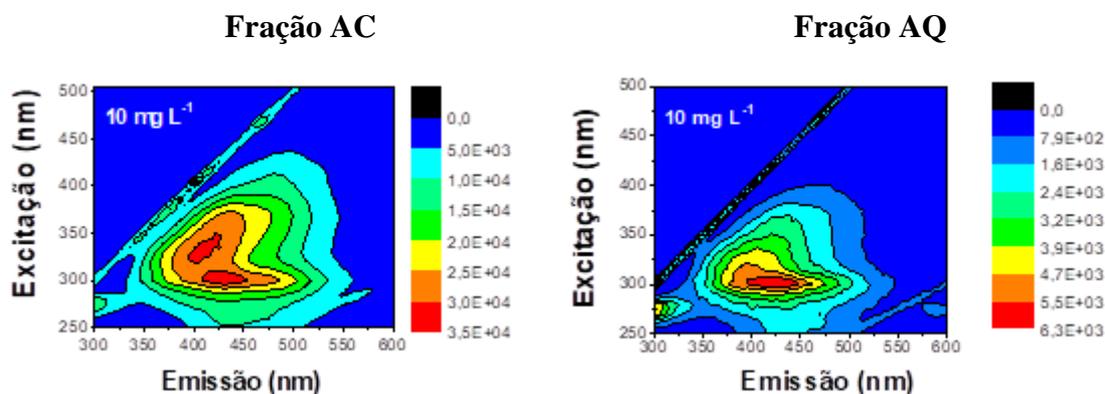
O estudo da matéria orgânica dissolvida (MOD) de carvão hidrotérmico foi realizada por meio de duas condições diferentes de extração, utilizando água (AQ) e utilizando solução de ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ (AC). A concentração de carbono orgânico total foi maior na fração AC do que na fração AQ, sendo 198,2±19,9 mg C L⁻¹ na fração AQ, e 313,6±40,6 mg C L⁻¹ na fração AC. Assim, a diferença no pH da solução

extratora provavelmente favoreceu a extração de compostos com grupos funcionais contendo oxigênio na superfície, tais como ésteres alifáticos, grupos carboxilas e álcoois (LI et al., 2017b; WU; DONG; LIU, 2018). Isto indica que a quantidade de MOD no carvão hidrotérmico apresentava maior afinidade com a fração AC, e que a MOD cuja afinidade se dava com a fração AQ era relativamente menor, seguindo o que vem sendo apresentado para biochar (LI et al., 2017b; WU; DONG; LIU, 2018).

A avaliação dos compostos orgânicos não voláteis presentes no carvão hidrotérmico produzido com vinhaça, bagaço de cana de açúcar e ácido fosfórico, mostrou a presença principalmente de ácidos graxos, ácidos carboxílicos e compostos nitrogenados (DA SILVA, 2018). Os compostos orgânicos semi-voláteis identificados foram os pertencentes à classe de compostos cíclicos, ácidos carboxílicos e derivados, fenóis, hidrocarbonetos, cetonas e derivados de benzeno. E ainda, dentre as classes de compostos orgânicos presentes no carvão hidrotérmico, destacam-se os fenóis, cetonas, aldeídos, furanos e derivados de benzeno (LARANJA, 2018), sendo a maioria identificados como compostos de cadeia longa, ou apresentando de dois a três anéis aromáticos condensados, indicando assim características apolares.

Conforme destacado por da Silva (2018) e Laranja (2018), a complexidade dos compostos identificados é bastante grande, devido a principalmente, a composição das biomassas utilizadas no processo de carbonização. De acordo com os espectros de fluorescência molecular obtidos no modo MEE (Figura 17), as regiões de maior intensidade de fluorescência são características de substâncias tipo ácido-húmico (Ex: >280 nm, Em: >380 nm) (CHEN et al., 2003). Ainda, para a fração AC, observa-se a fluorescência na região de compostos com estruturas semelhantes a flavonas, isoflavonas e cumarinas (SENESI et al., 1991), e ainda pode ser característica de compostos com estrutura semelhante a ácido hidroxibenzóico (Ex:314, Em:423), e derivados de cromonas (Ex:409-490, Em: 320-346) e grupos hidroxilas e metoxilas (SENESI et al., 1991).

Figura 17. Espectros de fluorescência MEE para as frações AQ e AC obtidas de carvão hidrotérmico.



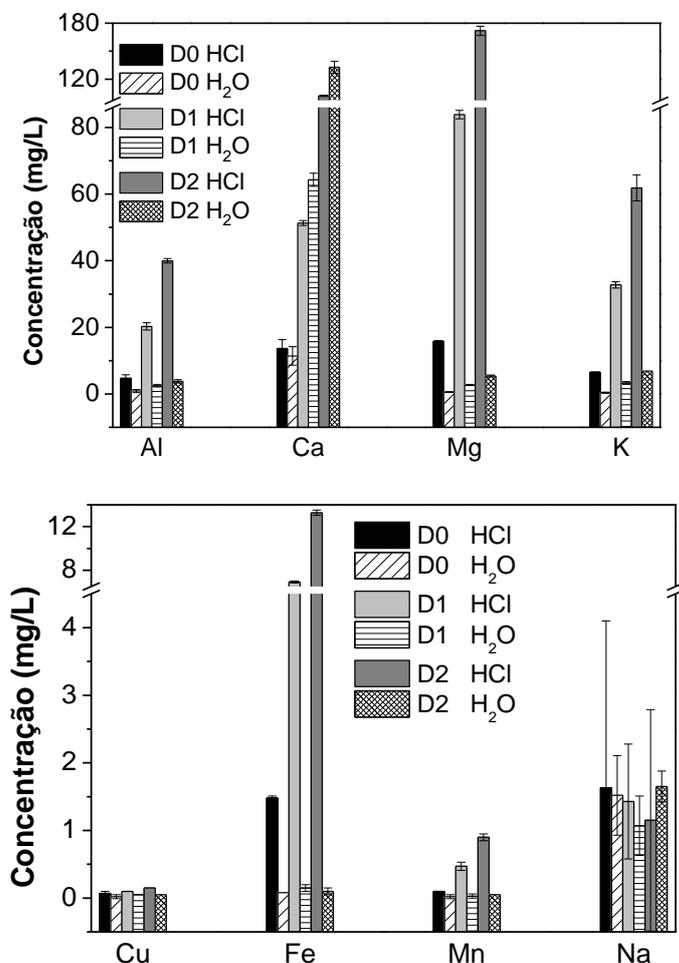
Fonte: Autoria própria.

Para as frações AQ há um deslocamento da região máxima de emissão para regiões de maior comprimento de onda, e para menores comprimentos de onda de excitação. Os centros de fluorescência foram próximas a região de material solúvel tipo microbiano (ex: proteínas aromáticas) (CHEN et al., 2003). Compostos com estruturas similares a salicilato de metila (Ex: 302-366, Em: 448); estruturas ácidas como hidroxicinamico, salicílico, ferulíco, protocatecuico (SENESI et al., 1991), entre outros, também podem se fazer presentes na fração AQ, de acordo com as regiões de fluorescência. Ainda, vale destacar que a ocorrência de fluorescência na região de Ex/Em 300/378 é característica de compostos tipo ácidos húmicos com baixa massa molecular (LI et al., 2017b).

A concentração dos nutrientes nas diferentes frações da MOD do carvão hidrotérmico (Figura 18) são um indicativo de como as variações do meio podem alterar na liberação destes materiais, assim como, pensando na aplicação em solos, as características do solo também influenciaram na liberação, tanto destes nutrientes, como na liberação de carbono (BENTO et al., 2019). Contudo, para a fração AC foram observadas maiores concentrações para quase todos os elementos analisado, com exceção dos elementos Cu e Na que apresentaram menores variações entre as frações de MOD. Elevadas concentrações de Mg, Ca, K, Fe e Na destacam-se para o extrato AC, sendo este resultado similar ao encontrado no extrato ácido obtido de biochar por Sun et al. (2017), indicando que estes elementos são mais facilmente extraídos em soluções levemente ácidas. As concentrações de Cu foram próximas ao limite de detecção do

método, o que justifica pouca diferença entre as frações, estando estas dentro do erro da análise.

Figura 18. Nutrientes presentes nas diferentes concentrações dos extratos de carvão hidrotérmico.



Fonte: Autoria própria.

Nas frações AC foi observado aumento das concentrações com o aumento da concentração do extrato (D0 para D2). Para as frações AQ observa-se a mesma tendência, com exceção dos elementos Mn e Fe, cujas concentrações encontram-se próximas ao limite de detecção do método, estando a variação observada dentro do erro. Contudo, entende-se o extrator água deionizada não favoreceu a extração desses elementos. Extratos aquosos, obtidos da extração de biochar de milho e trigo, por Lou et al. (2016) mostraram elevada concentração de K, Na, Ca e Mg respectivamente, o que contrasta com os resultados aqui encontrados (Ca, Na, Mg e K, respectivamente), indicando maior

