

André Gustavo Ribeiro Mendonça

“Turfa: interações com espécies metálicas e estudo de parâmetros que influenciam na utilização em setores agrícolas”

Tese apresentada ao Instituto de Química de Araraquara-UNESP como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Julio Cesar Rocha

Araraquara – SP

- 2010 -

FICHA CATALOGRÁFICA

M539t Mendonça, André Gustavo Ribeiro  
Turfa: interações com espécies metálicas e estudo de parâmetros que influenciam na utilização em setores agrícolas / André Gustavo Ribeiro Mendonça. – Araraquara : [s.n], 2010  
120 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química  
Orientador: Julio Cesar Rocha

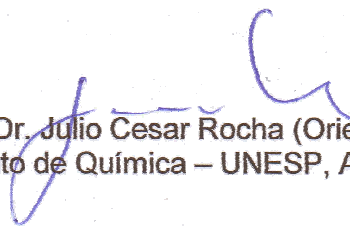
1. Química ambiental. 2. Substâncias húmicas. 3. Metais. 4. *Zea mays* L.  
5. *Raphanus sativus* L. I. Título.

ANDRÉ GUSTAVO RIBEIRO MENDONÇA

Tese apresentada ao Instituto de Química,  
Universidade Estadual Paulista, como parte  
dos requisitos para obtenção do título de  
Doutor em Química.


Araraquara, 29 de janeiro de 2010.

BANCA EXAMINADORA

  
Prof. Dr. Julio Cesar Rocha (Orientador)  
Instituto de Química – UNESP, Araraquara

  
Prof. Dr. Nilso Barelli  
Instituto de Química – UNESP, Araraquara

  
Profª Drª Maria Olimpia de Oliveira Rezende  
Instituto de Química – USP, Carlos

  
Prof. Dr. Homero Marques Gomes  
Faculdade de Ciências e Tecnologia – UNESP, Presidente Prudente

  
Prof. Dr. Andrea Cavicchioli  
Escola de Artes, Ciências e Humanidades – USP, São Paulo

A Deus dedico este trabalho e toda minha vida!

Obrigado por Vossa imensa sabedoria e pelos dons confiados

Sou imensamente grato por conhecer e sentir Sua divina presença...

Ao Prof. Dr. Julio Cesar Rocha por me ensinar muito mais do que ciência:

você será sempre meu Mestre e espero colocar

em prática os seus relevantes ensinamentos da vida!

Obrigado pela confiança e orientação em todos esses anos

de trabalho e pela amizade nesse nosso convívio...

Aos meus pais: Luiz e Terezinha  
que sempre acreditaram (demais!) nos meus sonhos  
e me apoiaram incondicionalmente nessa caminhada...

Meus irmãos: Luiz Flávio, Fabrício, Leonardo e Mariana  
muito obrigado por tudo que vocês fizeram,  
pelo carinho e por ajudarem a fazer com que a  
distância entre nós fosse sempre minimizada...

À minha cunhada Janaína  
pelo constante incentivo e amizade  
e aos meus sobrinhos Maria Eduarda e Guilherme

AMO VOCÊS!

## AGRADECIMENTOS

Aos meus grandes e eternos amigos Lú e Wander: muito obrigado pela convivência, companheirismo, cumplicidade, paciência e por compartilharem muitas outras coisas! Vocês fizeram com que este trabalho fosse bem mais fácil e agradável... muita luz para todos nós...

Ao Ademir por ter contribuído fortemente na minha formação e pela amizade ao longo desses anos! Obrigado pela colaboração nas idéias e discussões neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Alessandro Piccolo e aos amigos da Università di Napoli – Federico II: Riccardo, Barbara, Pierluigi, Dancă, Donato, Antonio, Marianna, Fabio, Diana, Francesca, Cinzia e Petra. Obrigado pela incrível experiência!! Io non vi dimenticherò mai... grazie mille amici e in bocca al lupo a tutti noi!!

Ao Prof. Dr. Edson L. M. Coutinho e aos amigos da Faculdade de Agronomia da UNESP – Jaboticabal (Claudinha e Valdeci) por acreditarem no potencial de um químico!

Aos queridos amigos do Grupo de Química Analítica Ambiental: Raquel, Natália, Vinícius, Eurípedes, Vanessa, Ednaldo, Fernando, Adriana, Luciane, Heliandro, Ricardo, Iramaia, Felipe, Leandro, Fernanda... vocês me ensinaram muitas coisas.

Ao Ricardo e ao Robson por estarem sempre dispostos e prestativos!

Fernando Cotinguiba e Antonio Carlos Moro: vocês representam muito para mim. Obrigado pela grande amizade e companheirismo e também pela paciência. Nesses

anos vocês me ajudaram a compreender um pouco mais sobre a arte da convivência humana!

Aos amigos que fiz durante a graduação: Daniel, July, Lú, Chico, Sugera, Marcão X., Marcão F., Japonêis, Josi, Amadeu, Lidervan, Patrícia Dametto, Paty Bento, Elaine, Mateus, Tati, Vinicius...

Aos grandes amigos de Franca (SP) que sempre compartilharam minhas alegrias e tristezas e também sempre estiveram juntos nos meus sonhos e anseios. Anderson, Rosemeire, Paulo, Poliana, Taís, Renilso, Douglas, Reginaldo, Ricardo, Vanda, Mano, Héber, Bruno R.: obrigado por fazerem parte da minha história!

Aos professores do IQ – UNESP pelos ensinamentos, ajuda e paciência.

A todos funcionários do IQ, os quais são sempre solícitos e em especial àqueles mais próximos dessa fase de minha vida: Seção de Pós-Graduação e Biblioteca.

Marcelo Dias, Nilce e Isabelle: amigos que conquistei nesses últimos anos e quero continuar aprendendo sempre com vocês. Namastê!

Aos membros da banca examinadora (da defesa e da qualificação), os quais aceitaram contribuir para a melhoria deste trabalho.

A todos aqueles que não foram diretamente citados nesse texto, mas sabem que foram ou são importantes para mim. Muito obrigado mesmo.

Às agências de fomento FAPESP (04/13980-4), CNPq e FUNDUNESP pelos auxílios financeiros indispensáveis para o desenvolvimento dos nossos projetos e também aos assessores pelas relevantes contribuições.

# CURRICULUM VITAE

## 1. DADOS PESSOAIS

Nome: André Gustavo Ribeiro Mendonça  
Data de nascimento: 04/03/1981  
Nacionalidade: Brasileira  
Naturalidade: Franca-SP  
Estado civil: Solteiro  
Filiação: Luiz Gonzaga Mendonça e Terezinha G R Mendonça  
e-mail: andregrm@gmail.com

## 2. FORMAÇÃO ACADÊMICA

### 2.1 *Licenciado em Química (02/2000-12/2004)*

Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP), Araraquara-SP.

Bolsista: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP

## 3. ATIVIDADES CIENTÍFICAS

### 3.1 *Capítulos de livros publicados*

3.1.1 ROCHA, J. C., OLIVEIRA, L. C., BOTERO, W. G., SERUDO, R. L., MENDONÇA, A. G. R., SANTOS, A., CARVALHO NETO, F.S. Distribution of mercury in Different Soils in Amazonia’s Mid-Rio Negro Basin: Influence of Organic Matter on the Biogeochemical Cycle of Mercury. In: Humic Substances - Linking Structures to Functions. ed. Karlsruhe: Grafik Design Anne Kup, 2006, v.II, p. 813-816.

### 3.2 *Trabalhos publicados em periódicos científicos*

3.2.1 SANTOS, A.; OLIVEIRA, L.C.; BOTERO, W.G.; MENDONÇA, A.G.R.; SANTOS, F.A.; ROCHA, J.C.; RIBEIRO, M.L.; OLIVEIRA, A.S. Distribuição e Biodisponibilidade de cromo em solos contaminados por resíduos de couro. *Química Nova*, v. 32, p. 1693-1697, 2009.

3.2.2 ROMAO, L.P.C., LEAD, J.R., ROCHA, J.C., OLIVEIRA, L.C., ROSA, A.H., MENDONÇA, A.G.R., RIBEIRO, A.S. Structure and properties of Brazilian peat: analysis by spectroscopy and microscopy. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.18, p.714 - 720, 2007.

3.2.3 SANTOS, A.; BOTERO, W.G.; OLIVEIRA, L.C.; BELLIN, I.C.; ROCHA, J.C.; MENDONÇA, A.G.R. Interaction between humic substances and metallic ions: a study of the selectivity of humic substances and their possible therapeutic application. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 18, p.824-830, 2007.

3.2.4 OLIVEIRA, L.C.; SERUDO, R.L.; ROCHA, J.C.; MENDONÇA, A.G.R.; BOTERO, W.G.; CARVALHO NETO, F.S.; SANTOS, A. Distribuição de mercúrio em diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM: Influência da matéria orgânica no ciclo biogeoquímico do mercúrio. *Química Nova*, v. 30, p.274-280, 2007.

### 3.3 *Comunicações apresentadas em congressos internacionais*

3.3.1 ROSA, A. H., SANTOS, A., BOTERO, W. G., CARVALHO NETO, F. S., MENDONÇA, A. G. R. Interactions between Mercury and Soils from Rio Negro (Amazonas State, Brazil) In: *XII European Conference on Analytical Chemistry – Euroanalysis*, Dortmund, 2002.

3.3.2 BOTERO, W. G., BELLIN, I.C., MENDONÇA, A. G. R., SANTOS, A., ROSA, A. H., SERUDO, R.L., ROCHA, J. C. Interações entre espécies metálicas e substâncias húmicas de solos da micro bacia de drenagem do reservatório Anhumas, Araraquara-SP In: *XXVI Congresso Latinoamericano de Química e 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Salvador-BA, 2004.

### 3.4 Comunicações apresentadas em congressos nacionais

3.4.1 ROMAO, L. P. C., CASTRO, G. R., ROSA, A. H., ROCHA, J. C., MENDONÇA, A. G. R., ARAUJO, A. B. Comparação entre os métodos de ultrafiltração e de eletrodo íon seletivo na determinação da capacidade de complexação de substâncias húmicas aquáticas. In: *25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas-MG, 2002.*

3.4.2 MENDONÇA, A. G. R., ROMAO, L. P. C., CASTRO, G. R., BELLIN, I. C., ROSA, A. H., ROCHA, J. C. Determinação das constantes de troca entre íons Cu(II) e Ni, Al e Fe originalmente complexados por substâncias húmicas In: *V Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, Curitiba, 2003.*

3.4.3 OLIVEIRA, L. C., MENDONÇA, A. G. R., ROSA, A. H., ROCHA, J. C. Distribuição e caracterização elementar de substâncias húmicas em diferentes tipos e perfis de solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM In: *26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química-SBQ, Poços de Caldas, 2003.*

3.4.4 BELLIN, I. C., MENDONÇA, A. G. R., BOTERO, W. G., SARGENTINI JR., ÉZIO, SANTOS, A., ROSA, A. H. Determinação de constantes de troca entre íons Hg(II) e espécies metálicas originalmente complexadas por substâncias húmicas In: *28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química-SBQ, Poços de Caldas-MG, 2005.*

3.4.5 MENDONÇA, A. G. R., OLIVEIRA, L. C., RIBEIRO, C. A., ROSA, A. H., AMARAL, G. C. A., SANTOS, A., ROCHA, J. C. Aplicação da termogravimetria nos estudos cinéticos de substâncias húmicas extraídas de amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro - AM. In: *VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, Rio de Janeiro – RJ, 2005.*

3.4.6 BOTERO, W. G., MENDONÇA, A. G. R., OLIVEIRA, L. C., SANTOS, A., ROCHA, J. C. Estudos de troca entre metais potencialmente tóxicos e substâncias húmicas enriquecidas com macronutrientes In: *29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química SBQ, Águas de Lindoia –SP, 2006.*

3.4.7 OLIVEIRA, L. C., BOTERO, W. G., MENDONÇA, A. G. R., SANTOS, A., CARVALHO NETO, F. S., SERUDO, R.L. Distribuição de Mercurio em diferentes solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM: Influência da matéria orgânica no ciclo biogeoquímico do mercúrio In: *III Encontro Nacional de Química Ambiental*, Cabo Frio-RJ, 2006.

3.4.8 SANTOS, F. A., OLIVEIRA, L.C., SARGENTINI JR., É., BOTERO, W. G., SANTOS, A., ROCHA, J. C., ROSA, A. H., MENDONÇA, A. G. R. Substâncias húmicas aquáticas do Rio Negro-AM: Influência da sazonalidade na capacidade de complexação por íons Hg(II) In: *30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química SBQ*, Águas de Lindóia-SP, 2007.

3.4.9 SILVA, H. C., BOTERO, W. G., OLIVEIRA, L. C., MENDONÇA, A. G. R., ROCHA, J. C. Fracionamento de substâncias húmicas extraídas de amostras de solos da região do Rio Araca (AM-Brasil) In: *VII Encontro Brasileiro de substâncias húmicas - VII EBSH*, Florianópolis –SC, 2007.

3.4.10 MENDONÇA, A. G. R., SANTOS, F. A., OLIVEIRA, L. C., BOTERO, W. G., ROCHA, J. C. Estudos de troca entre íons Mg(II) e espécies metálicas originalmente complexadas as substâncias húmicas In: *VII Encontro Brasileiro de substâncias húmicas - VII EBSH*, Florianópolis-SC, 2007.

3.4.11 SANTOS, A., OLIVEIRA, L. C., RIBEIRO, M. L., ROCHA, J. C., BOTERO, W. G., MENDONÇA, A. G. R., SANTOS, F. A. Distribuição e biodisponibilidade de crômio em solos contaminados por resíduos de couro In: *VII Encontro Brasileiro de substâncias húmicas - VII EBSH*, Florianópolis-SC, 2007.

3.4.12 MENDONÇA, A. G. R., OLIVEIRA, L. C., BOTERO, W. G., SANTOS, A., ROCHA, J. C. Distribuição de espécies metálicas em amostras de solos coletados na Bacia do Médio Rio Negro-AM In: *30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química SBQ*, Águas de Lindóia-SP, 2007.

3.4.13 BOTERO, W. G., OLIVEIRA, L.C., MENDONÇA, A. G. R., SANTOS, A., ROCHA, J. C. Capacidade de complexação de substâncias húmicas extraídas de lodos de estações de tratamento de água In: *VII Encontro Brasileiro de substâncias húmicas - EBSH*, Florianópolis-SC, 2007.

3.4.14 MENDONÇA, A., ROCHA, J. C., SANTOS, F. A., OLIVEIRA, L. C., BOTERO, W. G. Estudos de troca entre íons Mg (II) e espécies metálicas originalmente complexadas às substâncias húmicas In: *31 Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia-SP*, 2008.

3.4.15 OLIVEIRA, L. C., ROCHA, J. C., BOTERO, W. G., SILVA, H. C., MENDONÇA, A. G. R., SANTOS, A. Capacidade complexante de substâncias húmicas aquáticas por íons mercúrio: influência do teor de carbono orgânico total. In: *IV Encontro Nacional de Química Ambiental, Aracajú-SE*, 2008.

3.4.16 BOTERO, W. G., OLIVEIRA, L. C., MENDONÇA, A. G. R., SANTOS, A., ROCHA, J. C., GOMES, V. M. Otimização de extração em fluxo contínuo de substâncias húmicas de amostras de turfa para fins comerciais. In: *32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química SBQ, Fortaleza-CE*, 2009.

3.4.17 OLIVEIRA, L. C., BOTERO, W. G., SANTOS, A., ROCHA, J. C., MENDONÇA, A. G. R. Substâncias húmicas de turfas enriquecidas com metais essenciais: competição entre espécies metálicas para aplicação agrícola. In: *32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química SBQ, Fortaleza-CE*, 2009.

3.4.18 MENDONÇA, A. G. R., BOTERO, W. G., OLIVEIRA, L. C., ROCHA, J. C., SANTOS, A., PICCOLO, A. Cromatografia por exclusão de tamanho na caracterização de substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa. In: *32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química SBQ, Fortaleza-CE*, 2009.

### 3.5 Comunicações apresentadas em congressos regionais

3.5.1 MENDONÇA, A. G. R., ROCHA, J. C., BOTERO, W. G., SANTOS, A., ROSA, A. H. Caracterização estrutural de substâncias húmicas de turfa coletada na região do Rio Mogi-SP. In: *XIV Congresso de Iniciação Científica da UNESP*, Bauru-SP, 2002.

3.5.2 BOTERO, W. G., ROCHA, J. C., MENDONÇA, A. G. R., ROSA, A. H., BARELLI, N. Análise granulométrica de solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM. In: *XIV Congresso de Iniciação Científica da UNESP*, Bauru-SP, 2002.

3.5.3 BOTERO, W. G., ROCHA, J. C., ROSA, A. H., MENDONÇA, A. G. R., BARELLI, N. Análise Granulométrica de solos da Bacia do Médio Rio Negro-AM. In: *XXXII SEMANA DA QUÍMICA*, Araraquara-SP, 2002.

3.5.4 BOTERO, W. G., ROCHA, J. C., ROSA, A. H., MENDONÇA, A. G. R. Caracterização espectroscópica de substâncias húmicas extraídas de diferentes solos coletados na Bacia do Médio Rio Negro, Amazônia In: *XXXIII Semana da Química "Ernesto Gasparetto Junior"*, Araraquara-SP, 2003.

3.5.5 BOTERO, W. G., ROCHA, J. C., ROSA, A. H., MENDONÇA, A. G. R. Caracterização espectroscópica de substâncias húmicas extraídas de diferentes solos coletados na Bacia do Médio Rio Negro, Amazônia In: *XV Congresso de Iniciação Científica da UNESP*, Marília-SP, 2003.

3.5.6 BOTERO, W. G., ROCHA, J. C., SANTOS, A., MENDONÇA, A. G. R. Análise termica de substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa da região do Rio Mogi-SP In: *XVI Congresso de Iniciação Científica da UNESP-CIC*, Ilha Solteira-SP, 2004.

3.5.7 ROCHA, J. C., SANTOS, A., MASCARELLI, R. L., MENDONÇA, A. G. R., BELLIN, I. C., GARCIA JUNIOR, O., MENEZES, V. A. N., OLIVEIRA, M. I. F. Inventário de parâmetros indicadores da qualidade das águas no Córregos Mulada, Muladinha e Maringá, localizados no Pólo Industrial Aeronáutico Espacial de Gavião Peixoto-SP In: *II Congresso de Extensão Universitária da UNESP*, São Paulo-SP, 2002.

# SUMÁRIO

	RESUMO	I
	ABSTRACT (inglês)	II
	SINTESI (italiano)	III
	ÍNDICE DE FIGURAS	IV
	ÍNDICE DE TABELAS	VIII
	LISTA DE ABREVIATURAS	IX
	PREFÁCIO	X
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>25</b>
1.1	Turfa	25
1.2	Propriedades físico-químicas dos solos	27
1.3	Importância da matéria orgânica	28
1.4	Classificação das substâncias húmicas	29
1.5	Extração de substâncias húmicas de solo	30
1.6	Estruturas das substâncias húmicas	31
1.7	Interação entre turfas/SH e espécies metálicas	33
1.8	Importância ambiental das substâncias húmicas	34
1.9	Caracterização das turfas e das SH	36
1.9.1	Ressonância Magnética Nuclear	36
1.9.2	Ressonância magnética nuclear ordenada por difusão	37
1.9.3	Cromatografia de exclusão por tamanho molecular	38
1.10	Capacidade complexante das substâncias húmicas	39
1.11	Técnicas empregadas no estudo de complexação das substâncias húmicas por espécies metálicas	40
1.11.1	Características gerais	40
1.11.2	Técnicas de não separação	41
1.11.3	Técnicas de separação	42
1.12	Capacidade de complexação de turfas e SH: utilização como substratos para agricultura	43
1.13	Cultura do milho	43
1.14	Cultura do rabanete	44

<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>46</b>
<b>3</b>	<b>EXPERIMENTAL</b>	<b>47</b>
3.1	Limpeza de vidraria	47
3.2	Coleta e preparação das amostras	48
3.3	Caracterização físico-química e estrutural das amostras	49
3.3.1	Teor de matéria orgânica	49
3.3.2	Análise para fins de fertilidade	49
3.3.3	Análise elementar	49
3.3.4	Espectroscopia na região do infravermelho	50
3.3.5	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear <sup>13</sup> C	50
3.3.6	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear ordenada por difusão (DOSY-RMN)	50
3.3.7	Cromatografia por exclusão de tamanho – HPSEC	50
3.3.8	Análise granulométrica das amostras de turfa	51
3.4	Extração das substâncias húmicas	52
3.5	Purificação das substâncias húmicas	53
3.5.1	Preparação das membranas de diálise	53
3.5.2	Diálise das substâncias húmicas	54
3.6	Ajuste do sistema de ultrafiltração	54
3.7	Determinação do tempo de equilíbrio de complexação	55
3.8	Determinação da capacidade complexante das SH e constantes de troca entre espécies metálicas (adicionadas) e espécies metálicas originalmente complexadas às SH	56
3.9	Determinação das espécies metálicas	57
3.10	Experimentos em casa de vegetação com milho	57
3.10.1	Solos	57
3.10.2	Delineamento e tratamentos	58
3.11	Experimentos em casa de vegetação com rabanete	61
3.12	Experimentos em casa de vegetação: análise do material vegetal	63
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	<b>64</b>
4.1	Caracterização físico-química das amostras de turfas	64
4.2	Composição elementar das amostras de turfas	65
4.3	Espectroscopia na região do infravermelho das amostras de turfas	66

4.4	Ressonância magnética nuclear de carbono 13 das SH extraídas das amostras de turfas	68
4.5	Ressonância Magnética Nuclear (DOSY-RMN) das SH extraídas das amostras de turfas	69
4.6	Cromatografia por exclusão de tamanho – HPSEC das SH extraídas das amostras de turfas	70
4.7	Análises granulométricas das amostras de turfas	73
4.8	Determinação do tempo de equilíbrio de complexação das SH extraídas das amostras de turfas	74
4.9	Determinação da capacidade complexante das SH por espécies metálicas	76
4.10	Determinação das constantes de troca entre íons $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$ , $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mn}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ e $\text{Fe}^{3+}$ (adicionados) e espécies metálicas originalmente complexadas pelas SH	90
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>109</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>111</b>



## RESUMO

Turfas apresentam em média 80% de compostos orgânicos em sua composição. A variedade e elevada quantidade de grupos funcionais, principalmente oxigenados, nitrogenados e sulfurados, possibilitam elevada capacidade de interação com espécies metálicas, formando compostos de diferentes estabilidades. Além da importante função ambiental, tais como participação em processos de acúmulo, transporte e disponibilidade de espécies metálicas no ambiente, as turfas possuem várias aplicações comerciais, dentre elas, destaca-se a remediação de áreas contaminadas e utilização na agricultura e horticultura, onde são empregadas como adubo natural. Quanto à aplicação de turfas no setor agrícola, há uma crescente procura pela adubação orgânica. Neste caso, existem várias questões em aberto como, por exemplo, a necessidade de entendimento da disponibilização ou não de nutrientes pela matéria orgânica, quando enriquecida com macro e micro nutrientes essenciais. Neste trabalho, foram estudadas as interações de espécies metálicas (Cu, Mg, Ca, Zn, Mn e Fe) com turfas e substâncias húmicas extraídas dessas matrizes. Foram coletadas amostras de turfas no Distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP. As amostras foram caracterizadas com diferentes técnicas, tais como: granulometria, infra-vermelho, análise elementar, RMN  $^{13}\text{C}$  CP-MAS / RMN DOSY e HPSEC. Foram determinadas as capacidades de complexação e constantes de troca entre as substâncias húmicas extraídas das amostras de turfas e espécies metálicas. Experimentos em casa de vegetação (UNESP – Jaboticabal) foram feitos para avaliar a influência das diferentes amostras e das quantidades de turfas no desenvolvimento e estado nutricional das plantas testadas (milho e rabanete). Os resultados deste trabalho contribuem no melhor entendimento sobre alguns fatores que influenciam as interações entre espécies metálicas e matéria orgânica do solo, no sentido de melhorias nas práticas agrícolas, refletindo em melhores produtividades e menores impactos ambientais.

**Palavras chave:** turfa, substâncias húmicas, capacidade de complexação, espécies metálicas, *Zea mays* L., *Raphanus sativus* L.

## ABSTRACT

Peats of natural origin have on average 80% of organic compounds in its composition. The variety and high quantity of functional groups, mainly oxygen, nitrogen and sulfur, enable high capacity for interaction with metal species, forming compounds of different stability. Beyond the environmental importance, such as participation in processes of accumulation, transportation and disposal of metal species in the environment, peats have various commercial applications, among which stands out the remediation of contaminated areas and the use in agriculture and horticulture, where they are used as natural fertilizer. As for the application of peats in the agricultural sector, there is a growing demand for organic fertilizer. In this case, there are several open issues such as the need for understanding the availability or not of nutrients in organic matter, when enriched with macro and micro essential nutrients. In this work, we have studied the interactions of metal species (Cu, Mg, Ca, Zn, Mn and Fe) with peats and humic substances. Peat samples were collected in the Taquaral-SP district and the São Simão-SP city. The samples were characterized with different techniques, such as size, infrared spectroscopy, elemental analysis,  $^{13}\text{C}$  NMR CP-MAS / NMR DOSY and HPSEC. The capacity of complexation and exchange constants between humic substances extracted from peat samples and metal species were determined. Experiments in a greenhouse (UNESP - Jaboticabal) were carried out to evaluate the influence of the different samples and the quantities of peat in the development and status of tested plants (corn and radish). The results of this study contribute for a better understanding of factors that influence the interactions between metal species and soil organic matter, for improvements in agricultural practices, aiming at better yields and less environmental impacts.

**Keywords:** peat, humic substances, capacity of complexation, metal species, *Zea mays* L., *Raphanus sativus* L.

## SINTESI

Le torbe di origine naturale hanno in media l'80% di composti organici nella loro composizione. La varietà e la quantità dei gruppi funzionali, principalmente ossigeno, azoto e zolfo, consente un'alta capacità di interazione con le specie metalliche, formando composti di diverse stabilità. Al di là di una importanza ambientale, come la partecipazione a processi di accumulo, trasporto e smaltimento di specie metalliche nell'ambiente, le torbe hanno varie applicazioni commerciali, tra le quali spicca la bonifica delle aree contaminate e l'uso in agricoltura e orticoltura, dove sono utilizzate come fertilizzanti naturali. Per quel che riguarda l'applicazione della torba nel settore agricolo, la domanda è crescente ma, in questo caso, sussistono diverse questioni aperte, come la necessità di comprendere la disponibilità di sostanze nutritive nella materia organica, quando viene arricchita con macro e micro elementi essenziali. In questo lavoro, abbiamo studiato le interazioni di alcune specie metalliche (Cu, Mg, Ca, Zn, Mn e Fe) con torba e le sostanze umiche estratte da queste matrici. I campioni di torba sono stati raccolti nella zona di Taquaral-SP e nel comune di São Simão-SP e sono stati caratterizzati con diverse tecniche, quali la granulometria, infrarosso, analisi elementare,  $^{13}\text{C}$  NMR CP-MAS / NMR DOSY e HPSEC. Si è determinata la capacità di complessazione e le costanti di scambio tra le sostanze umiche estratte dai campioni di torba e le specie metalliche. Esperimenti in serra (UNESP – Jaboticabal) sono state effettuati per valutare l'influenza dei diversi campioni e le quantità di torba per lo sviluppo e lo stato nutrizionali degli impianti testati (mais e rafano). I risultati di questo studio contribuiranno a una migliore comprensione dei fattori che influenzano le interazioni tra le specie metalliche e la materia organica del suolo e al miglioramento delle pratiche agricole, che danno luogo a rendimenti più soddisfacenti e un minor impatto ambientale.

**Parole chiave:** torbe, sostanze umiche, capacità di complessazione, specie metalliche, *Zea mays* L., *Raphanus sativus* L.