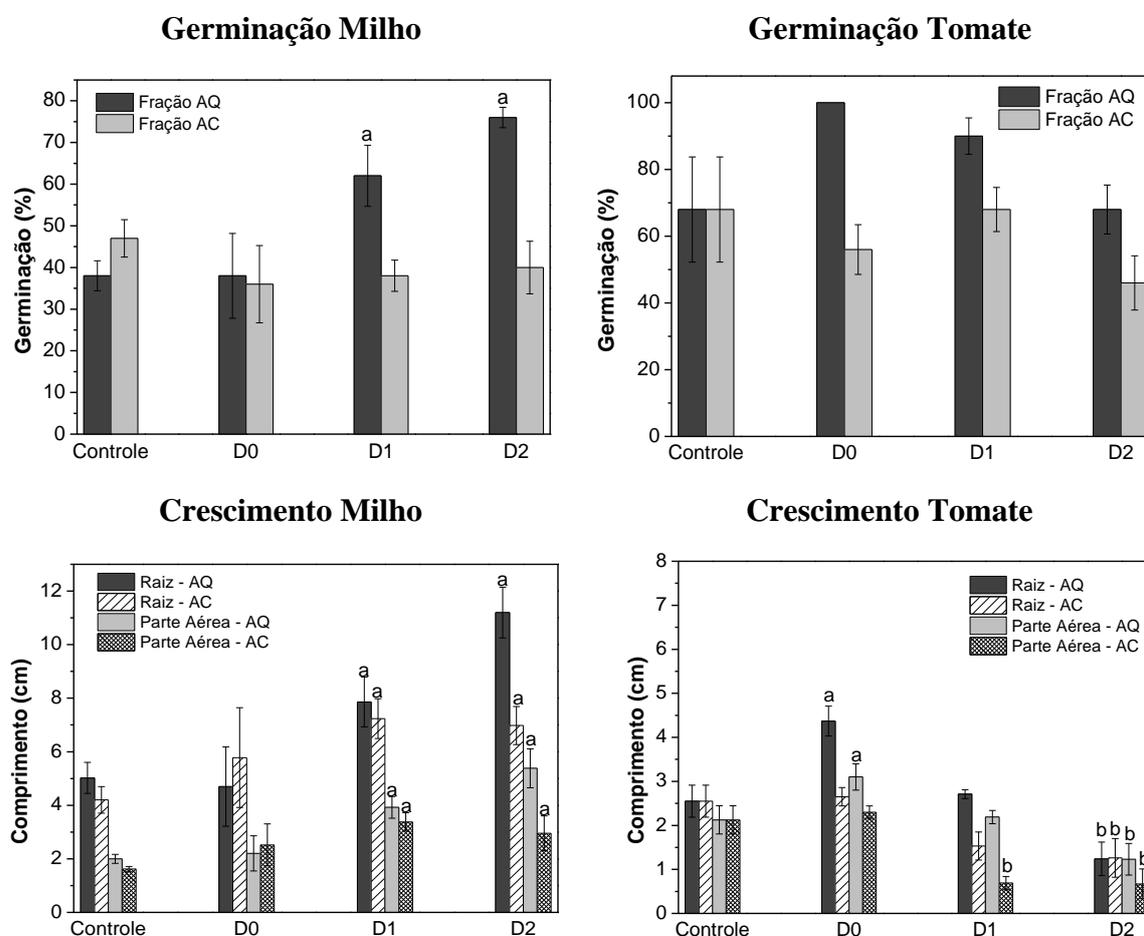
representatividade destes elementos, porém, mostrando que as quantidades extraídas variaram de acordo com as características do material (biochar e carvão hidrotérmico).

5.5.2 Experimentos de germinação com as frações solúveis do carvão hidrotérmico

Para os experimentos de germinação com as frações solúveis do carvão hidrotérmico os resultados observados foram semelhantes aos encontrados nos experimentos de germinação utilizando água de processo, no qual as sementes de milho foram melhor estimuladas pela presença das frações solúveis, enquanto as sementes de tomate mostraram-se mais sensíveis às variações do meio. Foi observado aumento da porcentagem de germinação para as sementes de milho com o aumento da concentração da fração AQ, e diminuição da porcentagem de germinação com o aumento da concentração da fração AC.

O crescimento das sementes de milho foi estimulado na presença da fração solúvel em água (AQ), principalmente para as concentrações D1 e D2. Para a fração solúvel em HCl (AC) as concentrações D1 e D2 também foram capazes de estimular o desenvolvimento tanto das partes aéreas quanto das raízes, em relação ao controle (Figura 19). Embora ambos os extratores tenham favorecido o desenvolvimento das sementes de milho nas mesmas concentrações, sendo este favorecimento estatisticamente significativo, destaca-se a concentração D2 da fração AQ como a melhor concentração.

Figura 19. Porcentagem de germinação das sementes de milho e tomate, e comprimento de raízes e partes aéreas, para as diferentes concentrações das frações solúveis de carvão hidrotérmico.



Fonte: Autoria própria.

Para as sementes de tomate, a fração AQ apresentou resultados positivos para a concentração de 10 mg C L⁻¹, e resultados negativos para a concentração D2. A fração AC apresentou resultados semelhantes ao controle para concentrações de 10 e 50 mg C L⁻¹, e resultados negativo para a concentração D2.

As diferenças no desenvolvimento das sementes, observadas entre as frações AQ e AC são, provavelmente, devidas ao solvente utilizado na extração, água e HCl 0,1 mol L⁻¹. Foi observado que a fração AC foi capaz de remover maiores quantidades de nutrientes presentes no carvão hidrotérmico, a destacar-se o Mg e o Fe, os quais foram encontrados em maiores concentrações. Ainda, a concentração de Al nas frações AC foram superiores

as encontradas para as frações AQ, o qual pode ter sido um dos fatores que limitantes para o desenvolvimento das sementes, uma vez que, conforme relatado por outros autores, a presença de Al inibiu o desenvolvimento de raízes e partes aéreas de sementes de alface, quando em concentrações de 0,05 a 20 mg L⁻¹ (SILVA; MATOS, 2016), e também de milho, em concentrações de 40 a 160 mg L⁻¹ (JAMAL; IQBAL; ATHAR, 2006), por exemplo, explicado conforme o item 5.4.1. Ainda, ferro é reportado como um dos metais que em concentrações elevadas apresenta potencial tóxico (concentrações acima de 10 mg L⁻¹) (LYU et al., 2018), podendo assim, ter contribuído para o baixo desenvolvimento de raízes e plântulas de tomate nas concentrações da fração AC.

Contudo, outra possível, e mais provável, explicação para o melhor desenvolvimento das sementes nas frações AQ pode estar ligada aos compostos orgânicos extraídos em cada fração. Sun et al. (2017) ao avaliar a germinação de semente de milho em extrato ácido (0,1 mol L⁻¹ HCl) de biochar, avaliou também o processo de germinação e crescimento inicial em condições reproduzidas das concentrações apenas dos inorgânicos identificados no extrato. Os resultados de crescimento inicial mostraram que não houve diferença significativa no desenvolvimento das sementes entre a solução extraída e a solução artificialmente preparada, indicando que os resultados adversos encontrados no crescimento inicial são, provavelmente, devidos a fração orgânica do biochar solúvel no extrator (SUN et al., 2017)

A característica composicional dos compostos orgânicos identificados no extrato de biochar (SUN et al., 2017) e também no carvão hidrotérmico (DA SILVA, 2018) foram semelhantes, pertencentes a classe de compostos com razões H/C e O/C semelhantes, cujas estruturas são características de proteínas, lipídios, e lignina. Desta forma, os efeitos adversos encontrados para o crescimento de milho na fração AQ indica serem devidos aos componentes orgânicos presentes no carvão hidrotérmico que podem ter sido extraídos sob condições levemente ácidas. Ainda, resultados alcançados, e já demonstrados, mostraram os efeitos de compostos como ácidos carboxílicos, aldeídos e fenóis podem afetar negativamente o crescimento de raízes e da plântula (BARGMANN et al., 2013; LYU et al., 2018; PINHO et al., 2017).

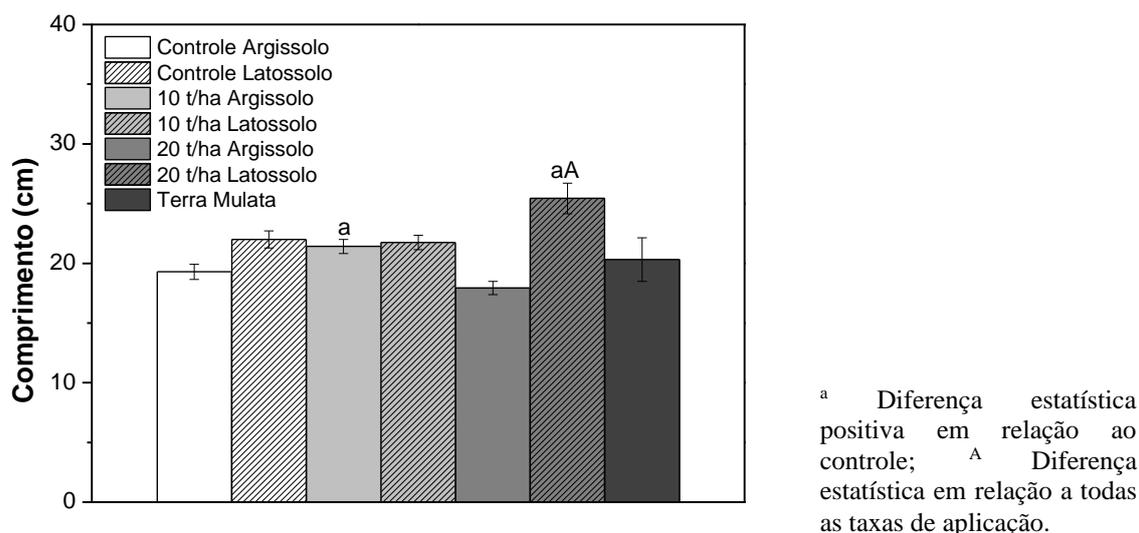
Desta forma, entende-se que, embora presentes no carvão hidrotérmico os mesmos compostos orgânicos, a extração destes foi favorecida/desfavorecida pelo extrator utilizado. Assim, a extração de diferentes compostos orgânicos, ou ainda diferentes

quantidades extraídas, levaram a resultados diferentes, apresentando-se a fração AQ mais favorável para o desenvolvimento das sementes de milho, comparadas a fração AC.

5.5.3 Experimento de Crescimento de Milho

A avaliação do desenvolvimento de milho na presença de carvão hidrotérmico em diferentes taxas de aplicação foi realizada em dois momentos: 12 dias após o plantio, e aos 60 dias após o plantio. A primeira avaliação foi realizada antes do desbaste, no qual todas as sementes germinadas tiveram sua parte aérea medida, número de folhas contabilizados, e então a plântula em melhor estágio de desenvolvimento foi selecionada, sendo as demais removidas do vaso de crescimento. Na Figura 20 estão os resultados de crescimento no dia do desbaste, mostrando que a taxa de aplicação de carvão hidrotérmico de 10 t ha⁻¹ estimulou o desenvolvimento inicial do milho, comparado ao controle (sem carvão hidrotérmico).