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Modelo estrutural proposto para o ácido húmico.....	30
Figura 2	Sistema de limpeza de vidraria.....	46
Figura 3	Esquema ilustrativo do procedimento utilizado na coleta das amostras de turfa.....	47
Figura 4	Secagem ao ar das amostras de turfa.....	47
Figura 5	Procedimento de pipetagem das amostras de turfa.....	51
Figura 6	Procedimento de lavagem com água do material restante na proveta.....	51
Figura 7	Equipamento utilizado na extração das substâncias húmicas de amostras de turfas coletadas no município de São Simão-SP e no distrito de Taquaral-SP.....	52
Figura 8	Purificação das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfas coletadas no município de São Simão-SP e no distrito de Taquaral-SP....	53
Figura 9	Esquema do sistema de ultrafiltração com fluxo tangencial (UF-FT). Condições: sistema de ultrafiltração equipado com membrana polietersulfônica com porosidade de 1 kDa e 47 mm de diâmetro.....	54
Figura 10	Secagem das amostras de solo LVd e RQ após incubação com calcário e $\text{CaCO}_3 + \text{MgCO}_3$ , respectivamente.....	57
Figura 11	Incubação da mistura solo + turfa + fertilizante por um período de 10 dias.....	59
Figura 12	Casa de vegetação utilizada nos experimentos, na UNESP-Jaboticabal.....	59
Figura 13	Experimento com o milho após desbaste.....	60
Figura 14	Experimento com o rabanete após desbaste.....	61
Figura 15	Espectros na região do infravermelho das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfas coletadas no município de São Simão-SP e distrito de Taquaral-SP.....	66
Figura 16	Cromatogramas de exclusão por tamanho (HPSEC) das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP.....	70
Figura 17	Cromatogramas de exclusão por tamanho (HPSEC) das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP.....	71

Figura 18	Cinética de complexação de íons $\text{Cu}^{2+}$ por substâncias húmicas extraídas das amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP. Condições: $\text{pH} \approx 5,5$ e $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	74
Figura 19	Cinética de complexação de íons $\text{Mg}^{2+}$ por substâncias húmicas extraídas das amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP. Condições: $\text{pH} \approx 5,5$ ; $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	74
Figura 20	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP por íons $\text{Cu}^{2+}$ . Condições: $\text{pH} \approx 5,5$ ; $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	75
Figura 21	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (in-natura) coletadas no município de São Simão-SP por íons $\text{Cu}^{2+}$ . Condições: $\text{pH} \approx 5,5$ ; $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	76
Figura 22	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (tratada) coletadas no município de São Simão-SP por íons $\text{Cu}^{2+}$ . Condições: $\text{pH} \approx 5,5$ ; $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	76
Figura 23	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP por íons $\text{Mg}^{2+}$ . Condições: $\text{pH} \approx 5,5$ ; $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	77
Figura 24	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (in-natura) coletadas no município de São Simão-SP por íons $\text{Mg}^{2+}$ . Condições: $\text{pH} \approx 5,5$ ; $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	77
Figura 25	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (tratada) coletadas no município de São Simão-SP por íons $\text{Mg}^{2+}$ . Condições: $\text{pH} \approx 5,5$ ; $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	78
Figura 26	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP por íons $\text{Ca}^{2+}$ . Condições: $\text{pH} \approx 5,5$ e $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	78
Figura 27	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (in-natura) coletadas no município de São Simão-SP por íons $\text{Ca}^{2+}$ . Condições: $\text{pH} \approx 5,5$ ; $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	79
Figura 28	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (tratada) coletadas no município de São Simão-SP por íons $\text{Ca}^{2+}$ . Condições: $\text{pH} \approx 5,5$ ; $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	79

Figura 29	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP por íons $Mn^{2+}$ . Condições: $pH \approx 5,5$ e $[SH] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	80
Figura 30	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa ( <i>in-natura</i> ) coletadas no município de São Simão-SP por íons $Mn^{2+}$ . Condições: $pH \approx 5,5$ ; $[SH] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	80
Figura 31	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa ( <i>tratada</i> ) coletadas no município de São Simão-SP por íons $Mn^{2+}$ . Condições: $pH \approx 5,5$ ; $[SH] = 100 \text{ mg L}^{-1}$	81
Figura 32	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP por íons $Zn^{2+}$ . Condições: $pH \approx 5,5$ e $[SH] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	81
Figura 33	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa ( <i>in-natura</i> ) coletadas no município de São Simão-SP por íons $Zn^{2+}$ . Condições: $pH \approx 5,5$ ; $[SH] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	82
Figura 34	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa ( <i>tratada</i> ) coletadas no município de São Simão-SP por íons $Zn^{2+}$ . Condições: $pH \approx 5,5$ ; $[SH] = 100 \text{ mg L}^{-1}$	82
Figura 35	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP por íons $Fe^{3+}$ . Condições: $pH \approx 5,5$ e $[SH] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	83
Figura 36	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa ( <i>in-natura</i> ) coletadas no município de São Simão-SP por íons $Fe^{3+}$ . Condições: $pH \approx 5,5$ ; $[SH] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .....	83
Figura 37	Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa ( <i>tratada</i> ) coletadas no município de São Simão-SP por íons $Fe^{3+}$ . Condições: $pH \approx 5,5$ ; $[SH] = 100 \text{ mg L}^{-1}$	84
Figura 38	Dendograma para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a cultura do milho.....	95
Figura 39	Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a cultura do milho.....	96

Figura 40	Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a cultura do milho .....	97
Figura 41	Dendograma para o experimento de fornecimento de zinco pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a cultura do milho .....	98
Figura 42	Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de zinco pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a cultura do milho .....	99
Figura 43	Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de zinco pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a cultura do milho .....	100
Figura 44	Dendograma para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a raiz da cultura do rabanete .....	102
Figura 45	Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a raiz da cultura do rabanete .....	103
Figura 46	Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a raiz da cultura do rabanete .....	104
Figura 47	Dendograma para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a parte aérea da cultura do rabanete .....	105
Figura 48	Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a parte aérea da cultura do rabanete .....	106
Figura 49	Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a parte aérea da cultura do rabanete .....	107

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1	Divisão da fração mineral de acordo com a granulometria.....	26
Tabela 2	Definições freqüentemente utilizadas na química do húmus.....	28
Tabela 3	Composição elementar média de substâncias húmicas extraídas de solos.....	32
Tabela 4	Propriedades gerais das substâncias húmicas e efeitos causados ao solo.....	34
Tabela 5	Massas molares propostas para o ácido fúlvico (AF) e ácido húmico (AH).....	38
Tabela 6	Resultados das análises de fertilidade das amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP.....	63
Tabela 7	Composição elementar (%), razões atômicas H/C e C/N de amostras de turfas coletadas no distrito de Taquaral-SP e município de São Simão-SP.....	65
Tabela 8	Distribuições relativas de carbono (%) em diferentes deslocamentos (ppm) das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP determinadas por RMN <sup>13</sup> C CPMAS.....	68
Tabela 9	Coeficientes de difusão ( <i>D</i> ) e massas moleculares médias (MM) das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP determinadas por DOSY-RMN.....	69
Tabela 10	Massas moleculares médias das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP determinadas por cromatografia por exclusão de tamanho – HPSEC.....	70
Tabela 11	Massas moleculares médias das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP determinadas por cromatografia por exclusão de tamanho – HPSEC.....	72
Tabela 12	Análise granulométrica das amostras de turfas coletadas no município de São Simão-SP e no distrito de Taquaral-SP e dados da literatura....	73
Tabela 13	Capacidades complexantes das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP.....	84
Tabela 14	Parâmetros das correlações lineares entre dados de RMN <sup>13</sup> C e valores das capacidades de complexação das substâncias húmicas por diferentes espécies metálicas.....	87
Tabela 15	Constantes de troca entre íons Cu <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> Zn <sup>2+</sup> ou Fe <sup>3+</sup> (adicionados) e espécies metálicas originalmente complexadas por SH extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP.....	91

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF	ácido fúlvico
AH	ácido húmico
CC	capacidade de complexação
CPMAS	polarização cruzada com rotação no ângulo mágico
CTC	capacidade de troca catiônica
DOSY-RMN	ressonância magnética nuclear ordenada por difusão
EIS	eletrodo íon seletivo
HPSEC	high-performance size-exclusion chromatography
ICP-OES	espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio
IHSS	International Humic Substances Society
LVd	Latossolo Vermelho Distrófico
$M_m$ / MM	massa molar
$M_n$	número-médio
MO	matéria orgânica
MON	matéria orgânica natural
RMN	ressonância magnética nuclear
RQ	Neossolo Quartzênico
S.B	soma de bases
SH	substâncias húmicas
UF	ultrafiltração
UF-FT	ultrafiltração em fluxo tangencial e simples estágio
V %	saturação por bases

## PREFÁCIO

O projeto objetiva melhorar os conhecimentos para aplicação de turfas em setores agrícolas. Atualmente, alguns fertilizantes comercializados como orgânicos e/ou naturais são enriquecidos com macro e micronutrientes, os quais, segundo os fabricantes, são liberados para a planta conforme as necessidades desta. É um mercado relativamente novo, de grande potencial econômico e conseqüentemente, muito atrativo. Entretanto, ainda não há uma regulamentação adequada para tal setor, principalmente por não haver dados científicos sobre os processos de liberação desses nutrientes pela matéria orgânica disponibilizando-os para o sistema radicular das plantas. Tendo em vista melhor rendimento agrícola e menor impacto ambiental, são necessários estudos de interações (p. exemplo, capacidade de complexação) entre espécies metálicas e matéria orgânica do solo. Investigações deste tipo poderão estabelecer quantidades adequadas desses nutrientes evitando problemas ambientais e/ou prejuízos econômicos.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Turfa

O solo pode ser representado como produto de um ciclo natural no qual participam fragmentos de rochas, minerais, água, ar, seres vivos e seus detritos em decomposição. Estes resultam de fatores climáticos e da atividade combinada de microorganismos decompondo restos animais/vegetais. Desta forma, o solo é considerado como resultado das interações entre os compartimentos litosfera, hidrosfera, atmosfera e biosfera. Os principais processos que levam a pedogênese (formação de solos) são os intemperismos físicos (desagregação) e químicos (decomposição) os quais atuam nos componentes inorgânicos (rocha mãe) e componentes orgânicos (resíduos animais e vegetais).

As turfas são um tipo de solo e representam uma pequena classe de combustíveis, formada a partir de material vegetal em pântanos e brejos e é caracterizada pelo tipo de material, condições de formação e grau de decomposição (MOORE, 1989). Estima-se que são necessários de 100 a 500 anos para produzir uma camada de 30 centímetros de turfa (KIEHL, 1985).

As turfas se formam via sedimentação de areia, limo e argila oriundos dos terrenos à montante, da deposição de vegetais que crescem na água e pela contribuição das plantas existentes nas margens de regiões alagadas.

As turfas brasileiras podem ser classificadas como hídrica, fibrosa e lenhosa. A primeira é formada em ambiente aquoso ou subaquoso, produzindo uma espécie de turfa rudimentar à base de algas, pólenes, plânctons e flora aquática. A segunda, comum na região Sudeste do Brasil, ocorre na superfície de terrenos, originada por acúmulos orgânicos naturais ou plantados, compondo-se de fibras e filamentos pouco decompostos, imersos em matriz de aspecto gelatinoso, de coloração escura ou marrom. A terceira é formada por vegetais de grande porte e originada na superfície de terrenos. Grande parte da matéria orgânica da turfa está humificada, mas ainda consiste de um material suscetível de fermentar e tornar-se estabilizado (LAMIN, 2001).

As turfeiras compreendem uma significativa porcentagem da superfície terrestre e estão presentes em diferentes regiões do planeta. As mais importantes concentram-se no hemisfério norte, particularmente na Rússia, mas existem reservas economicamente relevantes no Brasil, Indonésia, Tailândia e outras regiões tropicais e subtropicais do globo. No Brasil, a turfa é um recurso mineral encontrado em todo território. O Projeto Turfa desenvolvido pela Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais (CPRM) em 1980, localizou importantes reservas na faixa litorânea do país. No litoral do Sudeste, destacam-se as turfeiras localizadas nas extensas planícies costeiras dos estados de São Paulo, Espírito Santo e Rio de Janeiro. Na região Nordeste, o litoral dos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia apresentam grandes reservas. Nas regiões interioranas existem importantes depósitos de turfa localizados no Vale do Paraíba do Sul (São Paulo - Rio de Janeiro); no estado de Minas Gerais e no sudoeste da Bahia.

Além de conter humina, ácido húmico (AH) e ácido fúlvico (AF), as turfas possuem propriedades físico-químicas, as quais tornam possível sua aplicação em várias áreas técnicas, como estação de tratamento de águas (BAILEY *et al.* 1999), monitoramento ambiental (McLELLAN *et al.* 1988), produção de combustíveis (HARTCHER *et al.* 1983), imobilização de enzimas (ROSA *et al.* 2000) e possíveis aplicações terapêuticas (SANTOS *et al.* 2004). O uso terapêutico de turfas também tem sido observado, entretanto, pouco se sabe sobre os efeitos qualitativos, fisiológicos e farmacológicos dos seus componentes. De acordo com alguns estudos, os efeitos medicinais das turfas estão provavelmente associados com as substâncias húmicas presentes em suas composições, as quais possuem características complexantes (KLÖCKING, 1994).

A turfa pode ser utilizada como suplemento agrícola em solos na etapa final do processo de recuperação da vegetação nativa e como suplemento de matéria orgânica nas áreas degradadas. Sua aplicação influencia nas propriedades químicas e físicas do solo, como retenção de cátions, efeito tampão, densidade aparente, condutividade hidráulica e porosidade. Também pode ser aplicada na geração de calor na forma de combustível fóssil, formando carvão mineral (GUILHERME *et al.*, 2000). MINDÉLLO NETO (2005) obteve melhoras no enraizamento de plantas quando turfas foram utilizadas como substratos.

## 1.2 Propriedades físico-químicas dos solos

As propriedades físico-químicas dos solos são devidas principalmente à elevada superfície específica e a alta reatividade apresentada pelos componentes da fração argila. O silte e a areia, são menos eficientes nos processos químicos, pois são constituídos de partículas mais grosseiras de minerais primários e de quartzo. A fração mineral do solo é classificada de acordo com sua granulometria (Tabela 1).

**Tabela 1.** Divisão da fração mineral de acordo com a granulometria.

Fração mineral	Granulometria
Cascalhos	20mm a 2,0mm
Areia grossa	2,0mm a 0,2mm
Areia fina	0,2mm a 0,02mm
Silte	0,02mm a 0,002mm
Argila	<0,002mm

Adaptada de SUGUIO, 1973.

Considera-se que a fração argila é constituída pelas partículas sólidas do solo com tamanho igual ou menor que 0,002mm (Tabela 1), a qual se atribui um caráter coloidal. De um modo geral, essas características são devidas a certas propriedades estruturais da fase dispersa, como tamanho, forma e área superficial das partículas. Nos solos a fração argila é normalmente constituída por minerais secundários, óxidos de Fe e Al cristalinos ou amorfos e matéria orgânica, que na sua totalidade possui uma carga líquida negativa. Processos como substituição isomórfica de íons da rede cristalina dos minerais argilosos, quebra de partículas com a exposição de ligações negativas e dissociações de grupos OH da fração mineral e orgânica são os responsáveis por essa carga superficial. As cargas das partículas componentes da fração argila se apresentam saturadas com íons de cargas contrárias, os quais são

mantidos em um estado trocável, podendo então ser substituídos por outros cátions que incidentalmente são adicionados aos solos. Esta capacidade de manter íons adsorvidos é uma função da natureza e da porcentagem de vários constituintes que formam a fração argila.

No caso dos solos brasileiros, materiais como caulinita, gibsitita, óxidos de Fe e Al, além de certa quantidade de matéria orgânica, constituem a fração argila. Como os minerais argilosos de grade 1:1 não apresentam substituições isomórficas e os óxidos de Fe e Al cristalinos não são muito reativos, a capacidade de troca catiônica (CTC) desses solos é devida na sua maior parte à matéria orgânica (MALAVOLTA, 1981).

### 1.3 Importância da matéria orgânica

A degradação de restos de plantas e animais no solo é um processo microbiológico fundamental para a recirculação de vários elementos químicos tais como carbono, nitrogênio, fósforo, enxofre e alguns micronutrientes. O ciclo global do carbono é um sistema com compartimentos terrestres, aquáticos e atmosféricos e a maior parte do carbono que recicla pelos compartimentos atmosfera, litosfera e hidrosfera é fixada como matéria orgânica em sedimentos (STEVENSON, 1985).

Quimicamente, os solos orgânicos são ácidos, com elevados teores de alumínio trocável. Os teores de cálcio e magnésio são intermediários e os de potássio baixos. A saturação de bases em geral é baixa, aumentando com a profundidade. A capacidade de troca catiônica é elevada em função dos altos teores de matéria orgânica (DAVIES *et al.*, 2001).

A quantidade de carbono presente na matéria orgânica em solos e turfeiras (30 a 50  $10^{11}$  t) é cerca de três a quatro vezes superior àquela presente na atmosfera (7  $10^{11}$  t) e cerca de cinco a seis vezes superior àquela presente na biomassa terrestre (4,8  $10^{11}$  t) (STEVENSON, 1985). Os principais constituintes dessa matéria orgânica são as substâncias húmicas (SH), as quais estão globalmente distribuídas nos sistemas aquáticos e terrestres. As SH são amorfas, escuras e com grande conteúdo de funções orgânicas, tais como derivados dos grupos carboxílicos, fenólicos, enólicos, alcoólicos, quinonas, dentre outros. Uma forma de classificação destas substâncias é com base na solubilidade em diferentes intervalos de pH (STEVENSON, 1994).

## 1.4 Classificação das substâncias húmicas

A primeira tentativa de isolar substâncias húmicas de solo foi de ACHARD (1786), quando submeteu turfas a solventes alcalinos e obteve uma solução escura que precipitava por acidificação. Esse material, solúvel em álcali e insolúvel em ácido, foi denominado ácido húmico, cuja definição mantém-se até hoje. ACHARD observou ainda que grande quantidade desse material poderia ser extraída de turfas devido a seu alto estágio de decomposição.

DE SAUSSURE (1804) introduziu o termo *húmus* (do latim, equivalente ao solo) para descrever o material orgânico de coloração escura originado do solo. Percebeu que o húmus era derivado de resíduos vegetais, sendo rico em carbono, mas pobre em hidrogênio e oxigênio.

Como as SH não podem ser definidas estruturalmente, a classificação das diferentes frações baseada experimentalmente em suas características de solubilidade, apresentando três principais frações: 1) Os ácidos húmicos definidos operacionalmente como a fração das SH solúvel em meio alcalino diluído e que precipita pela acidificação do extrato alcalino. 2) Os ácidos fúlvicos permanecem em solução quando o extrato alcalino é acidificado e 3) A humina é a fração não extraída por ácido ou álcali diluído HAYES (1998).

A Tabela 2 mostra definições freqüentemente utilizadas na química do húmus.

**Tabela 2.** Definições freqüentemente utilizadas na química do húmus.

<b>Termos</b>	<b>Definições</b>
<b>Substâncias húmicas/material húmico / húmus</b>	Substâncias de coloração escura, elevada massa molecular, estrutura complexa e indefinida. Resultantes da decomposição de vegetais e animais.
<b>Substâncias não húmicas</b>	Substâncias presentes no solo de composição e estrutura definida, tais como aminoácidos, carboidratos, ceras, lipídeos, resinas, ácidos graxos.
<b>Humina</b>	Parte do material orgânico presente no solo de coloração escura, insolúvel em álcalis e ácidos.

<b>Ácido fúlvico</b>	Material colorido remanescente após separação do ácido húmico por precipitação em meio ácido.
<b>Ácido húmico</b>	Material orgânico de coloração escura. Pode ser extraído do solo por vários reagentes e insolúvel em meio ácido (pH < 2).
<b>Ácido himatomelânico</b>	Fração do ácido húmico solúvel em álcoois.

Adaptada de ROSA (2001)

## 1.5 Extração de substâncias húmicas de solo

Um dos primeiros estágios de estudo acerca de SH é a extração do material húmico e as condições de extração podem alterar suas propriedades físico-químicas. Assim, é de importância fundamental extraí-las com mínima alteração em sua estrutura original.

No processo de extração das substâncias húmicas de solos, são designadas duas classes de extratores:

- extratores moderados;
- extratores alcalinos.

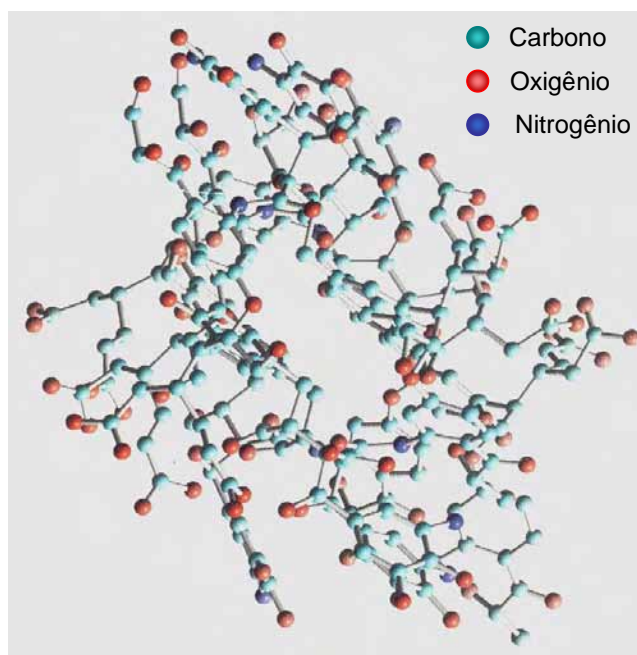
Os extratores moderados representam uma classe de extratores menos drásticos e os principais são pirofosfato de sódio, agentes complexantes orgânicos em meio aquoso (acetilacetona e 8-hidroxiquinolina), ácido fórmico, mistura ácida e solventes orgânicos de vários tipos (STEVENSON, 1994). Esses extratores parecem diminuir a ocorrência de alterações estruturais no material orgânico, porém são menos efetivos que os alcalinos.

Devido ao alto poder extrator, soluções de NaOH e/ou Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> têm sido a mais utilizadas na extração da matéria orgânica de solos (ROSA *et al.*, 1998). Apesar de mais eficiente, o uso de solução alcalina na extração das SH tem sido muito criticado, pois nessas condições a matéria orgânica pode ser alterada por hidrólises ou auto oxidação (STEVENSON, 1994; ROSA *et al.*, 1998). Entretanto, o procedimento recomendado pela International Humic Substances Society (IHSS) é baseado na utilização de solução extratora alcalina (NaOH).

## 1.6 Estruturas das substâncias húmicas

Na literatura existem várias propostas estruturais para as SH (KONONOVA, 1966; SCHNITZER & KHAN, 1978; STEVENSON, 1994), entretanto, nenhuma delas parece ser inteiramente satisfatória. Provavelmente, isto ocorre não apenas devido à complexidade e heterogeneidade estrutural das SH, mas principalmente pela falta de uma identidade estrutural genérica a qual é fortemente influenciada pelo grau e mecanismo de decomposição.

A Figura 1 mostra um modelo tridimensional para o ácido húmico proposto por SEIN *et al.* (1999).



**Figura 1.** Modelo estrutural proposto para o ácido húmico.

Estudos têm mudado o conceito de estrutura macromolecular das SH baseado em resultados obtidos com técnicas como cromatografia de alta resolução de exclusão por tamanho (HPSEC, do inglês *high-performance size-exclusion chromatography*) (PICCOLO, 2002), espectrometria de massa com ionização por eletrospray (PICCOLO & SPITELLER, 2003; STENSON *et al.*, 2003) e espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (SIMPSON, 2002). Esses resultados indicam uma estrutura

de associação supramolecular com relativas pequenas moléculas heterogêneas mantidas por forças dispersivas, tais como  $\pi$ - $\pi$ , CH- $\pi$  e forças de van der Waals (CONTE *et al.*, 2006). O paradigma da estrutura das SH tem permanecido, enquanto novos procedimentos analíticos especialmente na área de espectroscopia têm sido desenvolvidos visando à obtenção de resultados mais consistentes, os quais suportem as hipóteses propostas.

Entretanto, mesmo com as contradições existentes quanto ao modelo estrutural, algumas características das SH já estão bem definidas:

1) as frações de ácido húmico e ácido fúlvico são misturas heterogêneas de moléculas polidifusas, com intervalos de massa molar variando de algumas centenas até milhões (STEVENSON, 1994);

2) há variação da razão entre ácido húmico e ácido fúlvico em função do tipo de solo. Essa razão está associada ao grau de humificação do mesmo (ROSA *et al.*, 2000).

3) as substâncias húmicas extraídas de solos têm composição elementar média de acordo com a Tabela 3.

4) os ácidos húmico e fúlvico apresentam alto teor de grupos funcionais contendo oxigênio (Tabela 3) tais como, carboxilas, hidroxilas fenólicas e carbonilas de vários tipos STEVENSON (1985).

**Tabela 3.** Composição elementar média de substâncias húmicas extraídas de solos.

Substâncias húmicas	Composição elementar média (%)				
	C	H	O	N	S
AH	53,8- 58,7	3,2- 6,2	32,8- 38,3	0,8- 4,3	0,1- 1,5
AF	40,7- 50,6	3,8- 7,0	39,7- 49,8	0,9- 3,3	0,1- 3,6

Adaptada de CALDERONI & SCHNITZER (1984).

(AH) ácido húmico

(AF) ácido fúlvico

De acordo com a Tabela 3 o AH tem maior teor de carbono e menor teor de oxigênio que o AF. A razão C/H é maior para o AH indicando maior aromaticidade e uma estrutura mais condensada. A razão C/N, associada ao grau de decomposição do material, não apresenta grande variação para os ácidos.

## 1.7 Interação entre turfas/SH e espécies metálicas

Sob o ponto de vista físico-químico, a turfa é um material poroso, altamente polar, com elevada capacidade de adsorção de espécies metálicas e moléculas orgânicas polares. A forte atração exercida pela turfa na maioria dos cátions metálicos em solução deve-se, principalmente ao elevado teor de substâncias húmicas (PETRONI *et al.*, 2000).

A turfa de ocorrência natural, a qual se encontra em elevado grau de decomposição e, portanto rica em SH, é mais efetiva nos processos de complexação de metais que a disponível comercialmente, a qual é rica em celulose e contém cerca de 20% de ácidos húmicos (LAMIM *et al.*, 2001). Nos estudos feitos por RASHID (1997), foi observado que cada quilograma da amostra de turfa natural foi capaz de complexar cerca de 15 gramas de espécies metálicas em solução. A ordem decrescente de adsorção observada foi  $\text{Cu} > \text{Ni} > \text{Co} > \text{Zn} > \text{Mn}$ , sendo que na presença desses metais, o cobre foi preferencialmente complexado, utilizando cerca de 50 % da capacidade total de complexação da turfa. Estudos mais recentes têm sido conduzidos com a finalidade de avaliar a capacidade máxima de complexação de turfas. Neste caso, vários metais têm sido examinados, incluindo Cu, Cd e Zn (MCKAY & PORTER, 1997) e Cu, Cd, Co, Ni e Zn (MCKAY *et al.*, 1998). A capacidade de remoção de metais de soluções aquosas (HO *et al.*, 1994) e de águas residuais (ALLEN *et al.*, 1994) por turfa, tem apresentado resultados promissores para a sua aplicação como agente de despoluição (ROMÃO *et al.*, 2009).

## 1.8 Importância ambiental das substâncias húmicas

A interação com espécies metálicas no ambiente é uma importante propriedade das SH, a qual poderá resultar em reações de complexação ou redução. As reações de complexação de metais são mais conhecidas por influenciar na biodisponibilidade dessas espécies. Atuando como tampões metálicos em ambientes aquáticos, as SH têm a propriedade de reduzir a toxicidade de alguns metais (FRIMMEL, 1990; EINAX & KUNZE, 1996; ZHANG *et al.*, 1996).

A forma de complexos organometálicos em solos pode influenciar nos ciclos biogeoquímicos. As SH podem aumentar a disponibilidade de fosfatos minerais insolúveis através da complexação de Fe e Al em solos ácidos e Ca em solos calcários (STEVENSON, 1994).

As características redox das SH dependem das condições do meio. Podem reduzir o íon  $\text{Hg}^{2+}$  a  $\text{Hg}^0$  sob condições de pH natural, atuando como agente mobilizador de Hg no ambiente (ROCHA *et al.*, 2000) ou reduzir espécies alterando a toxicidade, como Cr(VI) a Cr(III) (ROMÃO *et al.*, 2002).

Além da relevância ambiental, as características físico-químicas do húmus também causam alguns efeitos benéficos ao solo, conforme mostra a Tabela 4.

“Turfa: interações com espécies metálicas e estudo de parâmetros que influenciam na utilização em setores agrícolas”

**Tabela 4.** Propriedades gerais das substâncias húmicas e efeitos causados ao solo.

<b>Propriedades</b>	<b>Observações</b>	<b>Efeitos no solo</b>
<b>Cor</b>	A coloração escura dos solos é causada pelas substâncias húmicas	Retenção de calor, auxiliando na germinação de sementes
<b>Retenção de água</b>	Retêm água até 20 vezes a sua massa	Evitam erosão e mantêm a umidade do solo
<b>Combinação com argilas minerais</b>	Cimentam partículas do solo formando agregados	Permitem a troca de gases e aumentam a permeabilidade do solo
<b>Quelação</b>	Formam complexos estáveis com $\text{Cu}^{+2}$ , $\text{Mn}^{+2}$ , $\text{Zn}^{+2}$ e outros cátions polivalentes	Melhoram a disponibilidade de nutrientes para as plantas
<b>Insolubilidade em água</b>	Devido sua associação com argilas e sais de cátions di e tri valentes	Pouca matéria orgânica é lixiviada
<b>Ação tampão</b>	Têm função tamponante em amplos intervalos de pH	Mantém as condições reacionais do solo
<b>Troca de cátions</b>	A acidez total das frações isoladas do humus varia de 300 a 1400 $\text{cmol kg}^{-1}$	Aumentam a CTC no solo. 20 a 70 % da CTC de solos é devida a MO
<b>Mineralização</b>	A decomposição da MO fornece $\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{PO}_4^{-3}$ , $\text{SO}_4^{-2}$ , etc..	Fornecimento de nutrientes para o crescimento das plantas

Adaptado de STEVENSON, (1994).

## 1.9 Caracterização das turfás e das SH

Vários métodos químicos, físicos e espectroscópicos, utilizados com sucesso em química orgânica e em estudos de macromoléculas, têm sido aplicados para estudos de substâncias húmicas, na tentativa de determinar a composição e estrutura geral da molécula. Entretanto, devido à natureza heterogênea das SH e da complexidade das reações inter e intramolecular, os resultados são sempre difíceis de interpretar (SWIFT, 1996).

A caracterização estrutural de turfás por análise elementar permite determinar a porcentagem de carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio e enxofre. A avaliação de parâmetros como fósforo, cálcio, magnésio, potássio, pH, acidez potencial, capacidade de troca catiônica (CTC) e saturação de bases constituem as primeiras etapas para a definição de medidas necessárias para a correção de fertilidade e manejo do solo, sendo a análise química, um dos métodos quantitativos mais utilizados para essa finalidade. Possui vantagens tais como baixo custo operacional, disponibilidades de laboratórios e rapidez na obtenção dos resultados (SILVA, 1999).

Métodos espectroscópicos têm sido utilizados freqüentemente para caracterização das substâncias húmicas, principalmente por não alterarem a natureza da amostra, além de vantagens como utilização de pequenas quantidades de amostras. A análise espectroscópica na região do infravermelho permite determinar qualitativa e quantitativamente grupos reativos, como por exemplo, COOH, OH-fenólico, OH-alcoólico, OH-enólico, C=O, NH<sub>2</sub> e estruturas aromáticas e alifáticas. Outras técnicas como análise térmica, técnicas cromatográficas, ressonância magnética nuclear, ressonância paramagnética eletrônica tem sido também muito utilizadas na caracterização de SH (ROSA *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2007; SERUDO *et al.*, 2007).