Figura 20. Comprimento da parte aérea das plântulas de milho após 1 semana da emergência (12 dias do plantio, dia do desbaste).



Fonte: Autoria própria.

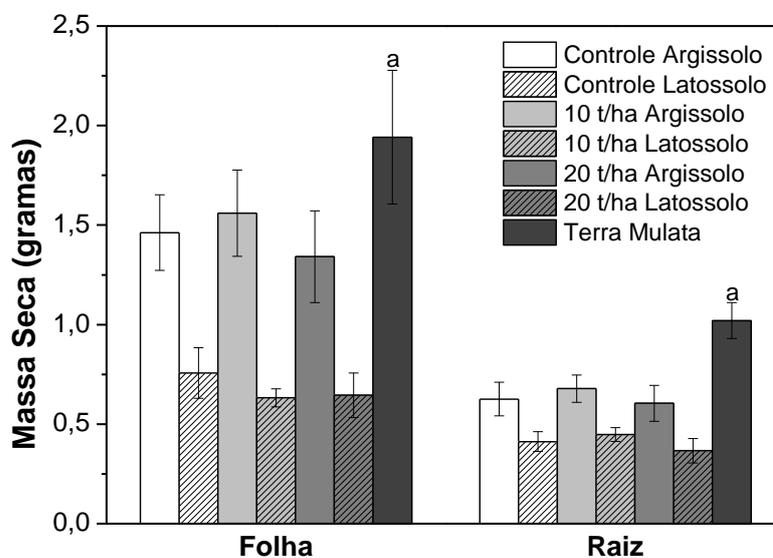
Não foi observada diferença entre as taxas de aplicação de 10 e 20 t ha⁻¹ para massa seca entre os tratamentos com carvão hidrotérmico (Figura 21). O mesmo foi encontrado

para a primeira safra de cultivo de feijão em solos com adição de 4, 8 16 e 32 t ha⁻¹ de carvão hidrotérmico, contudo, para a segunda safra foram observados efeitos positivos em relação a massa seca, no qual a taxa de aplicação de 16 t ha⁻¹ proporcionou um aumento de 96% de massa seca em relação ao controle (MELO et al., 2018). Ainda, Melo et al. (2018) relatou que houve melhora nas condições do solo, em termos de nutrientes, após a aplicação de carvão hidrotérmico, analisando as características do solo após o plantio.

Contudo, diferença estatística significativa foi encontrada para massa seca, tanto de raízes quanto das folhas, para milho cultivado em solos Terra Mulata. Solos tipo Terra Mulata são considerados como solos com elevada fertilidade, motivo pelo qual este foi utilizado neste trabalho como controle positivo, ou seja, foi considerado como sendo o melhor desenvolvimento esperado para este cultivo. Conforme esperado, e comprovado estatisticamente, o melhor desenvolvimento de milho foi observado para solos Terra Mulata, seguido pelo argissolo, em especial para a concentração de 10 t ha⁻¹.

Embora resultados positivos significativos da aplicação de carvão hidrotérmico não tenham sido encontrados, foi possível observar aumento na massa seca de raízes para a taxa de aplicação de 10 t ha⁻¹, e principalmente para massa seca das folhas, comparado ao controle, para o argissolo. Para latossolo, embora não observada diferença estatística, foi observado diminuição na massa seca das folhas para ambas as taxas de aplicação avaliadas. Desta forma, frente aos resultados encontrados na literatura, resultados positivos da aplicação do carvão hidrotérmico ainda podem ser esperados para culturas subsequentes, ou ainda após maior período em contato com o solo, uma vez que a aplicação deste carvão hidrotérmico na taxa de 4 % (80 t ha⁻¹) mostrou-se mais eficiente comparada a taxa de aplicação de 1 % (20 t ha⁻¹) frente a liberação de nutrientes após 30 dias da aplicação (BENTO et al., 2019).

Figura 21. Massa seca das raízes e folhas de milho recolhidas ao final do experimento de crescimento em solos Terra Mulata, e, também, solos tipo latossolo e argissolo, que receberam diferentes taxas de carvão hidrotérmico.



Fonte: Autoria própria.

Resultados positivos da aplicação de carvão hidrotérmico são minoria frente aos efeitos negativos reportados. Como exemplo, embora a aplicação de carvão hidrotérmico tenha aumentando a quantidade de micorriza arbuscular no solo, isso não refletiu diretamente em melhor desenvolvimento das plantas, cujo crescimento foi menor com o aumento da taxa de aplicação, indicando que esse tipo de fungo é menos sensível à presença de carvão hidrotérmico comparado às plantas (RILLIG et al., 2010a). Isso também pode estar ligado ao grau de condensação do material, sendo reportado que o carbono é mais facilmente degradado em materiais com baixo grau de condensação, facilitando a interação deste com a comunidade biológica do solo (ANDERT; MUMME, 2015). Esta foi a justificativa encontrada por Andert e Mumme (2015) da aplicação de carvão hidrotérmico em solo, resultando no aumento da quantidade de bactérias tipo *Proteobacteria* e *Bacteroidetes*, enquanto a ocorrência de *Acidobacteria* e *Firmicutes* diminuiu.

Tais observações justificam as divergências encontradas para as aplicações de carvão hidrotérmico, sendo as características do mesmo fatores importantes na determinação dos efeitos da aplicação. Aumentando a quantidade de micorriza arbuscular no solo, não refletiu diretamente em melhor desenvolvimento das plantas, cujo crescimento foi menor com o aumento da taxa de aplicação, indicando que esse tipo de fungo é menos sensível à presença de carvão hidrotérmico comparado as plantas (RILLIG et al., 2010a). Isso também pode estar ligado ao grau de condensação do material, sendo reportado que o carbono é mais facilmente degradado em materiais com baixo grau de condensação, facilitando sua interação com a comunidade biológica do solo (ANDERT; MUMME, 2015). Esta foi a justificativa encontrada por Andert e Mumme (2015) da aplicação de carvão hidrotérmico em solo, resultando no aumento da quantidade de bactérias tipo *Proteobacteria* e *Bacteroidetes*, enquanto a ocorrência de *Acidobacteria* e *Firmicutes* diminuiu. Tais observações justificam as divergências encontradas para as aplicações de carvão hidrotérmico, cujas características do mesmo são fatores importantes na determinação dos efeitos da aplicação.

6 CONCLUSÃO

O aumento da capacidade do reator utilizado nas reações de carbonização hidrotérmico não provocou alterações estruturais no carvão hidrotérmico, cujas diferenças identificadas foram atribuídas principalmente as características da matéria-prima utilizada. A caracterização das substâncias tipo-húmicas extraídas de carvão hidrotérmico mostrou que, embora sugeridas a presença de grupamentos funcionais e estruturas similares aquelas apresentadas pelas substâncias húmicas de solos Terra Mulata, sua organização estrutural provavelmente é diferente. Tais observações, são, principalmente, devidas ao processo de formação dos materiais, onde para carvões hidrotérmicos são obtidos por um processo termoquímico, e para Terras Mulatas as substâncias húmicas foram formadas por processo natural de humificação.

Os resultados observados da utilização da água de processo em experimentos de germinação mostraram potencial para que ela seja utilizada como fertilizante, sendo capaz de estimular a germinação e o desenvolvimento inicial das sementes de milho e tomate, quando aplicada na concentração correta. Ainda, foi observado que a resposta para a utilização desse material pode ser espécie-dependente, sendo observados resultados diferentes quanto utilizada para diferentes culturas.

O efeito positivo da utilização de extratos de carvão hidrotérmico na germinação de sementes de milho mostra que o material tem potencial para estimular o desenvolvimento das mesmas. Quando aplicado diretamente em solo não foi observado desenvolvimento acima do obtido para solos que não receberam o material, tanto para latossolo quanto para argissolo, podendo assim inferir que efeitos positivos da aplicação de carvão hidrotérmico podem ser esperados para maiores tempos de contato do material com o solo. Assim, embora não observado desempenho das sementes semelhante ao observado para solos Terra Mulata, é reconhecido o potencial do carvão hidrotérmico de atuar como fertilizante de solos.

REFERÊNCIAS

- ABEL, S. et al. Impact of biochar and hydrochar addition on water retention and water repellency of sandy soil. **Geoderma**, v. 202–203, p. 183–191, 2013.
- ALVES, P. R. L. et al. Ecotoxicological characterization of sugarcane vinasses when applied to tropical soils. **Science of The Total Environment**, v. 526, p. 222–232, 2015.
- ANDERT, J.; MUMME, J. Impact of pyrolysis and hydrothermal biochar on gas-emitting activity of soil microorganisms and bacterial and archaeal community composition. **Applied Soil Ecology**, v. 96, p. 225–239, 2015.
- APHA. 2540G. Total, Fixed, and Volatile Solids in Solid and Semisolid Samples. In: WILDER, B. H. et al. (Eds.). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20. ed. [s.l.: s.n.]. p. 60–61.
- ARAUJO, J. R. et al. Selective extraction of humic acids from an anthropogenic Amazonian dark earth and from a chemically oxidized charcoal. **Biology and Fertility of Soils**, p. 1223–1232, 2014.
- 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. Initial and subsequent effects of hydrochar amendment on germination and nitrogen uptake of spring barley. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 177, n. 1, p. 68–74, 2014.
- BEGUM, P.; IKHTIARI, R.; FUGETSU, B. Graphene phytotoxicity in the seedling stage of cabbage, tomato, red spinach, and lettuce. **Carbon**, v. 49, n. 12, p. 3907–3919, 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, n. June 2017, p. 24–32, 2019.
- BHATTACHARYA, J.; KHUSPE, S. S. In vitro and in vivo germination of papaya (*Carica papaya* L.) seeds. **Sci Hort**, v. 91, 2001.
- BILLER, P. et al. Nutrient recycling of aqueous phase for microalgae cultivation from the hydrothermal liquefaction process. **Algal Research**, v. 1, n. 1, p. 70–76, 2012.
- BORCHARD, N. et al. Application of biochars to sandy and silty soil failed to increase maize yield under common agricultural practice. **Soil and Tillage Research**, v. 144, p. 184–194, 2014.