### 1.9.1 Ressonância magnética nuclear

Na espectrometria de ressonância magnética nuclear a amostra pode absorver a radiação eletromagnética na região de radiofreqüência, dependendo das características estruturais da amostra. Essencialmente, um experimento de RMN consiste em posicionar uma amostra entre os pólos de um campo eletromagnético e aplicar

radiofrequência variável. A excitação do núcleo do estado fundamental para um estado de energia mais alto resulta na absorção de radiação, originando um espectro o qual consiste de uma ou mais linhas de ressonância. O número e a intensidade dessas linhas estão diretamente relacionados com a estrutura da molécula (PARISH, 1990).

A espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  é uma técnica não destrutiva, importante na caracterização da matéria orgânica de solos. Essa técnica pode ser aplicada tanto para amostras no estado sólido como no estado líquido. Devido à insolubilidade de alguns componentes da matéria orgânica, a espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  no estado sólido tem sido mais utilizada para amostras de SH (STEVENSON, 1994).

Embora a técnica de RMN  $^{13}\text{C}$  não permita identificar diretamente a estrutura das substâncias húmicas, ela fornece importantes informações sobre os tipos de grupos orgânicos presentes na molécula, auxiliando na sua caracterização. Com isso, permite estimar os teores dos tipos de carbono presentes, os quais podem ser obtidos pela integração da área dos picos nas regiões específicas dos espectros (SWIFT, 1996; DICK *et al.*, 2008).

### *1.9.2 Ressonância magnética nuclear ordenada por difusão*

A espectroscopia de RMN ordenada por difusão (DOSY-RMN) representa uma poderosa ferramenta para estudos estruturais de agregação da matéria orgânica natural. DOSY é um tipo de espectroscopia de RMN, a qual utiliza ecos de spins na presença de campo magnético pulsado para medir o coeficiente de difusão (difusão translacional) dos componentes de uma dada mistura em solução. Medidas de difusão por RMN foram feitas desde a descoberta dos ecos de spin por HAHN (1950), onde são discutidos os efeitos da difusão molecular sobre as amplitudes dos ecos de spin.

A magnitude do coeficiente de difusão permite obter informações diretas sobre a dinâmica molecular, incluindo interações intermoleculares, níveis de agregação e mudanças conformacionais. Essa técnica é particularmente adequada para amostras complexas, pois fornece a correlação direta entre a difusão translacional e o deslocamento químico em 2D e sem necessidade de prévia separação dos componentes da mistura (ŠMEJKALOVÁ & PICCOLO, 2008).

### 1.9.3 Cromatografia de alta resolução de exclusão por tamanho molecular

A cromatografia de exclusão por tamanho (HPSEC) é uma técnica aplicável principalmente às espécies com elevada massa molar. Consiste em um empacotamento de partículas de polímero contendo rede de poros uniformes, nos quais as moléculas de soluto e solvente podem difundir. O tempo médio de residência nos poros depende do tamanho das moléculas do analito. Moléculas maiores que o tamanho médio dos poros da fase estacionária são excluídas e essencialmente não sofrem retenção, sendo as primeiras espécies eluídas. Moléculas com diâmetros menores que os poros podem penetrar ou permear através do emaranhado de poros e ficar retidas por tempos maiores, sendo eluídas posteriormente. As separações de exclusão por tamanho não envolvem interação química entre o analito e a fase estacionária (PICCOLO *et al.*, 2001).

Diversas propriedades da matéria orgânica do solo dependem do seu tamanho molecular, como por exemplo, a ligação com espécies metálicas (ASTER *et al.*, 1997). Assim, o conhecimento da distribuição do tamanho molecular da matéria orgânica do solo é importante para o entendimento dos processos de disponibilização de nutrientes para as plantas.

Como as SH são uma mistura, o valor da massa molar é resultante de uma média. As duas definições mais utilizadas são número-médio ( $M_n$ ) e massa molar ( $M_m$ ) definidos pela somatória dos números e massa das concentrações de diferentes frações húmicas (TIPPING, 2002). Polidispersidade é a razão do peso e do número médio. Para um composto puro,  $M_n$  e  $M_m$  são iguais e a polidispersidade é unitária. Para medidas numa variada quantidade de amostras por diferentes técnicas, tem-se observado uma concordância quanto a massa molar dos ácidos fúlvicos, sendo estes somente da ordem de alguns milhares como mostra a Tabela 5.

**Tabela 5.** Massas molares propostas para o ácido fúlvico (AF) e ácido húmico (AH).

Amostra	M <sub>n</sub>	M <sub>m</sub>	Método	Referência:
AF <sup>a</sup>	600 - 1.400	1.000 - 2.300	FFF	AYKEN <i>et al.</i> , (1987)
AF <sup>a</sup>	600 - 1.000		Cri	VISSER (1964)
AH <sup>b</sup>		4000 - 8.000	UC	REID <i>et al.</i> , (1990)
AH <sup>b</sup>		25.000 - 200.000	GDU	PIRET <i>et al.</i> , (1960)

Adaptada de TIPPING (2002).

<sup>a</sup> amostra extraída de água; <sup>b</sup> amostra extraída de solo; FFF = Fracionamento em campo de fluxo; Cri = Crioscopia; UC = Ultracentrifugação; DGU = Gradiente de densidade de ultracentrifugação.

## 1.10 Capacidade complexante das substâncias húmicas

As substâncias húmicas estão próximas de serem as substâncias orgânicas mais abundantes da natureza e devido à presença de diferentes grupos funcionais em sua estrutura, as SH interagem com diversas espécies.

A capacidade das SH de reter espécies é tão importante que pode influenciar diretamente no aquecimento global. Isto é, a formação de SH é uma forma de acúmulo de carbono. Além disso, a alta capacidade complexante das substâncias húmicas (SH) pode alterar a biodisponibilidade e os efeitos toxicológicos de espécies metálicas em sistemas aquáticos (ROCHA & ROSA, 2003). Os complexos formados entre SH e espécies metálicas (SH-M) possuem diferentes estabilidades, as quais são altamente dependentes do pH, espécies metálicas, força iônica, concentração de SH e condições redox (NINFANT'EVA *et al.*, 1999). Estudos concluíram que para caracterizar a "reatividade" da ligação entre espécies metálicas e SH, são necessários procedimentos analíticos adequados que forneçam informações sobre a estabilidade termodinâmica e cinética (ROCHA & ROSA, 2003; SANTOS *et al.*, 2007).

Estudos de troca-iônica mostraram que a disponibilidade de espécies metálicas ligadas as SH parece ser dependente também de fatores cinéticos. E mais, a força e natureza da ligação entre SH e metais são fortemente influenciadas pelo tamanho molecular das SH, cujas massas molares podem variar, por exemplo, de > 100 a < 5

kDa (NINFANT'EVA *et al.*, 1999). Assim, procedimentos de fracionamento por tamanhos moleculares são alternativas viáveis para reduzir a polidiversidade das SH, obter frações distintas com propriedades similares e permitir a caracterização de suas interações com espécies metálicas (ROCHA *et al.*, 1999; BURBA *et al.*, 2001).

Diferentemente dos complexantes ou ligantes simples ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ , aminoácidos), as substâncias húmicas contém vários sítios complexantes por molécula, resultando alta estabilidade termodinâmica dos complexos formados, alterando sobremaneira a forma química (especiação) do metal em solução (NEUBECKER & ALLEN, 1983). A capacidade de formar complexos com metais é devida principalmente, em função do alto teor de grupos funcionais contendo oxigênio, os quais incluem carboxílicos, fenólicos, enólicos e alcoólicos. As principais estruturas envolvidas no processo de complexação ou quelação são mostradas na Figura 1 (THURMAN, 1985; VANLOON, 2000; STEVENSON, 1994).

## 1.11 Técnicas empregadas no estudo de complexação das substâncias húmicas por espécies metálicas

### 1.11.1 Características gerais

Metodologia completa de especiação química deverá ser capaz de, por exemplo, distinguir as formas do íon metálico livre das formas complexadas. Na maioria dos casos, a concentração de íon metálico livre é determinada, em seguida é estimada a concentração do metal complexado (PERDUE, 1998). A escolha de um método para especiação química influencia os resultados encontrados, pois os vários métodos medem aspectos diferentes do sistema e operam sob condições diferentes.

Diversas técnicas são utilizadas no estudo de complexação de metais por matéria orgânica natural (MON), dentre as quais pode-se citar a voltametria e potenciometria (PARDO *et al.*, 1990; BEZERRA *et al.*, 2009); ultrafiltração (MATHUTHU & EPHRAIM, 1993; BOTERO *et al.*, 2009) e cromatografia (BUFFLE, 1990). Todas essas técnicas possuem vantagens e limitações. Os estudos de complexação são influenciados por alguns fatores, tais como:

“Turfa: interações com espécies metálicas e estudo de parâmetros que influenciam na utilização em setores agrícolas”

- origem das substâncias húmicas;
- método de extração;
- concentração das SH;
- força iônica;
- temperatura;
- pH (influi tanto nas propriedades das SH como nas do metal);
- método de análise;
- metodologia de tratamento dos dados.

### 1.11.2 Técnicas de não separação

As principais técnicas de não separação são as eletroanalíticas, destacando-se as potenciométricas e voltamétricas. Nas voltamétricas é medida a corrente gerada na interface eletrodo/solução, enquanto que nas potenciométricas a corrente é aproximadamente zero (HOWELL *et al.*, 2003).

A técnica potenciométrica, a qual utiliza eletrodos de membrana conhecidos como eletrodos íon seletivos (EIS), é amplamente empregada na determinação da capacidade complexante de SH. É simples, rápida e de fácil operação, além de determinar a atividade dos íons em solução, não existe ambigüidade na medida da concentração das espécies (NIFANTEVA *et al.*, 1999; SARGENTINI Jr. *et al.*, 2001). A limitação da potenciometria é a falta de sensibilidade, onde geralmente o limite de detecção é maior que a concentração do íon metálico livre presente em sistemas naturais. Também, existem poucos eletrodos seletivos disponíveis comercialmente.

A interferência de agentes oxidantes na resposta dos eletrodos de cobre, cádmio e chumbo, pela oxidação da superfície da membrana, reduzem a sensibilidade dos EIS. Os experimentos precisam ser feitos na ausência de oxigênio e íons cloreto são potenciais interferentes, pois aumentam a capacidade complexante do meio (TANI *et al.*, 1999).

Problemas de adsorção de compostos orgânicos nos EIS são menores que nos eletrodos voltamétricos. De acordo com BUFFLE (1990), a interferência é pequena para compostos fúlvicos aquáticos em concentrações menores que  $100 \text{ mg L}^{-1}$ . Efeitos de

adsorção de “memórias” causam flutuações nos valores de  $E^0$  (termo de potencial que engloba o potencial padrão do par redox, o potencial do eletrodo de referência, o potencial de junção líquida, o coeficiente de atividade do íon  $M^{n+}$ ) e  $S$  (constante de equação de Nernst).

Da mesma forma que os EIS, os experimentos na voltametria precisam de eletrólito suporte e poucos metais podem ser determinados. Contudo, as principais limitações dos métodos voltamétricos na determinação dos parâmetros de complexão são a formação de uma corrente cinética pela dissociação dos complexos metálicos e perturbação do equilíbrio entre íons livres e complexados, adsorção da matéria orgânica na superfície do eletrodo, a qual leva a formação de complexos estáveis adsorvidos e conseqüente diminuição da corrente difusional quando da utilização do eletrodo de mercúrio como eletrodo de trabalho (BUFFLE, 1990).

### 1.11.3 Técnicas de separação

A ultrafiltração (UF) é um dos métodos citados na literatura para extrair e concentrar SH. Este procedimento também tem sido empregado para fracionar a matéria orgânica em diferentes tamanhos moleculares. Os solutos dissolvidos são separados por membranas de acordo com o tamanho molecular (BURBA *et al.*, 1995; ASTER *et al.*, 1996; ROCHA *et al.*, 2000; SARGENTINI Jr. *et al.*, 2001). É um procedimento barato, versátil, não destrutivo e sem adição de reagentes, minimizando a possibilidade de alterações na amostra original (KILDUFF & WEBER, 1992).

TUSCHALL & BREZONIK (1983), utilizaram a técnica de ultrafiltração na determinação de propriedades de complexação de íons Cu(II) por ligantes macromoleculares. Esses procedimentos consistiam de um reservatório fechado e pressurizado, contendo a solução do ligante e conectado a célula de ultrafiltração. Contudo, problemas de polarização e entupimento das membranas devido ao aumento da concentração do soluto na superfície da membrana constituíram-se grandes limitações desse procedimento. BURBA *et al.* (2001), desenvolveram um procedimento de ultrafiltração em fluxo tangencial e simples estágio (UF-FT) capaz de separar o metal livre daquele ligado as SH. O sistema UF-FT comparado com o UF convencional apresenta vantagens como trabalhar com sistemas abertos, redução de efeitos da polarização e entupimento das membranas, menor volume de filtrado, diminuindo o

tempo de filtração e minimizando os deslocamentos no equilíbrio da solução, além da rapidez na filtração (cerca de  $2 \text{ mL min}^{-1}$ ).

## 1.12 Capacidade de complexação de turfas e SH: utilização como substratos para agricultura

Devido a elevada capacidade complexante das turfas e substâncias húmicas extraídas dessas matrizes, os adubos orgânicos ou compostos (enriquecidos ou não com nutrientes) têm sido utilizados como fontes naturais de aporte de nitrogênio e matéria orgânica ao solo, tendo em vista a reciclagem dos nutrientes para as plantas.

Na literatura são encontrados vários trabalhos com utilização de turfas na agricultura, como insumo para produção de condicionadores de solos, biofertilizantes e substratos de mudas (KANASHIRO *et al.*, 2008; OLIVEIRA, 2002; SCHMITZ *et al.*, 2002; BIASI *et al.*, 1995).

## 1.13 Cultura do milho

Por ser um cereal de grande importância econômica no mundo, o milho (*Zea mays* L.) é uma espécie vegetal bastante estudada (ORIOLO Jr. *et al.*, 2008; COUTINHO *et al.*, 2007). O Brasil ocupa a terceira posição no *ranking* mundial de área colhida de grãos, colhendo em média 12 milhões de hectares a cada safra, sendo superado apenas pelos Estados Unidos e pela China (CIB, 2006).

Sua importância econômica é caracterizada pelas diversas formas de utilização, que vão desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia, sendo que o uso do milho em grão como alimentação animal representa a maior parte do consumo desse cereal, correspondendo a 70% no mundo (EMBRAPA, 2002).

Dentre os vários fatores envolvidos na produção de modo geral, cada vez mais é destacada a necessidade do uso de adubação equilibrada, a qual deve incluir não

apenas os macronutrientes, mas também os micronutrientes, os quais não eram considerados nas rotinas das adubações.