- BRITO, F. L.; ROLIM, M. M.; PEDROSA, E. M. R. Concentração de cátions presentes no lixiviado de solos tratados com vinhaça. **Engenharia Agrícola**, v.27, n. 3, p.773-781, 2007.
- BUDZIAK, C. R.; MANGRICH, A. S. Transformações químicas da matéria orgânica durante a compostagem de resíduos da Indústria madeireira. **Química Nova**, v.27, n.3, 339-403, 2004.
- BUENO, P. C. et al. Impacts caused by the addition of wine vinasse on some chemical and mineralogical properties of a Luvisol and a Vertisol in La Mancha (Central Spain). **Journal of Soils and Sediments**, v. 9, n. 2, p. 121–128, 2009.
- BUSCH, D. et al. Genotoxic and phytotoxic risk assessment of fresh and treated hydrochar from hydrothermal carbonization compared to biochar from pyrolysis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 97, p. 59–66, 2013.
- BUTNAN, S. et al. Biochar characteristics and application rates affecting corn growth and properties of soils contrasting in texture and mineralogy. **Geoderma**, v. 237–238, p. 105–116, 2015.
- CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. A.; RUMJANEK, V. M. ; MORAES, A. A. ; GURIDI, F. Distribuição da matéria orgânica e características de ácidos húmicos em solos com a adição de resíduos de origem urbana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n.12, p. 1529-1538, 2001.
- CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.R. Chemical nature of soil humifiel fractions and their bioactivity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p. 233-240, 2004.
- CANELLAS, L.P. SANTOS, G.A. Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas, 309 p, 2005.
- CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Vinhaça – Critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola. P41.231, fevereiro de 2015. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/dd/DD-045-2015-C.pdf>>. Acesso em 11 de abril de 2015.
- CHEFETZ, B. et al. Characterization of Organic Matter in Soils by Thermochemolysis Using Tetramethylanunonium Hydroxide (TMAH). **Soil Science Society of America Journal**, v. 64, n. June 1999, p. 583–589, 2000.
- CHEN, W. et al. **Fluorescence excitation - Emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter** *Environmental science & technology*, 2003.

- CHEN, J.; LEBOEUF, E. J.; DAÍ, S.; GU, B. Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions. **Chemosphere**, p. 639–647, 2003.
- CHRISTOFOLETTI, C. A. et al. Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. **Waste Management**, v. 33, n. 12, p. 2752–2761, 2013.
- COSTA, M. L. DA et al. The ceramic artifacts in archaeological black earth (terra preta) from Lower Amazon Region, Brazil: chemistry and geochemical evolution. **Acta Amazonica**, v. 34, n. 3, p. 375–386, 2004.
- CUNHA, T. J. F. et al. Fracionamento químico da matéria orgânica e características de ácidos húmicos de solos com horizonte a antrópico da amazônia (Terra Preta). **Acta Amazonica**, v. 37, n. 1, p. 91–98, 2007.
- DA SILVA, R. C. J. **Identificação de compostos orgânicos não voláteis no carvão hidrotérmico e na água de processo obtidos da carbonização hidrotérmica de subprodutos da indústria sucroenergética**. [s.l.] Universidade Estadual de São Paulo “Júlio de Mesquita Filho”, 2018.
- DAVID, G. F. et al. Thermochemical conversion of sugarcane bagasse by fast pyrolysis: High yield of levoglucosan production. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 133, n. March, p. 246–253, 2018.
- DE SOUZA DIAS, M. O. et al. Sugarcane processing for ethanol and sugar in Brazil. **Environmental Development**, v. 15, p. 35–51, 2015.
- DICK, D. P.; GOMES, J.; ROSINHA, P. B. Caracterização de substâncias húmicas extraídas de solos e de lodo orgânico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.22, p.603-611, 1998.
- DOBBS, L. B.; RUMKANECK, V. M.; BALDOTTO, M. A.; VELLOSO, A. C. X.; CANELLAS, L. P. Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e fúlvicos isolados da camada superficial de latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p.51-63, 2009
- DU, Z. et al. Cultivation of a microalga *Chlorella vulgaris* using recycled aqueous phase nutrients from hydrothermal carbonization process. **Bioresource Technology**, v. 126, p. 354–357, 2012.
- EIBISCH, N.; SCHROLL, R.; FUSS, R. Effect of pyrochar and hydrochar amendments on the mineralization of the herbicide isoproturon in an agricultural soil. **Chemosphere**, v. 134, p. 528–535, 2015.
- EMBRAPA. 2015. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manejo da

- Fertirrigação. Terra Preta de Índio desperta interesse da ciência internacional – 05/06/13. Disponível em: <[https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1493237/terra-preta-de-indiodesperta-interesse-da-ciencia-internacional->](https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1493237/terra-preta-de-indiodesperta-interesse-da-ciencia-internacional-). Acesso em 30 de setembro de 2015
- EMBRAPA. 2013. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Terra Preta de Índio desperta interesse da ciência internacional. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/web/portal/busca-de-noticias/-/noticia/1493237/terra-preta-de-indio-desperta-interesse-da-ciencia-internacional->>. Acesso em 15 de julho de 2015
- EMBRAPA. Determinações Analíticas. In: DO CARMO, C. A. F. DE S. et al. (Eds.). . **Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2000. p. 47.
- EMBRAPA, E. B. D. P. A. **NASA confirma dados da Embrapa sobre área plantada no Brasil** **Conteúdo relacionado** **Tweetar**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/30972114/nasa-confirma-dados-da-embrapa-sobre-area-plantada-no-brasil>>.
- FANG, J. et al. Hydrochars derived from plant biomass under various conditions: Characterization and potential applications and impacts. **Chemical Engineering Journal**, v. 267, p. 253–259, 2015.
- FANG, J. et al. Minireview of potential applications of hydrochar derived from hydrothermal carbonization of biomass. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 57, p. 15–21, 2018.
- FERRARESE, R. F. M. S. **Caracterização do Aporte de Poluentes Oriundos da Atividade Sucralcooleira Para a Atmosfera , Água , Solo e Sedimento**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2011.
- FINNEY D. J. **Probit analysis**. Cambridge University Press, Cambridge, p. 333, 1971.
- FOOKEN, U.; LIEBEZEIT, G. Distinction of marine and terrestrial origin of humic acids in North Sea surface sediments by absorption spectroscopy. **Marine Geology**, v. 164, p.173-181, 2000.
- FORNES, F.; BELDA, R. M.; LIDÓN, A. Analysis of two biochars and one hydrochar from different feedstock: focus set on environmental, nutritional and horticultural considerations. **Journal of Cleaner Production**, v. 86, p. 40–48, 2015.
- FREGOLENTE, L. G. et al. Toxicity evaluation of process water from hydrothermal

- carbonization of sugarcane industry by-products. **Environmental Science and Pollution Research**, n. November 2017, p. 1–11, 2018.
- FREGOLENTE, L. G. et al. New Proposal for Sugarcane Vinasse Treatment by Hydrothermal Carbonization: An Evaluation of Solid and Liquid Products. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 00, n. 00, p. 1–11, 2019.
- FUESS, L. T.; GARCIA, M. L.; ZAIAT, M. Seasonal characterization of sugarcane vinasse: Assessing environmental impacts from fertirrigation and the bioenergy recovery potential through biodigestion. **Science of the Total Environment**, v. 634, p. 29–40, 2018.
- FUNKE, A.; ZIEGLER, F. Hydrothermal carbonization of biomass: A summary and discussion of chemical mechanisms for process engineering. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 4, p. 160–177, 2010.
- FUNKE, A.; ZIEGLER, F. Hydrothermal carbonization of biomass: A summary and discussion of chemical mechanisms for process engineering. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 6, n. 3, p. 246–256, 2012.
- GEORGE, C. et al. Divergent consequences of hydrochar in the plant-soil system: Arbuscular mycorrhiza, nodulation, plant growth and soil aggregation effects. **Applied Soil Ecology**, v. 59, p. 68–72, 2012.
- GESAMP. **The Revised GESAMP Hazard Evaluation Procedure for Chemical Substances Carried by Ships**. 1^a Edição, IMO, Londres, Reino Unido, 2002.
- GHETTI, P.; RICCA, L.; ANGELINI, L. Thermal analysis of biomass and corresponding pyrolysis products. **Fuel and Energy Abstracts**, v. 75, n. 5, p. 575–573, 1996.
- GONÇALVES, S. P. C. et al. Activated carbon from pyrolysed sugarcane bagasse: Silver nanoparticle modification and ecotoxicity assessment. **Science of the Total Environment**, v. 565, p. 833–840, 2016.
- HARTEMINK, A. E.; GERZABEK, M. H.; LAL, R. McSweeney. Soil carbon research priorities. **Soil Carbon**, p. 483–490, 2014.
- HELAL, A.A.; MURAD, G.A. Characterization of different humic materials by various analytical techniques. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 4, p. 51-54, 2011.
- HOARAU, J. et al. Sugarcane vinasse processing : Toward a status shift from waste to valuable resource . A review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 24, n. January, p. 11–25, 2018.

- HOGNON, C. et al. Comparison of pyrolysis and hydrothermal liquefaction of *Chlamydomonas reinhardtii*. Growth studies on the recovered hydrothermal aqueous phase. **Biomass and Bioenergy**, v. 73, p. 23–31, 2015.
- JAFARZADEH, A. A.; ALIASGHARZAD, N. Salinity and salt composition effects on seed germination and root length of four sugar beet cultivars. **Biologia**, v. 62, n. 5, p. 562–564, 2007.
- JAMAL, S. N.; IQBAL, M. Z.; ATHAR, M. Phytotoxic effect of aluminum and chromium on the germination and early growth of wheat (*Triticum aestivum*) varieties Anmol and Kiran. **International journal of Environmental Science and Technology**, v. 3, n. 4, p. 411–416, 2006.
- JINDO, K. et al. Physical and chemical characterization of biochars derived from different agricultural residues. **Biogeosciences**, v. 11, n. 23, p. 6613–6621, 2014.
- JORIO, A. et al. Brazilian science towards a phase transition. **Nature materials**, v. 9, n. 7, p. 528–531, 2010.
- KABADAYI CATALKOPRU, A.; KANTARLI, I. C.; YANIK, J. Effects of spent liquor recirculation in hydrothermal carbonization. **Bioresource Technology**, v. 226, p. 89–93, 2017.
- 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, 2015a.
- 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, 2015b.
- KAMBO, H. S.; MINARET, J.; DUTTA, A. Process Water from the Hydrothermal Carbonization of Biomass: A Waste or a Valuable Product? **Waste and Biomass Valorization**, p. 1–9, 2017.
- KAN, T.; STREZOV, V.; EVANS, T. J. Lignocellulosic biomass pyrolysis : A review of product properties and effects of pyrolysis parameters and effects of pyrolysis parameters. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 57, p. 1126–1140, 2015.
- KERN, C. D. et al. Parte II - As Terras Pretas de Índio na Amazônica: Evolução do Conhecimento em Terra Preta de Índio. In: **As Terras Pretas de Índio da Amazônia: Sua caracterização e uso deste conhecimento na criação de novas**

- áreas. [s.l: s.n.]. p. 72–81.
- KUITERS, A. T. Effects of phenolic acids on germination and early growth of herbaceous woodland plants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 15, n. 2, p. 467–479, 1989.
- KUMAR, M.; OLAJIRE OYEDUN, A.; KUMAR, A. A review on the current status of various hydrothermal technologies on biomass feedstock. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 81, n. March, p. 1742–1770, 2018.
- KWIATKOWSKA-MALINA, J. The comparison of the structure of humic acids from soil amended with different sources of organic matter. *Pol. J. Soil Science*. XLVIII/1, p.57–64, 2015a.
- KWIATKOWSKA-MALINA, J. The influence of organic matter on selected chemical and physico-chemical properties of soil. *Pol. J. Soil Science*. XLVIII/2, p.173–180, 2015b.
- LARANJA, M. J. **Identificação de compostos orgânicos semivoláteis e voláteis nos produtos obtidos a partir do processo de carbonização hidrotérmica de bagaço de cana e vinhaça**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2018.
- LEMOS, V. P. et al. Nutrients in Amazonian Black Earth from Caxiuanã Region. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 4, p. 772–779, 2011.
- LI, G. et al. A comparison of the toxicity of landfill leachate exposure at the seed soaking and germination stages on *Zea mays* L. (maize). **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 55, n. 2008, p. 206–213, 2017a.
- LI, M. et al. Predicting potential release of dissolved organic matter from biochars derived from agricultural residues using fluorescence and ultraviolet absorbance. **Journal of Hazardous Materials**, v. 334, p. 86–92, 2017b.
- LIBRA, J. A et al. Hydrothermal carbonization of biomass residuals: a comparative review of the chemistry, processes and applications of wet and dry pyrolysis. **Biofuels**, v. 2, n. 1, p. 71–106, 2011.
- LINHARES, C. R. et al. Reproducing the organic matter model of anthropogenic dark earth of Amazonia and testing the ecotoxicity of functionalized charcoal compounds. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 47, n. 5, p. 693–698, 2012.
- LIPCZYNSKA-KOCHANY, E. Humic substances , their microbial interactions and effects on biological transformations of organic pollutants in water and soil : A review. **Chemosphere**, v. 202, p. 420–437, 2018.

- LIU, Z.; ZHANG, F. S.; WU, J. Characterization and application of chars produced from pinewood pyrolysis and hydrothermal treatment. **Fuel**, v. 89, n. 2, p. 510–514, 2010.
- 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.
- LUA, A. C.; YANG, T. Effect of activation temperature on the textural and chemical properties of potassium hydroxide activated carbon prepared from pistachio-nut shell. **Journal of Colloid and Interface Science**, p. 594-601, 2004.
- LYU, J. et al. Testing the toxicity of metals , phenol , e ffl uents , and receiving waters by root elongation in *Lactuca sativa* L . **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 149, n. October 2017, p. 225–232, 2018.
- MA, L. et al. A review of thermal-chemical conversion of lignocellulosic biomass in China. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 4, p. 859–873, 2012.
- MADARI, B. E. et al. Matéria Orgânica dos Solos Antrópicos da Amazônia (Terra Preta de Índio): Suas Características e Papel na Sustentabilidade da Fertilidade do Solo. **As Terras Pretas de Índio da Amazônia: sua caracterização e uso deste conhecimento na criação de novas áreas**, p. 422, 2003.
- MADHAV, M. R.; DAVID, S. E. M.; KUMAR, R. S. S. et al. Toxicity and accumulation of Copper oxide (CuO) nanoparticles in different life stages of *Artemia salina*. **Environmental Toxicology and Pharmacology** , v. 52, p. 227–238, 2017.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Croop Science**, v. 2, p. 176–177, 1962.
- MARINHO, J. F. U. et al. Sugar cane vinasse in water bodies: Impact assessed by liver histopathology in tilapia. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 110C, p. 239–245, 2014.
- 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**, n. 8, p. 1139–1151, 2016.
- MELO, C. D. A. et al. **Identification of organic compounds in the products obtained from the hydrothermal carbonization of sugarcane bagasse and vinasse**. IUPAC 2017. **Anais...2017a** Disponível em: <<http://www.neopixdmi.com.br/@mci/iupac2017/>>
- MELO, T. M. et al. Effect of biosolid hydrochar on toxicity to earthworms and brine

- shrimp. **Environmental Geochemistry and Health**, p. 1–14, 2017b.
- MELO, T. M. et al. Plant and soil responses to hydrothermally converted sewage sludge (sewchar). **Chemosphere**, v. 206, p. 338–349, 2018.
- MESCONT, C. S. T. M. et al. Distribution and Availability of Copper, Iron, Manganese and Zinc in the Archaeological Black Earth Profile from the Amazon Region. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1484, 2011.
- MEYER, B. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, p.31–34, 1982.
- MIA, S. et al. Biochar application rate affects biological nitrogen fixation in red clover conditional on potassium availability. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 191, p. 83–91, 2014.
- MORAES, B. S.; ZAIAT, M.; BONOMI, A. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil: Challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 44, p. 888–903, 2015.
- MOSSE, K. P. M. et al. Winery wastewater inhibits seed germination and vegetative growth of common crop species. **Journal of Hazardous Materials**, v. 180, n. 1–3, p. 63–70, 2010.
- NEBBIOSO, A.; PICCOLO, A. Basis of a Humeomics Science : Chemical Fractionation and Molecular Characterization of Humic Biosuprastructures. p. 1187–1199, 2011.
- NIELSEN, S. et al. Comparative analysis of the microbial communities in agricultural soil amended with enhanced biochars or traditional fertilisers. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 191, p. 73–82, 2014.
- NIZAMUDDIN, S. et al. An overview of effect of process parameters on hydrothermal carbonization of biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 73, p. 1289–1299, 2017.
- NOVOTNY, E. H. et al. Biochar: Pyrogenic Carbon for Agricultural Use - A Critical Review. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, n.2, v.39, p.321-344, 2015.
- 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.
- OH, T. K. et al. Effect of aqueous extract of biochar on germination and seedling growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of the Faculty of Agriculture**, v. 57, n. 1, p. 55–60, 2012.

- OLIVEIRA, I.; BLÖHSE, D.; RAMKE, H. G. Hydrothermal carbonization of agricultural residues. **Bioresource Technology**, v. 142, p. 138–146, 2013.
- ÖZÇİMEN, D.; ERSOY-MERİÇBOYU, A. Characterization of biochar and bio-oil samples obtained from carbonization of various biomass materials. **Renewable Energy**, v. 35, p. 1319–1324, 2010.
- PAREDES, C. et al. Characterization of olive mill wastewater (alpechin) and its sludge for agricultural purposes. **Bioresource Technology**, v. 67, p. 111–115, 1999.
- PARSHETTI, G. K. et al. Hydrothermal carbonization of sewage sludge for energy production with coal. **Fuel**, v. 111, p. 201–210, 2013.
- PARSHETTI, G. K.; KENT HOEKMAN, S.; BALASUBRAMANIAN, R. Chemical, structural and combustion characteristics of carbonaceous products obtained by hydrothermal carbonization of palm empty fruit bunches. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 683–689, 2013.
- PICCOLO, A. Chapter 5 - Humus and Soil Conservation. **Humic Substances in Terrestrial Ecosystems**, p. 225–264, 1996.
- PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. **Adv. Agron.**, p. 57–134, 2002.
- PIERANTOZZI, P. et al. Physico-chemical and toxicological assessment of liquid wastes from olive processing-related industries. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 2, p. 216–223, 2012.
- PINHO, I. A. et al. Phytotoxicity assessment of olive mill solid wastes and the influence of phenolic compounds. **Chemosphere**, v. 185, p. 258–267, 2017.
- POERSCHMANN, J. et al. Characterization of biocoals and dissolved organic matter phases obtained upon hydrothermal carbonization of brewer's spent grain. **Bioresource Technology**, v. 164, p. 162–169, 2014.
- PRIAC, A.; BADOT, P.-M.; CRINI, G. Treated wastewater phytotoxicity assessment using *Lactuca sativa*: Focus on germination and root elongation test parameters. **Comptes Rendus Biologies**, v. 340, n. 3, p. 188–194, 2017.
- QIAN, K. et al. Recent advances in utilization of biochar. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 42, p. 1055–1064, 2015.
- RASHID, M. A. **Geochemistry of Marine Humic Compounds**. Springer- verlage, Nova Iorque, 1985.
- REIBE, K. et al. Impact of quality and quantity of biochar and hydrochar on soil