Os solos tropicais, em geral, apresentam baixa disponibilidade de zinco, seja pela pequena quantidade do material de origem ou pelo cultivo intensivo de culturas, sem a devida reposição desse micronutriente. Assim, a carência de Zn é reconhecida como problema nutricional mundial para a produção das culturas, principalmente para o cultivo de cereais, reduzindo as colheitas e a qualidade nutricional dos grãos.

O zinco é o micronutriente mais limitante à produção da cultura do milho e o que geralmente apresenta maiores problemas de deficiência nos solos brasileiros. O maior crescimento de plantas de milho, promovido pela aplicação de doses elevadas de N, resulta em diluição de Zn na planta, provocando sua deficiência e necessidade de seu uso na adubação (FLONERAGAN & WEBB, 1993). O zinco desempenha importantes funções nas plantas, especialmente como ativador enzimático, sendo requerido para a síntese do triptofano, um precursor da biossíntese do ácido indol acético (AIA), responsável pelo crescimento dos tecidos das plantas. O desequilíbrio nutricional, principalmente de micronutrientes, tem sido um dos fatores na diminuição da produção de sementes. Esses elementos desempenham funções em rotas bioquímicas que garantem a formação de lipídeos, proteínas e também contribuem na estrutura das membranas celulares.

#### 1.14 Cultura do rabanete

O rabanete (*Raphanus Sativus* L.) é uma planta de porte reduzido, da família das brassicáceas. O ciclo do rabanete é um dos mais rápidos entre as hortaliças, com início das colheitas aos 20-30 dias, dependendo da estação do ano (FILGUEIRA, 2000).

A facilidade de cultivo, aliada ao pequeno porte e ciclo curto, faz dessa cultura uma boa indicadora para estudos da fertilidade do solo. Além disso, essas características fazem dessa cultura uma alternativa econômica interessante para os produtores, no sentido de utilizá-la na rotação de cultura. Apesar de não ser uma cultura expressiva em termos de área plantada, o rabanete é cultivado em grande

“Turfa: interações com espécies metálicas e estudo de parâmetros que influenciam na utilização em setores agrícolas”

número de pequenas propriedades dos cinturões verdes das regiões metropolitanas (CARDOSO & HIRAKI, 2001).

Na cultura do rabanete, a prática da adubação mineral com micronutrientes tem mostrado ganhos de produtividade em diversos tipos de solos brasileiros. Dentre os micronutrientes, B e Zn são aqueles que mais têm limitado a produção das plantas.

## 2 OBJETIVOS

Para aplicação de turfas no sentido de melhor rendimento agrícola e menor impacto ambiental, são necessários estudos de interações entre espécies metálicas e matéria orgânica do solo. Assim neste trabalho foram estudadas essas interações, com os seguintes objetivos específicos:

- caracterizar físico-quimicamente e estruturalmente as amostras de turfa e as substâncias húmicas extraídas dessas matrizes;
- determinar a capacidade de complexação de espécies metálicas (Cu, Mg, Ca, Zn, Fe e Mn) pelas SH extraídas das amostras de turfa;
- determinar as constantes de troca entre espécies metálicas (adicionadas sob condições controladas) e espécies metálicas originalmente complexadas às SH;
- avaliar o fornecimento de nitrogênio e zinco pelas amostras de turfa para a cultura do milho;
- avaliar o fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfa para a cultura do rabanete.

### 3 EXPERIMENTAL

Toda água utilizada foi purificada em sistema desionizador de água (Direct-Q – Millipore), até apresentar condutividade  $0,054 \mu\text{S cm}^{-1}$  a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ .

#### 3.1 Limpeza de vidraria

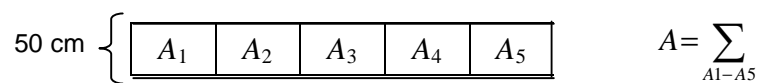
A limpeza da vidraria foi feita com vapor de ácido nítrico concentrado, segundo procedimento proposto por TSCHÖPEL *et al.* (1980) conforme ilustra a Figura 2. Neste caso, a vidraria é colocada com o fundo para cima em um suporte de vidro acoplado dentro de um béquer de 5 litros contendo cerca de 300 mL de ácido nítrico concentrado e tampado com vidro de relógio. O béquer é colocado em chapa de aquecimento e deixado em refluxo por, no mínimo, duas horas. Em seguida, os frascos são exaustivamente enxaguados com água desionizada. Alternativamente, a vidraria é lavada duas ou três vezes com água desionizada para tirar o excesso de ácido e repete-se o procedimento de refluxo substituindo-se o ácido nítrico por água desionizada. O ácido nítrico geralmente pode ser utilizado duas a três vezes e, então, descartado.



**Figura 2.** Sistema de limpeza de vidraria.

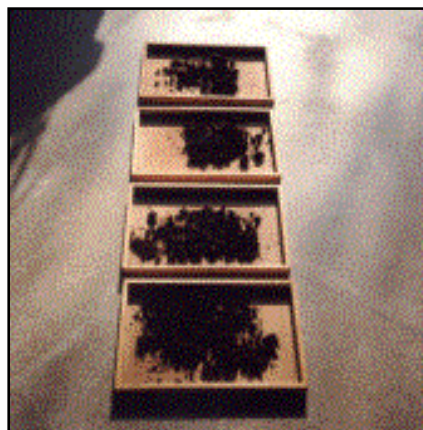
### 3.2 Coleta e preparação das amostras

Foram feitas duas coletas, a primeira no distrito de Taquaral (município de Ribeirão Preto–SP) e a segunda no município de São Simão–SP, onde foram coletadas duas amostras: (i) turfa in-natura e (ii) turfa tratada. As amostras referentes à segunda coleta (i – ii) são comercializadas por uma empresa de Jardinópolis–SP. O esquema mostrado na Figura 3 ilustra o procedimento de amostragem na profundidade de 50 cm, onde amostras simples  $A_1$ - $A_5$  foram coletadas e após mistura, formaram amostra composta A.



**Figura 3.** Esquema ilustrativo do procedimento utilizado na coleta das amostras de turfa.

As amostras compostas foram transferidas para bandejas de madeira e após a secagem ao ar (Figura 4), passadas em peneiras plásticas com abertura de 2 mm.



**Figura 4.** Secagem ao ar das amostras de turfa.

### 3.3 Caracterização físico-química e estrutural das amostras

#### 3.3.1 Teor de matéria orgânica nas amostras de turfa

O teor de matéria orgânica foi determinado por gravimetria, calcinando aproximadamente 10,0 g de amostra em mufla a 750 °C por 4 horas, considerando a média de três medidas. A matéria inorgânica foi considerada como sendo o resíduo final de calcinação (GRIFFITH & SCHNITZER, 1975; ROSA *et al.*, 2000) e os resultados corroboraram com determinações feitas por análise termogravimétrica.

#### 3.3.2 Análise para fins de fertilidade

Fósforo, cálcio, magnésio, potássio, acidez potencial (H + Al), capacidade de troca catiônica (CTC) e a saturação de bases foram determinados nas amostras de turfas conforme procedimento descrito por RAIJ *et al.* (2001):

*Fósforo*: determinado por extração com resina trocadora de íons. A solução formada por  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0,8 mol L<sup>-1</sup> + HCl 0,2 mol L<sup>-1</sup> foi usada como extratora após a troca iônica. Em seguida, diluíram-se 4 mL do extrato com 16 mL da solução de molibdato de amônio ( $8,5 \cdot 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) e após 15 minutos fizeram-se as leituras em espectrofotômetro a 720 nm.

*Cálcio, magnésio e potássio*: foram determinados por espectrometria de absorção atômica.

*Acidez potencial*: foi determinada potenciométricamente com solução tampão SMP, a qual consiste numa mistura de *p*-nitrofenol, trietanolamina (0,5 % v/v), cromato de potássio, acetato de cálcio e cloreto de cálcio.

*Capacidade de troca catiônica*: determinada pela soma da saturação de bases com as concentrações de hidrogênio e alumínio.

*Saturação de bases*: determinada pela soma das concentrações de Ca, Mg e K.

#### 3.3.3 Análise elementar

A análise elementar (C, H, N, O) foi feita em equipamento Thermo Finigan Flash EA1112. Carbono, hidrogênio e nitrogênio foram determinados pelo método da combustão e oxigênio pelo método da pirólise.

### *3.3.4 Espectroscopia na região do infravermelho*

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos a partir de pastilhas preparadas com brometo de potássio (seco a 120°C) e amostras de turfas. As pastilhas foram obtidas submetendo-se essa mistura à pressão de 10 t cm<sup>-2</sup> em pastilhador de 14mm de diâmetro. As medidas foram feitas utilizando-se espectrômetro NICOLET, modelo Impact 400 (região de 400 a 4000 cm<sup>-1</sup>).

### *3.3.5 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear <sup>13</sup>C*

Os experimentos foram feitos num espectrômetro Bruker Avance AV 300 MHz. Os espectros foram obtidos utilizando a técnica CPMAS (polarização cruzada com rotação no ângulo mágico), nas seguintes condições: frequência de rotação de 13000 Hz, tempo de reciclagem de 2 s, tempo de contato de 1 ms e tempo de aquisição de 30 ms com 4000 scan. A sequência de pulsos aplicada foi feita para atingir a condição de Hartmann-Hann, às altas velocidades de rotação.

### *3.3.6 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear ordenada por difusão (DOSY-RMN)*

Os experimentos foram feitos num espectrômetro Bruker Avance AV 400 MHz, operado na frequência protônica de 400,13 MHz. Todos os espectros foram elaborados pelo software Bruker Topspin 1.3. 10 mg das amostras previamente liofilizadas foram dissolvidas em 1,0 mL de água deuterada e foram transferidas para tubos de quartzo de 5mm e analisadas conforme procedimento descrito por ŠMEJKALOVÁ & PICCOLO (2008).

### *3.3.7 Cromatografia por exclusão de tamanho – HPSEC*

O sistema utilizado consistiu de uma bomba peristáltica (Shimadzu LC-10AD VP), injetor Rheodyne equipado com loop de amostragem de 100 µL e detector UV-Vis (Perkin Elmer LC-295) com comprimento de onda ajustado em 280 nm. Foram utilizadas coluna e pré coluna Biosep SEC-C-2000 (Phenomenex), mantidas a temperatura de 30 °C e fluxo de eluição de 0,6 mL min<sup>-1</sup>. Tampão fosfato foi usado como fase móvel e as amostras de SH em estudo foram previamente tituladas a pH 7,2.

Polissacarídeos de massas moleculares conhecidas (5,8, 12,2, 23,7, 48, 100 e 186 kD) foram usados como padrões para curva de calibração.

Os cálculos das massas moleculares (MM) foram feitos de acordo com o método descrito por YAU *et al.* (1979), o qual está baseado na seguinte equação:

$$MM = \frac{\sum_{i=1}^N h_i (M_i)}{\sum_{i=1}^N h_i}$$

onde:

$MM$  = massa molecular;

$h_i$  = altura do cromatograma de cada amostra no volume  $i$  de eluição.

### 3.3.8 Análise granulométrica das amostras de turfa

Utilizou-se o método de pipetagem, o qual está baseado na lei de Stockes e tem como princípio fundamental que pequenas partículas decantam com velocidades constantes em água ou outros fluídos (SUGUIO, 1973; BARELLI, 1979). Mediram-se 50,0 g da amostra, adicionaram-se 30,0 mL de água desionizada e 1,0 mL de solução de hidróxido de amônio concentrado para desfloculação. Transferiu-se o líquido sobrenadante para proveta de 1000 mL e o sólido resultante para um almofariz, submetendo-o a desagregação com pistilo de borracha. Após a maior desagregação possível, transferiu-se para proveta e completou-se o volume com água desionizada.

Agitou-se a coluna por cerca de 30 segundos e iniciou-se a pipetagem (Figura 5) transferindo-se as alíquotas para formas de alumínio, previamente taradas e secou-se em estufa a 60 °C.



**Figura 5.** Procedimento de pipetagem das amostras de turfa.

Ao final de cada série de pipetagem, transferiu-se todo o material que sobrou da coluna para funil adaptado com entrada de água por baixo e fluxo contínuo (Figura 6). Fez-se a lavagem da areia, até que esta se mostrasse completamente livre da argila. Após a lavagem, a areia foi seca em estufa a 60 °C, passada por 10 minutos em coluna constituída de peneiras com granulometrias variando entre 1,41 mm a 0,062 mm e pesou-se a areia retida em cada peneira.



**Figura 6.** Procedimento de lavagem com água do material restante na proveta.

### 3.4 Extração das substâncias húmicas

Para extração das substâncias húmicas utilizou-se a metodologia recomendada pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas – IHSS. Em 500,0g de turfa, adicionou-se solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> na razão 1:10 (m/v) e deixou-se a mistura sob agitação mecânica por 4 horas no equipamento “Jar Test” – JT 102, sob atmosfera de nitrogênio. Centrifugou-se a mistura a 18000 g por 30 min, separou-se o sobrenadante colocando-o para secar em estufa com renovação de ar. A Figura 7 ilustra o equipamento utilizado na extração das substâncias húmicas de turfa.



**Figura 7.** Equipamento utilizado na extração das substâncias húmicas de amostras de turfas coletadas no município de São Simão-SP e no distrito de Taquaral-SP.

### 3.5 Purificação das substâncias húmicas

Impurezas inorgânicas (p.e. sais, espécies metálicas, etc.) e orgânicas (p.e. carboidratos, lipídeos etc.) geralmente estão presentes nas SH extraídas (WERSHAW *et al.*, 1993). Para que esses contaminantes não influenciem nos resultados referentes às propriedades e características das SH, necessita-se da purificação do material, a qual foi feita por diálise.

#### 3.5.1 Preparação das membranas de diálise

O procedimento utilizado para a preparação das membranas de diálise (SAMLESS CELL 16 X 100 CLEAR) foi feito como descrito por TOWN *et al.* (1992). Após tratamento por 10

minutos com soluções de  $\text{NaHCO}_3$  2 % (m/v) e  $\text{Na}_2\text{EDTA}$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , as membranas foram lavadas com água ( $65^\circ\text{C}$ ) e quando necessário, estocadas sob refrigeração.

### 3.5.2 Diálise das substâncias húmicas

As SH extraídas das amostras de turfa foram transferidas para membranas de diálise purificadas e em um recipiente, fez-se a imersão em água desionizada. Mergulhou-se o eletrodo de um condutivímetro deixando sob agitação magnética. Substituíam-se a água do sistema até condutividade constante (próxima de  $0,054 \mu\text{S cm}^{-1}$ ). Em seguida transferiram-se as SH para placas de Petri previamente taradas e secou-se em estufa com renovação de ar a  $55^\circ\text{C}$  até massa constante. A Figura 8 ilustra o sistema de diálise utilizado na purificação das substâncias húmicas extraídas das amostras de turfas.