- Collembola and growth of spring wheat. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 83, p. 84–87, 2015a.
- REIBE, K. et al. Impact of hydro-/biochars on root morphology of spring wheat. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 61, n. 8, p. 1041–1054, 2015b.
- REZENDE, C. et al. Chemical and morphological characterization of sugarcane bagasse submitted to a delignification process for enhanced enzymatic digestibility. **Biotechnology for Biofuels**, v. 4, n. 1, p. 54, 2011.
- 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, 2010a.
- 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, 2010b.
- ROLIM, M. M. et al. Influência de uma lagoa de distribuição de vinhaça na qualidade da água freática. **Revista Ambiente e Água**, v.8, n.1, 2013.
- ROSS, A. B. et al. Hydrothermal processing of microalgae using alkali and organic acids. **Fuel**, v. 89, p. 2234–2243, 2010.
- SALEM, M. et al. Earthworms can modify effects of hydrochar on growth of *Plantago lanceolata* and performance of arbuscular mycorrhizal fungi. **Pedobiologia**, v. 56, n. 4–6, p. 219–224, 2013.
- SANG, N. et al. Landfill leachate affects metabolic responses of *Zea mays* L. seedlings. **Waste Management**, v. 30, n. 5, p. 856–862, 2010.
- SANTOS, G. A., CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre, Gênese, p.508, 1999.
- SANTOS, H. G. et al. **I - Estudo do Solo. In: Solos Para Todos, Perguntas e Respostas**. 1ª Edição, EMBRAPA, Rio de Janeiro, Brasil, p.11-50, 2014.
- SENESI, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. **Analytica Chimica Acta**, 1990.
- SENESI, N. et al. Characterization, Differentiation and Classification of Humic Substances by Fluorescence Spectroscopy. **Soil Science**, 1991.
- SENESI, N. et al. A comparative survey of recent results on humic-like fractions in organic amendments and effects on native soil humic substances. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, n. 6, p. 1244–1262, 2007.

- SHENG, G. P.; YU, H. Q. Characterization of extracellular polymeric substances of aerobic and anaerobic sludge using three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectroscopy. **Water Research**, p. 1233–1239, 2006.
- 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, P.; MATOS, M. Assessment of the impact of Aluminum on germination, early growth and free proline content in *Lactuca sativa* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 131, p. 151–156, 2016.
- SILVA, M. A S. DA; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático\nUse of stillage and its impact on soil properties and groundwater. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 108–114, 2007.
- SILVA, I.R.; MENDONÇA, E.S. **Matéria orgânica do solo**. In: Fertilidade do solo. SBCS, Viçosa, 2007.
- SONG, X. D. et al. Application of biochar from sewage sludge to plant cultivation: Influence of pyrolysis temperature and biochar-to-soil ratio on yield and heavy metal accumulation. **Chemosphere**, v. 109, p. 213–220, 2014.
- 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**, p. 46–55, 2013.
- SPACCINI, R.; PICCOLO, A. Molecular Characterization of Compost at Increasing Stages of Spectroscopy. **Journal of agricultural and food Chemistry**, v. 55, p. 2303–2311, 2007.
- SPIERTZ, H. Food production, crops and sustainability: restoring confidence in science and technology. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, V.2, P.439-443, 2010.
- 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.
- STEMANN, J.; PUTSCHEW, A.; ZIEGLER, F. Hydrothermal carbonization: Process water characterization and effects of water recirculation. **Bioresource Technology**, v. 143, p. 139–146, 2013.
- STEVENSON, F.J. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**. 2ª Edição, Nova

- Iorque, John Willey, p. 496, 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.
- SUN, X.; LI, Y. Colloidal Carbon Spheres and Their Core/Shell Structures with Noble-Metal Nanoparticles. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 43, n. 5, p. 597–601, 2004.
- 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. **The Science of the total environment**, v. 506–507, p. 234–40, 2015.
- TEKIN, K.; KARAGÖZ, S.; BEKTAŞ, S. A review of hydrothermal biomass processing. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 40, p. 673–687, 2014.
- 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.
- TRIPATHI, M.; SAHU, J. N.; GANESAN, P. Effect of process parameters on production of biochar from biomass waste through pyrolysis: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 55, p. 467–481, 2016.
- UNICA. 2015. União da Indústria de Cana-de-açúcar. UNICADATA. Disponível em: <<http://www.unicadata.com.br>>. Acesso em 29 de abril de 2015.
- UNICA. **Relatório de moagem de cana e produção de açúcar e álcool safra 2017 2018**. Disponível em: <www.unicadata.com.br>. Acesso em: 10 ago. 2018.
- URBANO, V. R. et al. Effects of treated wastewater irrigation on soil properties and lettuce yield. **Agricultural Water Management**, v. 181, p. 108–115, 2017.
- US EPA. Acid Digestion of Aqueous Samples and Extracts for Total Metals for Analysis by FLAA or ICP Spectroscopy. In: **Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods (SW-846)**. [s.l: s.n.]. p. 1–5.
- US EPA. Acid Digestion Of Sediments, Sludges, and Soils. In: **Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods (SW-846)**. [s.l: s.n.]. p. 1–12.
- US EPA, U. S. E. P. A. Method 9045D - Soil and waste pH. n. November, p. 1–5, 2004.
- VACCARI, F. P. et al. Biochar as a strategy to sequester carbon and increase yield in durum wheat. **European Journal of Agronomy**, v. 34, n. 4, p. 231–238, 2011.

- VALE. Vale S. A. Disponível em:
<<http://www.vale.com/PT/business/mining/fertilizers/Paginas/default.aspx>>.
Acesso em 23 de julho de 2015.
- VANE, C. H. et al. Degradation of Lignin in Wheat Straw during Growth of the Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) Using Off-line Thermochemolysis with Tetramethylammonium Hydroxide and Solid-State ¹³ C NMR. p. 2709–2716, 2001.
- VOZHDAYEV, G. V. et al. Response of maize germination and growth to hydrothermal carbonization filtrate type and amount. **Plant and Soil**, v. 396, n. 1–2, p. 127–136, 2015.
- WANG, S. et al. Lignocellulosic biomass pyrolysis mechanism: A state-of-the-art review. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 62, p. 33–86, 2017.
- 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, n. March, p. 223–247, 2018.
- WEINER, B. et al. Influence of Process Water Reuse on Hydrothermal Carbonization of Paper. **Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 2, n. 9, p. 2165–2171, 2014.
- WILLIAMNS, R. D.; HOAGLAND, R. E. The Effects of Naturally Occurring Phenolic Compounds on Seed Germination. **Weed Science**, v. 30, n. 2, p. 206–212, 1982.
- WOLF, J.D. **Soil solution chemistry: applications to environmental science and agriculture**. Nova Iorque: John Wiley, 1994. p. 360
- WU, H.; DONG, X.; LIU, H. Evaluating fluorescent dissolved organic matter released from wetland-plant derived biochar: Effects of extracting solutions. **Chemosphere**, 2018.
- YAMASHITA, Y.; TANOUE, E. Chemical characterization of protein-like fluorophores in DOM in relation to aromatic amino acids. **Marine Chemistry**, p. 255–271, 2003.
- YOSHIMURA, M.; BYRAPPA, K. Hydrothermal processing of materials: Past, present and future. **Journal of Materials Science**, v. 43, n. 7, p. 2085–2103, 2008.
- YOUNG, B. J. et al. Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, n. 1, p. 182–186, 2012.
- ZECH, W.; SENESI, N.; GUGGENBERGER, G.; KAISER, K.; LEHMANN, J.; MIANO, T.M.; MILTNER, A.; SCHROTH, G. Factors controlling humification and

mineralization of soil organic matter in the tropics. **Geoderma**, v. 79, p. 117–161, 1997.

ZHOU, L. et al. Toxic effect of perfluorooctanoic acid (PFOA) on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Chemosphere**, v. 159, p. 420–425, 2016.

ANEXO A – CONDIÇÕES INSTRUMENTAIS PARA ANÁLISE EM FAAS

Tabela 1. Condições instrumentais para determinação de alumínio, cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, manganês, sódio e zinco por espectrometria de absorção atômica com atomização por chama (FAAS).

	Comprimento de onda (nm)	Fenda (nm)	Corrente da lâmpada (mA)	Chama	Fluxo (L min⁻¹)
Al	309,3	0,5	10,0	N ₂ O/Acetileno	10,6/8,6
Ca	239,9	0,2	10,0	N ₂ O/Acetileno	11,0/6,3
Cu	324,8	0,5	4,0	Ar/Acetileno	13,5/2,0
Fe	372,0	0,2	5,0	Ar/Acetileno	13,5/2,0
K	766,5	0,2	-	Ar/Acetileno	13,5/2,0
Mg	202,6	1,0	10,0	Ar/Acetileno	13,5/2,0
Mn	403,1	0,2	5,0	Ar/Acetileno	13,5/2,0
Na	589,0	0,2	-	Ar/Acetileno	13,5/2,0
Zn	213,9	1,0	5,0	Ar/Acetileno	13,5/2,0

ANEXO B – RELAÇÃO DOS COMPOSTOS LIBERADOS POR *THERMOCHEMOLYSIS* PARA AS AMOSTRAS DE ÁCIDO HÚMICO E MATERIAL TIPO-HÚMICO

Tabela 1. Principais compostos identificados por GC-MS liberados pela amostra de ácido húmico Terra Mulata I (AH TMI) após *thermochemolysis*.