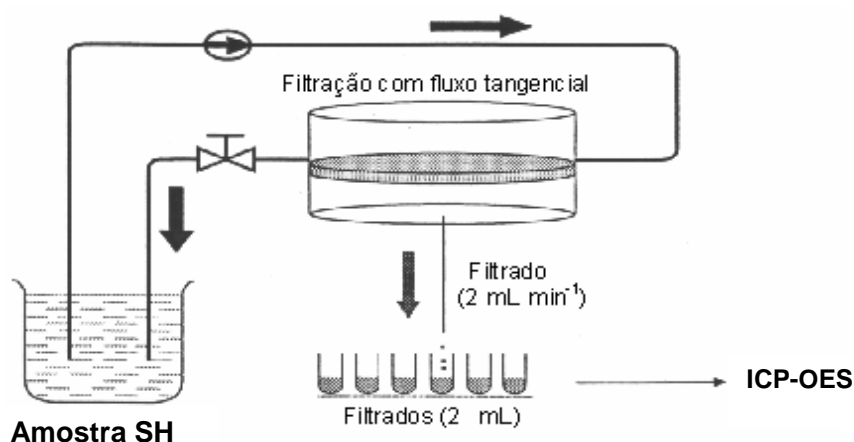


**Figura 8.** Purificação das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfas coletadas no município de São Simão-SP e no distrito de Taquaral-SP.

### 3.6 Ajuste do sistema de ultrafiltração

Fez o ajuste do sistema de UF-FT, utilizado nos estudos de complexação e de labilidade relativa de espécies metálicas por substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa. Utilizou-se o procedimento analítico proposto por BURBA *et al.*

(2001) ilustrado na Figura 9, o qual consiste em um sistema de ultrafiltração tangencial, equipado com membrana de 1 kDa (Gelman Pall-Filtron OMEGA/Celulose regenerada). Esta, impede a passagem das SH e dos complexos SH-Metals com tamanho molecular maior que 1 kDa. Logo, os íons metálicos livres não complexados às SH ou trocados por elas passam através da membrana.



**Figura 9.** Esquema do sistema de ultrafiltração com fluxo tangencial (UF-FT). Condições: sistema de ultrafiltração equipado com membrana polietersulfônica com porosidade de 1 kDa e 47 mm de diâmetro.

Após o término dos experimentos, lavou-se a membrana com solução de HCl ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) para retirada de metais eventualmente adsorvidos e com solução de NaOH ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) para desobstrução dos poros e a manteve em solução de NaOH ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) sob refrigeração, conforme especificações do fabricante.

### 3.7 Determinação do tempo de equilíbrio de complexação

Estudos cinéticos fornecem importantes informações quanto ao tempo mínimo necessário para o íon metálico se complexar às SH. Este parâmetro é indispensável no estudo da capacidade complexante e deve ser determinado para cada metal. Assim,

determinou-se o tempo de equilíbrio de complexação para as espécies metálicas estudadas.

Nestes experimentos utilizou-se o procedimento analítico ilustrado na Figura 9 (UF-FT). Em cada experimento adicionaram-se 3,00 mL da solução de 600 mg L<sup>-1</sup> da espécie metálica à 250,0 mL de uma solução de SH (100 mg L<sup>-1</sup>) e coletaram-se em média, 9 alíquotas de 2,0 mL cada uma. Após determinação da concentração do metal livre por espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido (ICP-OES), determinou-se o tempo de equilíbrio de complexação representando graficamente a concentração de metal livre em função do tempo.

### 3.8 Determinação da capacidade complexante das SH e constantes de troca entre espécies metálicas (adicionadas) e espécies metálicas originalmente complexadas às SH

Para determinação da capacidade complexante e das constantes de troca das SH extraídas das amostras de turfa pelas espécies metálicas também se utilizou o sistema de ultrafiltração tangencial mostrado na Figura 9. As titulações foram feitas em volume de 250 mL de solução de SH 100 mg L<sup>-1</sup> e pH ajustado próximo de 5,5 com solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Antes da adição das soluções de metais deixou-se o sistema bombeando por cerca de cinco minutos para condicionamento da membrana. A seguir filtrou-se a primeira alíquota (cerca de 2 mL), a qual corresponde ao tempo zero, ou seja, antes da adição da solução dos metais. Essa alíquota contém uma pequena quantidade de metal, correspondente à fração livre (não complexada às SH), mais aquela fração ligada originalmente às SH com tamanhos moleculares menores que 1 kDa. Adicionaram-se alíquotas de solução dos metais à solução de SH para atingir concentrações finais 0,24; 0,48; 0,72; 1,32; 1,92; 2,52; 3,72; 4,92; 6,12 e 7,32 mg L<sup>-1</sup> em metais. Após cada adição deixou-se o sistema sob agitação por 10 minutos para atingir o equilíbrio de complexação, o qual foi determinado no item 3.7. Coletaram-se alíquotas (cerca de 2,0 mL) e as concentrações das espécies metálicas livres foram determinadas por ICP-OES (SANTOS *et al.*, 2007).

### 3.9 Determinação das espécies metálicas

As curvas de calibração para a determinação das espécies metálicas foram feitas a partir de diluições de soluções concentradas. Preparou-se uma curva de calibração mista, com seis (06) pontos e concentrações entre 0,10 – 5,00 mg L<sup>-1</sup>.

As concentrações das espécies metálicas foram determinadas por espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido (ICP-OES), *Thermo Jarrel Ash*.

### 3.10 Experimentos em casa de vegetação com milho

Foram conduzidos dois experimentos, como segue:

A – Avaliação do fornecimento de nitrogênio pela turfa;

B – Avaliação do fornecimento de zinco pela turfa, a qual foi enriquecida com este micronutriente.

#### 3.10.1 Solos

Foram utilizados os solos Latossolo Vermelho Distrófico (LVd) típico textura média A moderado e Neossolo Quartzênico (RQ) Órtico típico, classificados segundo EMBRAPA (1999). Foram coletados na profundidade de 0-20 cm nos municípios de Jaboticabal-SP e São Carlos-SP, respectivamente. As amostras foram secas ao ar, passadas em peneira com abertura de malha de 6mm. O solo LVd foi utilizado no experimento A (avaliação do fornecimento de nitrogênio pela turfa) e o solo RQ foi utilizado no experimento B (avaliação do fornecimento de zinco pela turfa enriquecida com este micronutriente). Os solos foram incubados por um período de 20 dias com calcário (experimento A) e com CaCO<sub>3</sub> e MgCO<sub>3</sub> (experimento B) para correção do pH e posteriormente foram secos ao ar (Figura 10).



**Figura 10.** Secagem das amostras de solo LVd e RQ após incubação com calcário e  $\text{CaCO}_3 + \text{MgCO}_3$ , respectivamente.

As turfas do experimento B foram incubadas com Zn ( $\text{ZnSO}_4$ ) por um período de 20 dias, de modo a alcançar a concentração de  $1 \text{ kg ha}^{-1}$  de Zn e as turfas do experimento A foram utilizadas sem que houvesse esse enriquecimento. As amostras de turfa utilizadas são aquelas em estudo neste Projeto: 01=Taquaral-SP; 02=São Simão-SP (in-natura) e 03=São Simão-SP (tratada).

No experimento B, foi selecionado o micronutriente Zn para enriquecimento das amostras de turfa, pois é um nutriente limitante da produção desta cultura.

### **3.10.2 Delineamento e tratamentos**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições e esquema fatorial  $5 \times 3 \times 3$  (cinco doses de turfa, três tipos de turfa e três repetições), totalizando 45 vasos.

Para cada experimento (A e B) foram feitas superfícies de resposta mineral, ou seja, sem que houvesse turfa como substrato, como segue:

Experimento A: esquema fatorial  $5 \times 4$  (cinco doses de nitrogênio mineral e quatro repetições), totalizando 20 vasos.

**Experimento B:** esquema fatorial 5x4 (cinco doses de zinco, sem ser adicionado às amostras de turfa e quatro repetições), totalizando 20 vasos.

Assim, cada experimento consistiu em 65 vasos: 45 utilizando as amostras de turfa como substrato e 20 vasos da superfície de resposta.

As doses de turfa utilizadas nos experimentos foram 0, 13, 27, 53 e 80 g vaso<sup>-1</sup>, equivalentes a 0, 15, 30, 60 e 90 t ha<sup>-1</sup>, considerando-se as densidades do LVd e RQ e o hectare com 20 cm de profundidade.

As doses de nitrogênio mineral da superfície de resposta do experimento A foram 0; 35; 70; 140 e 210 mg N kg<sup>-1</sup>, utilizando nitrato de amônio como fonte.

As doses de zinco da superfície de resposta do experimento B foram 0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg Zn kg<sup>-1</sup>, utilizando sulfato de zinco como fonte.

Todos os vasos do experimento A receberam adubação constante, como segue:

- fósforo: 150 mg P kg<sup>-1</sup>;
- potássio: 120 mg K kg<sup>-1</sup>;
- zinco: 2 mg Zn kg<sup>-1</sup>;
- boro: 0,5 mg B kg<sup>-1</sup>.

Todos os vasos do experimento B também receberam adubação constante, como segue:

- fósforo: 150 mg P kg<sup>-1</sup>;
- potássio: 120 mg K kg<sup>-1</sup>;
- boro: 0,5 mg B kg<sup>-1</sup>;
- nitrogênio: 140 mg N kg<sup>-1</sup>.

Os fertilizantes foram homogeneizados ao volume total do solo, na forma de solução, exceto o fósforo, o qual foi aplicado na forma sólida (pulverizado) e foram incubados por um período de 10 dias (Figura 11).



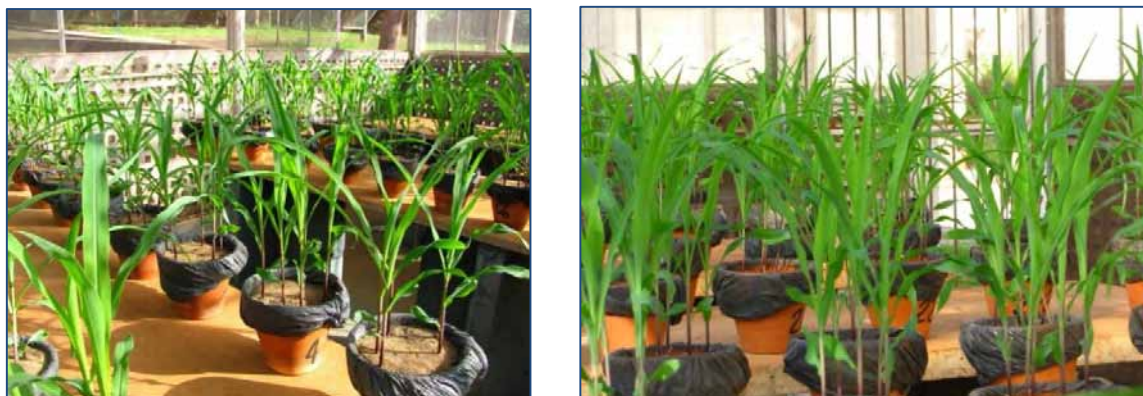
**Figura 11.** Incubação da mistura solo + turfa + fertilizante por um período de 10 dias.

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação (Figura 12), utilizando como planta teste o milho (DOW 8480).



**Figura 12.** Casa de vegetação utilizada nos experimentos, na UNESP-Jaboticabal.

Cada vaso do experimento A (fornecimento de N) continha 2,0 kg de solo e os vasos do experimento B (fornecimento de Zn) continham 2,5 kg de solo. Em cada vaso foram semeadas 10 sementes e 5 dias após emergência das plantas foi feito desbaste, permanecendo as 5 plantas mais vigorosas, conforme mostrado na Figura 13.



**Figura 13.** Experimento com o milho após desbaste.

O experimento de cultura foi feito por 35 dias após emergência das plantas e nesse período experimental, a umidade do solo foi mantida a 80% da capacidade de retenção de água através de regas diárias (no mínimo duas vezes ao dia) com água destilada.

Após os 35 dias de emergência foi feita colheita da parte aérea das plantas cortando-as rente ao solo. O material vegetal foi lavado em água com detergente, água corrente, solução de ácido clorídrico  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e água destilada, nesta sequência e seco em estufa com circulação forçada de ar a  $65^\circ\text{C}$  até massa constante.

### 3.11 Experimentos em casa de vegetação com rabanete

Após o término dos experimentos com o milho, os conteúdos dos vasos do experimento A (Avaliação do fornecimento de nitrogênio pela turfa) foram mantidos para a plantação de outra cultura, a fim de avaliar o efeito residual das doses de turfa aplicadas. Assim, foram utilizadas as mesmas condições experimentais aplicadas à cultura do milho, ou seja, cada experimento consistiu em 65 vasos: 45 utilizando as amostras de turfa como substrato e 20 vasos da superfície de resposta mineral.

Em todos os vasos do experimento A foi refeita adubação potássica de  $120 \text{ mg K kg}^{-1}$ , homogeneizado ao volume total do solo na forma de solução e incubados por um período de 10 dias. Em cada vaso foram semeadas 10 sementes e 5 dias após emergência das plantas foi feito desbaste, permanecendo as 4 plantas mais vigorosas (Figura 14).



**Figura 14.** Experimento com o rabanete após desbaste.

A cultura foi feita por 33 dias após emergência das plantas e nesse período experimental, a umidade do solo foi mantida a 90% da capacidade de retenção de água através de regas diárias (no mínimo duas vezes ao dia) com água destilada.

Após os 33 dias de emergência foi feita colheita das plantas, separando-as em parte aérea e raiz (referente à parte comestível do rabanete). O material vegetal foi lavado em água com detergente, água corrente, solução de ácido clorídrico  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e água destilada, nesta sequência e seco em estufa com circulação forçada de ar a  $65^\circ\text{C}$  até massa constante.

### 3.12 Experimentos em casa de vegetação: análise do material vegetal

Após secagem do material vegetal dos experimentos com milho e rabanete, foram medidas as respectivas massas secas. Posteriormente, as amostras foram trituradas em moinho vegetal (malha 20). Fez-se digestão nitro-perclórica de 300 mg de amostra para determinação de S, P, Zn, Fe, Cu, Mn, K, Ca e Mg. Enxofre e fósforo foram determinados em espectrofotômetro (420 nm), com o método turbidimétrico e fosfovanadomolibdico, respectivamente. Zinco, ferro, cobre, manganês, cálcio e magnésio foram determinados por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e potássio, por espectrofotometria de chama. Boro foi determinado pelo método Azometina-H, com massa de material vegetal igual a 250 mg. Para a determinação de nitrogênio utilizou-se o método do Kjehdal, com digestão sulfúrica de 150 mg de amostra.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Caracterização físico-química das amostras de turfas

A análise da fertilidade de solos tem sido feita para avaliação da disponibilidade de nutrientes para as plantas.

Na Tabela 6 estão apresentados os resultados das análises dos parâmetros de fertilidade (potássio, fósforo, cálcio, magnésio, saturação por bases, soma de bases trocáveis, capacidade de troca catiônica, pH e matéria orgânica) das amostras de turfas coletadas no distrito de Taquaral–SP e no município de São Simão–SP.

**Tabela 6.** Resultados das análises de fertilidade das amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral–SP e no município de São Simão–SP.