Tempo de Retenção	Composto	Íon Molecular
5,11	1H-pyrrole,2-ethyl-4-methyl-	109
5,47	butanedioic acid, dimethyl ester	146
5,81	2',6'-hidhydroxy-3'methylacetophenone	166
6,39	phenol,2-methyl-	108
7,21	2-(2-hydroxyethylamino)pyrimidine	139
7,70	benzene, 1,2-dimethoxy- (Lg G1)	138
8,15	phenol,2-methoxy-3-methyl-	138
9,42	2,4-imidazolidinedione, 1,5,5-trimethyl-	142
9,71	2(1H)-pyridinone,1,6-dimethyl-	123
10,28	1,2-cyclohexanediol,1-methyl-,trans-	130
10,75	Indole,2-methyl-	131
11,01	carbohydrate derivative	nd
11,79	1,2,3-trimethoxybenzene (Lg S1)	168
12,58	N compound	98
12,64	benzoic acid, 3-methoxy-, methyl ester	166
13,49	1,2,3-trimethoxybenzene (Lg S1)	168
13,56	1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-trimethyl-	171
13,66	benzoic acid, 4-methoxy-, methyl ester (Lig P6)	166
13,8	naphthalene,2-ethenyl-	154
13,97	2-propenoic acid, 3-phenyl-,methyl ester (E)-	162
15,01	1h-isoidondole-1,3(2H)-dione,2-methyl-	161
16,66	3,4-di-CH ₃ O benzaldehyde (Lg G4)	166
17,10	ethanone,1-3(hydroxy-4methoxyphenyl)-	166
17,38	1H-indole-2,3-dione,1-methyl-,3-hydrazone	175
17,52	phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)-	206
17,66	dibenzofuran	168
17,87	dodecanoic acid, methyl ester	214
19,50	fluorene	166
19,74	Benzoic acid, 3,4-di-CH ₃ O ME (Lg G6)	196
22,94	9H-purin-6-amine,N,N,9-trimethyl-	177
23,14	3,4,5-tri-CH ₃ O benzoic acid ME (Lg S6)	226
23,39	methyl tetradecanoate	242
24,59	cis-1-(3,4,5-tri-CH ₃ O phenyl-2-CH ₃ O ethylene (Lg S7)	224
24,78	anthracene	178
25,06	C15 iso FAME Mic	256

25,24	C15 anteiso FAME Mic	256
26,80	1,2-benzenedicarboxylic acid,bis(2-methylpropyl) ester	278
27,46	trans-3-(3,4-Di-CH ₃ O phenyl)-3-propenoic acid ME (Lg G18)	222
27,61	C16 iso FAME Mic-PFLA	270
27,73	trans-3-(3,4,5-Tri-CH ₃ O) phenyl-3-propenoic acid ME (Lg S18)	252
27,95	C16:1 FAME	268
28,53	hexadecanoic acid, methyl ester	270
30,05	methyl 15-methylhexadecanoate (C17 isso FAME Mic)	284
30,18	isoheptadecanol	216
30,35	C10 alkane	282
32,6	C18:1 FAME Mic	296
32,73	C18:1 FAME	296
33,25	octadecanoic acid, methyl ester	298
34,89	C22 alkane	310
36,69	C16,8(9,10)-16 di-CH ₃ O, FAME	330
36,92	8-heptadecene	nd
37,02	C23 alkane	324
37,58	ecosanoic acid, methyl ester	326
39,08	C24 alkane	338
39,65	C18:1 dioic acid DIME	340
42,97	alkane	nd
43,51	C21, 21-CH ₃ O FAME	368
44,8	alkane	nd
45,34	tetracosanoic acid, methyl ester	382
45,86	alkane	nd
46,57	alkane	nd
47,10	C26-Ome	396
47,35	C24,2-CH ₃ O,FAME Mic	412
48,29	alkane	307
48,81	hexacosanoic acid, methyl ester (C26 FAME)	410
49,95	alkane	nd
50,45	C28-CH ₃ O	424
51,56	alkane	nd
52,07	Octacosanoic acid, methyl ester (C28 FAME)	438
52,55	alkane	nd
53,13	Alkane	nd
53,61	C30-CH ₃ O	452
54,66	alkane	nd
56,14	alkane	nd
57,79	alkane	nd

FAME – fatty acid methyl ester; Mic – microbial; Lig – lignin; ME – methyl ester; DIME – dimethyl ester; CH₃O – methoxy; nd – não identificado.

Tabela 2. Principais compostos identificados por GC-MS liberados pela amostra de ácido húmico Terra Mulata II (AH TMII) após *thermochemolysis*.

Tempo de Retenção	Composto	Íon Molecular
5,34	benzene, 1-methoxy-4-methyl- (Lg P2)	122
5,49	butanedioic acid, dimethyl ester	146
5,65	pyrrolidine,2-dodecyl-1-methyl-	253
5,82	2',4'-dihydroxy-3'-methylacetophenone	166
6,52	phenol,3-methyl-	108
7,71	1,2-Di-CH ₃ O benzene (Lg G1)	138
7,96	Benzene,1-ethenyl-4-CH ₃ O (Lg P3)	134
10,77	indolizine,2-methyl-	131
11,83	1,2,4-trimethoxybenzene	168
12,71	N compound	98
13,52	1,2,3-Tri-CH ₃ O benzene (Lg S1)	168
13,7	benzoic acid, 3-methoxy-,methyl ester	166
13,97	2-propenoic acid, 3-phenyl-,methyl ester (E)-	162
15,06	1H-Isoindole-1,3-dione,2-methyl-	161
15,58	4-CH ₃ O-1-methylindole	161
15,86	1,4(1H,3H)-pyrimidinedione, 1,3,5-trimethyl-	154
16,32	2-pyridinemethanol,5-ethoxy-	153
17,22	benzene, 1-ethoxy-2-methoxy-4-methyl	166
17,45	1H-indole-2,3-dione,1-methyl-,3-hydrazone	175
19,06	ethanone,1-(3,4-dimethoxyphenyl)- (Lg G5)	180
19,86	benzoic acid, 3,4-di-CH ₃ O ME (Lg G6)	196
20,18	N compound	98
20,68	3-(3,4-dimethoxyphenyl)-propionic acid	210
21,32	cis-1-(3,4-Di-CH ₃ O phenyl)-1-CH ₃ O-1-propene (Lg G11)	208
22,08	trans-3-(4-HH ₃ O phenyl)-3-propenoic acid ME (Lg P18)	192
23,22	3,4,5-tri-CH ₃ O benzoic acid ME (Lg S6)	226
23,41	C14 FAME	242
25,08	C15 iso FAME Mic	256
25,27	C15 anteiso FAME Mic	256
26,03	pentadecanoic acid, methyl ester	256
27,44	trans-3-(3,4-Di-CH ₃ O phenyl)-3-propenoic acid ME (Lg G18)	222
27,62	C16 iso FAME Mic	270
27,92	alkane	nd
28,59	C16 FAME	270
29,58	C17 insaturated	284
30,07	C17 iso FAME Mic	284
30,27	C17 insaturated	284
30,37	C20 Alkane	282
30,95	heptadecanoic acid, methyl ester	284
31,02	C18 iso FAME Mic	298
32,62	C18:1 FAME Mic	296

32,67	C21 alkane	296
32,76	C18:1 FAME	296
33,31	octadecanoic acid, methyl ester	298
34,12	C19 iso FAME	312
34,2	C19:1	312
34,91	plant alkane	310
35,14	cy C19 FAME Mic	310
36,01	C16 dioic acid DIME	314
36,91	1-eicosene	nd
37,04	C23 alkane	324
37,61	C20 FAME	326
39,09	C24 alkane	338
39,5	C18:1 dioic acid DIME	340
39,65	C18:1 dioic acid DIME	340
40,14	C18 dioic acid DIME	342
41,07	C25 alkane	352
42,99	C24 alkane	366
43,53	tricosanoic acid, methyl ester	368
44,00	C20 dioic acid DIME	370
44,82	C27 alkane	380
45,37	tetracosanoic acid, methyl ester	382
45,84	C24,24-CH ₃ O FAME	352
46,5	alkene	390
46,59	C28 alkane	394
47,11	pentacosanoic acid, methyl ester	396
47,34	C24,2-CH ₃ O, FAME Mic	412
47,59	C22 dioic acid DIME	398
48,3	C29 Alkane	408
48,85	C26 FAME	410
49,3	C24, 24-CH ₃ O, FAME	412
49,97	C30 alkane	422
50,48	C27 iso FAME	424
51,58	C31 alkane	436
52,11	C28 FAME	438
52,82	2-(α) hydroxy acid	452
53,13	C32 alkane	450
53,65	C29 FAME	452
54,66	C33 alkane	464
55,21	C30 FAME	466
56,14	Alkane	nd
56,69	C31 iso FAME	480
57,79	alkane	nd
58,46	C32 iso FAME	494

FAME – fatty acid methyl ester; Mic – microbial; Lig – lignin; ME – methyl ester; DIME – dimethyl ester; CH₃O – methoxy; nd – não identificado.

Tabela 3. Principais compostos identificados por GC-MS liberados pela amostra de ácido húmico Terra Mulata III (AH TMIII) após *thermochemolysis*.

Tempo de Retenção	Composto	Íon Molecular
5,46	butanedioic acid, dimethyl ester	146
6,9	methoxy pyridine	109
7,21	phenol, 3-methyl	108
7,71	benzene, 1,2-dimethoxy- (Lg G1)	138
8,54	phenol, 2,5-dimethyl-	122
9,53	2,4-imidazolidinedione,1,5,5-trimethyl-	142
11,41	dibutyl(3-nonyl-1-yl)amine	251
11,82	1,2,3-tri-CH ₃ O benzene (Lg S1)	168
12,67	benzoic acid,3-methoxy-,methyl ester	166
12,73	N-compound	157
13,54	1,2,4-trimethoxybenzene	168
13,71	1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-trimethyl-	171
13,99	2-propenoic acid,3-phenyl-methyl ester, (E)-	162
14,4	2,3,4,4A,8,8A-hexahydro-pyrano(3,2-B)Pyran	140
15,12	1H-Isoindole-1,3-dione,2-methyl-	161
15,43	2H-indol-2-one,1,3-dihydro-1-methyl-	147
15,56	1,2,3,4-tetramethoxybenzene	198
15,87	2,4(1H,3H)-pyrimidinedione,1,3,5-trimethyl-	154
17,48	1H-indole-2,3-dione,1-methyl-,3-hydrazone	175
17,55	benzene-1,4-dicarboxylic acid,monohydrazine,methyl ester	194
17,68	phenol,2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	206
18,58	1h-indole-2,3-dione,1-methyl-,3-hydrazone	175
19,06	ethanone,1-(3,4-dimethoxyphenyl)- (Lg G5)	180
19,85	benzoic acid, 3,4-di-CH ₃ O ME (Lg G6)	196
22,07	trans-3-(4-HH ₃ O phenyl)-3-propenoic acid ME (Lg P18)	192
22,74	1-propanone,2,2-dimethyl-1-(2'-methylaminophenyl)-	191
23,05	9H-purin-6-amine,N,N,9-trimethyl	177
23,21	benzoic acid, 3,4,5-trimethoxy-,methyl ester (Lg S6)	226
23,41	C14 FAME	242
23,59	N-(P-Vinylbenzoyl)-L-alanine	219
25,07	methyl 9-methyltetradecanoate	256
25,27	C15 anteiso FAME Mic	256
26,01	pentadecanoic acid, methyl ester	256
26,17	1,2,4-benzenetricarboxylic acid, trimethyl ester	252
26,84	1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	278
27,43	trans-3-(3,4-Di-CH ₃ O phenyl)-3-propenoic acid ME (Lg G18)	222
27,62	C16 iso FAME Mic	270
28,57	C16 FAME	270
29,57	C17 branched	284
30,07	C17 branched	284
30,25	C17 branched	284

30,53	perimidine,2-ethyl-	196
30,57	2-propenoic acid,3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-,methyl ester (Lg S18)	252
30,94	heptadecanoic acid, methyl ester	284
31,00	C18 isso FAME Mic	298
32,16	3,5-diethyl-4-phenylpyridine	211
32,61	C18:1 FAME Mic	296
32,74	C18:1 FAME	297
33,26	C18 FAME	298
35,11	cy C19 FAME Mic	310
37,58	C20 FAME	326
38,97	C 24 alkene	336
39,08	C24 alkane	338
39,62	heneicosanoic acid, mehtyl ester	340
41,05	C25 Alkano	352
42,96	alkene	nd
43,5	tricosanoic acid, methyl ester	368
43,75	C22, 2-CH ₃ O, FAME Mic	384
44,8	C27 Alkane	380
45,34	C24 FAME	382
45,84	C24,24-CH ₃ O FAME	352
45,99	alkene	nd
46,47	alkene	nd
46,57	C28 alkane	394
47,1	C26-Ome	396
47,35	C24,2-CH ₃ O, FAME Mic	412
47,58	C29:1 alkene	406
48,29	C29 alkane	408
48,81	C26 FAME	410
49,03	C25,2-CH ₃ O,FAME Mic	426
49,29	ω-hydroxy acid	397
49,95	alkene	nd
50,46	C28-CH ₃ O	424
50,68	C26,2-CH ₃ O	440
51,57	alkane/alkene	nd
52,08	C28 FAME	438
52,22	C26,2-CH ₃ O,FAME Mic	438
52,65	phytosterol (tetracyclcic)	426
53,14	C32 alkane	450
53,61	phytosterol (tetracyclcic)	428
54,66	C33 alkane	464
55,17	C30 FAME	466
56,14	C34 alkane	478

FAME – fatty acid methyl ester; Mic – microbial; Lig – lignin; ME – methyl ester; CH₃O – methoxy; nd – não identificado.

Tabela 4. Principais compostos identificados por GC-MS liberados pela amostra de material tipo-húmico (MTH) após *thermochemolysis*.

Retention Time	Compound	Molecular Ion
5,35	Benzene,1-methoxy-4-methyl (Lg P2)	122
5,48	butanedioic acid, dimethyl ester	146
6,01	phenol, 2-methyl-	108
6,07	butanedioic acid, methyl-,dimehtyl ester	129
6,21	1H-Pyrrole,4-ethyl-2,3-dimethyl-	123
6,37	Benzene,1-ehtenyl-4-CH ₃ O (Lg P3)	134
6,49	phenol,4-methyl-	108
6,74	alkane	156
6,93	2,3-dimethylanisole	136
7,01	phenol, 2,3-dimethyl-	122
7,08	benzene,1-ethyl-4methoxy-	136
7,35	phenol,4-(ethylamino)	137
7,48	pentanedioic acid, dimehtyl ester	160
7,69	benzene,1,2-dimethoxy- (Lg G1)	138
7,91	phenol,2,4-dimethyl	122
7,95	benzene,1-ethenyl-3-CH ₃ O	134
8,15	benzene,1,4-dimethoxy-	138
8,34	phenol, 2-ethyl	122
8,41	benzene,1-ethoxy-4-ethyl-	150
8,73	naphthalene	128
8,9	phenol,2-methyl-5-(1-methylethyl)-	150
8,98	C12 alkane	170
9,19	phenol, 2,4,6-trymethyl-	136
9,64	2,5-cyclohexadien-1-one,4-ethyl-3,4-dimethyl-	150
9,78	3,4-dimethylbenzyl alcohol	136
9,9	2,6-dimethoxytoluene	152
10,03	phenol,2-ethyl-4-methyl-	136
10,14	phenol,2-methyl-6-(2-propenyl)-	148
10,2	benzeneethanol,3-methoxy-	152
10,4	naphthalene,1,2-dihydro-4-methyl-	144
10,53	1H-indene,2,3-dimethyl-	144
10,67	1H-indene,1,3-dimethyl	144
10,76	naphtha, 1,2-dihydro-4-methyl-	144
10,88	2,5-dimethylanisole	164
10,95	phenol, 2,4,6-trimethyl-	136
11,28	anisole,P-allyl-	148
11,35	FAME com dupla ligação	nd
11,53	naphthalene,2-methyl-	142
11,57	C13 alkane	184
11,79	1,2,3-Tri-CH ₃ O benzene (Lg S1)	168
11,93	naphthalene,1-methyl-	142

12,11	benzene,4-ethyl-1,2-dimethoxy (Lig G)	166
12,19	C10 FAME	186
12,54	benzoic acid,2-methoxy-,methyl ester	166
12,64	benzoic acid,3-methoxy-,methyl ester	166
13,09	acetophenone, 4'-methoxy-	150
13,38	benzene,4-ethenyl-1,2-dimethoxy- (Lig G3)	164
13,48	1,2,3-trimethoxybenzene (Lg S1)	168
13,65	benzoic acid,4-CH3O, ME (Lig P6)	166
14,13	C14 alkene	196
14,38	C14 Alkane	198
14,91	naphthalene,1,5-dimethyl-	156
15,02	naphthalene,1,3-dimethyl-	156
15,27	4-(P-methoxyphenyl)-1-butanol	180
15,6	dimethyl phthalate	194
15,86	1-propanone,1-(4-methoxyphenyl)-	164
16,13	3-(2-methoxy-5-methylphenyl)propanoic acid	194
17,22	C15 Alkane	212
17,46	phenol,2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	206
17,86	C12 FAME	214
17,98	benzenepropanoic acid,4-methoxy-,methyl ester	194
18,98	ethanone,1-(3,4-dimethoxyphenyl)- (Lg G5)	180
19,72	benzoic acid,3,4-dimethoxy-,methylester (Lg G6)	196
20,04	C16 Alkane	226
20,63	3-(3,4-dimethoxyphenyl)-propionic acid	210
22,00	ethanone,1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-	210
22,06	2-propenoic acid,3-(4-methoxyphenyl)-,methyl ester, (E)-	192
22,78	C17 alkane	240
23,14	3,4,5-Tri-CH3O benzoic acid ME (Lg S6)	226
23,39	C14 FAME	242
23,89	benzoic acid,4-hydroxy-2-methoxy-3,5,6-trimethyl-,methyl ester	224
24,42	anthracene,1,2,3,4-tetrahydro-9-propyl-	224
25,4	C18 alkane	254
26,01	C15-n FAME	256
26,59	dodecanedioic acid, dimehtyl ester	227
27,61	C16 iso FAME	270
27,95	C19 Alkane	268
28,67	C16 FAME	270
30,37	C20 alkane	282
30,94	C17 FAME	284
31,48	dimethyl tetradecanedioate	286
32,46	C21 alkene	294
32,63	9-octadecenoic acid, methyl ester, (E)-	296
32,78	C18:1 FAME	296
33,34	C18 FAME	298

34,91	C22 alkane	310
35,47	nonadecanoic acid, methyl ester	312
35,84	2-(α) hydroxy acid	268
35,98	hexadecanedioic acid, dimethyl ester	283
37,03	C23 Alkane	324
37,64	C20 FAME	326
39,09	C24 alkane	338
39,65	heneicosanoic acid, methyl ester	340
39,99	2-(α) hydroxy acid	297
41,06	C25 alkane	352
41,67	C22 FAME	354
42,98	alkane/alkene	382
43,56	tricosanoic acid, methyl ester	368
43,82	2-(α) hydroxy acid	384
44,83	C27 Alkane	380
45,41	C24 FAME	382
45,62	2-(α) hydroxy acid	398
46,61	C28 Alkane	394
47,16	C26-OMe	396
47,44	C24,2-CH ₃ O FAME	412
48,33	alkane/alkene	408
48,89	C26 FAME	410
49,1	C25,2-CH ₃ O FAME	426
49,35	ω - hydroxy acid	412
49,63	cholesta-5,20,24-trien-3-ol,(3,beta)-	382
50,15	ergosta-5,24(28)-dien-3-ol, (3,beta)-	398
50,6	C28-CH ₃ O	424
50,74	C26,2-CH ₃ O	440
51,61	alkane, alkene	nd
52,19	C28 FAME	438
52,76	cholesta-4,21,24-triene,3,5-dimethoxy-	426
53,69	alkane, alkene	452
54,67	C33 Alkane	464
55,19	C30 FAME	466
56,15	alkene	nd
57,78	alkane/alkene	nd
58,44	C32 FAME	494

FAME – fatty acid methyl ester; Mic – microbial; Lig – lignin; ME – methyl ester; CH₃O – methoxy; nd – não identificado.

Autorizo a reprodução xerográfica para fins de pesquisa.

São José do Rio Preto, ____/____/____.

Assinatura