Parâmetros	Amostras			
	01	02	03	
	Taquaral–SP	São Simão–SP (in–natura)	São Simão–SP (tratada)	FERRAZ, <i>et al.</i> , 2005
P (mg dm <sup>-3</sup> )	4,0	27	82	8,0
K <sup>+</sup> (mmol dm <sup>-3</sup> )	0,1	2,1	3,0	1,4
Ca <sup>2+</sup> (mmol dm <sup>-3</sup> )	4,0	18	26	170
Mg <sup>2+</sup> (mmol dm <sup>-3</sup> )	2,0	7,0	8,0	7,0
H + Al (mmol dm <sup>-3</sup> )	216	366	207	150
S.B (mmol dm <sup>-3</sup> )	6,0	27	37	178
CTC (mmol dm <sup>-3</sup> )	222	393	244	328
V %	3,0	7,0	15	54
pH	3,6	3,4	4,5	4,4
M.O. (%)	42,44	52,76	54,39	--

Os resultados dos parâmetros analisados na Tabela 6 mostraram que a amostra de turfa tratada coletada em São Simão–SP (amostra 03) possui maior concentração de todos macronutrientes em relação às outras amostras (01 e 02) e os valores determinados são semelhantes com dados da literatura para amostras de turfa (FERRAZ *et al.*, 2005).

A acidez potencial, constituída pela acidez trocável ( $\text{Al}^{3+}$ ) e da residual ( $\text{H}^+$ ), é obtida por extração da turfa com solução tamponada de acetato de cálcio, a pH 7,0, sendo inclusive utilizada para caracterização pedológica de turfas e na avaliação da fertilidade (MALAVOLTA, 1981; RAIJ *et al.*, 2001). Os baixos valores de pH e o elevado teor da acidez potencial estão relacionados ao elevado teor de matéria orgânica, característica das amostras em estudo. Os valores da CTC para as amostras 01 e 02 ( $222$  e  $393 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) também estão associados aos teores de matéria orgânica dessas amostras (42,44 e 52,76 %) e corresponde à capacidade da turfa de adsorver cátions por atração eletrostática, quando o pH é elevado para 7. O complexo de troca de cátions é representado pelo seguinte conjunto de equações:

$$\text{CTC} = \text{SB} + \text{H}^+ + \text{Al}^{3+}$$

$$\text{SB} = \text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^+ + \text{Na}^+$$

$$V = 100 (\text{SB}/\text{CTC})$$

onde, CTC representa a capacidade de troca catiônica, SB a soma de bases trocáveis e V a saturação por bases.

Em comparação com a amostra 02 (*in-natura*), o tratamento comercial feito na amostra de turfa coletada no município de São Simão–SP elevou o pH e diminui o valor da CTC, conforme resultados da Tabela 6.

A saturação por bases corresponde à porcentagem de cargas negativas a pH 7, ocupadas por cátions  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Na}^+$ , a qual é utilizada para classificar solos quanto à fertilidade (RAIJ *et al.*, 2001). Assim, de acordo com estes critérios, os resultados mostrados na Tabela 6 indicam que a amostra de turfa tratada 03 (coletada no município de São Simão–SP) possui maior fertilidade, a amostra 02 (coletada no município de São Simão–SP) fertilidade intermediária, enquanto a amostra 01 coletada em Taquaral–SP apresenta menor fertilidade.

## 4.2 Composição elementar das amostras de turfas

As razões atômicas H/C, C/N e C/O têm sido utilizadas para estimativa do grau de aromaticidade, humificação e oxidação, respectivamente. Na Tabela 7 estão

listados os resultados da composição elementar e razões atômicas H/C, C/N e C/O para amostras de turfas de diferentes regiões e dados da literatura (ROSA, 1998).

**Tabela 7.** Composição elementar (%), razões atômicas H/C e C/N de amostras de turfas coletadas no distrito de Taquaral–SP e município de São Simão–SP.

Amostras	C	H	O	N	H/C	C/N	C/O
<b>01</b> Taquaral–SP	<b>18,05</b>	<b>1,87</b>	<b>16,34</b>	<b>0,24</b>	<b>1,13</b>	<b>86,66</b>	<b>1,47</b>
<b>02</b> São Simão–SP ( <i>in-natura</i> )	<b>28,71</b>	<b>2,61</b>	<b>20,82</b>	<b>0,42</b>	<b>1,09</b>	<b>78,87</b>	<b>1,83</b>
<b>03</b> São Simão–SP ( <i>tratada</i> )	<b>31,17</b>	<b>2,73</b>	<b>22,20</b>	<b>0,38</b>	<b>1,05</b>	<b>95,71</b>	<b>1,87</b>
<i>ROSA, 1998</i>	<b>27,59</b>	<b>4,44</b>	--	<b>1,52</b>	--	--	--

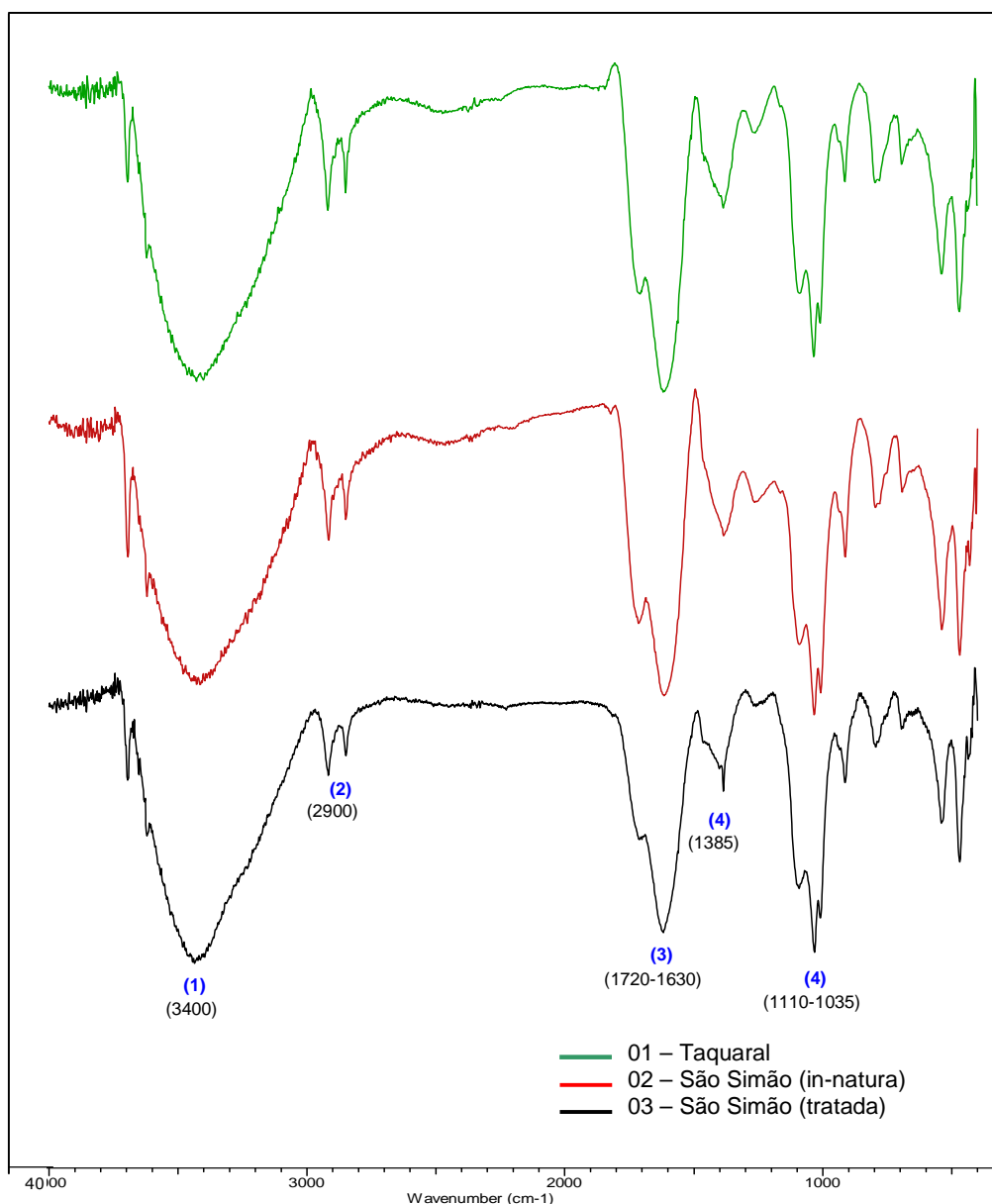
Quanto menor a razão H/C, maior a aromaticidade e quanto maior a razão C/N, maior o estado de humificação do material (STEVENSON, 1994). Devido à menor razão atômica H/C (Tabela 7), a amostra de turfa tratada 03 (coletada no município de São Simão–SP) é caracterizada como mais aromática e a amostra de Taquaral (amostra 01) mais alifática. Pelos resultados obtidos (Tabela 7), pode-se inferir que a amostra 03 é a mais humificada, por apresentar razão atômica C/N mais elevada, enquanto a amostra 02 é a menos humificada.

Em relação ao grau de oxidação, as amostras apresentam estruturas bastante oxidadas, devido à elevada razão atômica C/O e os valores encontrados das razões atômicas estão de acordo com aqueles da literatura para este tipo de amostra (LUA *et al.*, 2000; SCHULZE *et al.*, 2002). De acordo com IBARRA & JUAN (1985), o aumento da razão atômica C/O também indica maior grau de humificação das amostras, corroborando com os dados da razão atômica C/N.

### 4.3 Espectroscopia na região do infravermelho das amostras de turfas

Na Figura 15 estão os espectros obtidos na região do infravermelho para as amostras de turfa. Os espectros apresentam similaridades entre si, caracterizando-se por bandas largas, atribuídas à extensiva superposição de absorções individuais (POPPI e TALAMONI, 1992). As

bandas largas de absorção na região de  $3400\text{ cm}^{-1}$  (1) podem ser atribuídas ao estiramento OH de fenóis ou ácidos carboxílicos e estiramento NH de aminas. Bandas na região de  $2900\text{ cm}^{-1}$  (2) indicam a presença de estiramento CH de grupos alifáticos ( $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ ). As bandas nas regiões de  $1630$  e  $1720\text{ cm}^{-1}$  (3) são devidas a vibrações de carbonilas de grupos carboxilatos ou cetonas. Picos em torno de  $1385\text{ cm}^{-1}$  e bandas na região de  $1035$ - $1100\text{ cm}^{-1}$  (4) estão associados ao estiramento do grupo carboxilato e estiramento CO de álcoois, respectivamente (ARAÚJO *et al.*, 2002).



**Figura 15.** Espectros na região do infravermelho das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfas coletadas no município de São Simão–SP e distrito de Taquaral–SP.

#### 4.4 Ressonância magnética nuclear de carbono 13 das SH extraídas das amostras de turfas

Para caracterização espectroscópica das amostras de SH extraídas de turfas foram utilizadas técnicas de ressonância magnética nuclear.

A técnica de ressonância magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  com polarização cruzada com rotação no ângulo mágico (RMN  $^{13}\text{C}$ -CPMAS) é utilizada para eliminar a interação dipolar (homo e heteronuclear), fazendo a amostra rotacionar em torno de um determinado ângulo, o qual é de  $54^{\circ} 44'$ . Além de eliminar estas interações dipolares, a técnica CPMAS também elimina anisotropias do deslocamento químico e de interações quadrupolares.

Embora a técnica de RMN $^{13}\text{C}$ -CPMAS, não permita identificar diretamente a estrutura das substâncias húmicas, fornece importantes informações sobre os tipos de grupos orgânicos presentes na molécula. Na Tabela 8 estão apresentados os resultados referentes às porcentagens de grupos funcionais com os respectivos deslocamentos químicos, obtidos pelo espectro de RMN $^{13}\text{C}$ . Para cálculo das porcentagens dos grupos de carbono nas estruturas das SH, foram atribuídos os seguintes deslocamentos: 0-45 ppm: carbonos alquílicos; 45-65 ppm: grupos C-O e C-N; 65-90 ppm: carbonos O-alquil; 90-155 ppm: carbonos aromáticos e 155-190 ppm: grupos carboxílicos. As porcentagens obtidas para os carbonos alquílicos e aromáticos foram atribuídas a carbonos hidrofóbicos, enquanto as dos grupos C-O, C-N, O-alquil e carboxílicos foram atribuídas a carbonos hidrofílicos. Assim, as porcentagens dos carbonos não polares e carbonos polares foram utilizadas para calcular índice hidrofóbico (HB) e índice hidrofílico (HI), respectivamente.

Os resultados mostraram diferenças significativas nos conteúdos de carbono atribuídos aos diferentes grupos funcionais das amostras de SH analisadas. Observa-se diferença de 5% (155-190 ppm) referente aos carbonos carboxílicos e essa diferença chega a 57% quando se comparam os valores dos carbonos C-O e C-N (45-65 ppm). Essas diferenças também podem estar associadas às condições de formação das turfas, como por exemplo, material de formação, condições climáticas, vegetação e grau de decomposição (STEVENSON, 1994).

**Tabela 8.** Distribuições relativas de carbono (%) em diferentes deslocamentos (ppm) das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral–SP e no município de São Simão–SP determinadas por RMN  $^{13}\text{C}$  CPMAS.

Amostras / Local de coleta	Deslocamento químico ( $\delta$ ) / atribuições do tipo de $^{13}\text{C}$ (%)					HI	HB	HI/HB
	0-45	45-65	65-90	90-155	155-190			
	Alifáticos	C-O, C-N	O-Alifat	Aromatico	Carboxil			
<b>01</b> Taquaral-SP	20,8	2,9	4,1	61,6	10,5	17,6	82,4	0,21
<b>02</b> São Simão-SP (in-natura)	25,8	4,7	5,4	54,7	9,4	19,5	80,5	0,24
<b>03</b> São Simão-SP (tratada)	28,2	6,7	8,3	46,8	9,9	24,9	75,1	0,33

A razão HI/HB fornece uma estimativa da capacidade das SH em interagir com compostos de diferentes polaridades. Assim, alta razão HI/HB representa maior afinidade de interação das SH com compostos de maior polaridade (PICCOLO *et al.*, 2001). Assim, a amostra de SH extraída da amostra tratada coletada no município de São Simão-SP (amostra 03) é classificada como mais hidrofílica, enquanto as outras duas amostras (amostra 01 e 02) possuem praticamente a mesma razão HI/HB.

De acordo com os dados da Tabela 8, existem correlações (diretas e inversas) entre as porcentagens dos diferentes grupamentos funcionais das moléculas de SH (exceto grupos carboxílicos) e alguns parâmetros de fertilidade (macronutrientes) e também com as composições elementares das amostras de turfa (exceto N).

#### 4.5 Ressonância magnética nuclear (DOSY-RMN) das SH extraídas das amostras de turfas

A técnica DOSY-RMN fornece os valores de  $D$  (coeficientes de difusão), os quais são inversamente proporcionais à massa molar média-MM dos diferentes grupos

funcionais. Assim, os resultados da Tabela 9 mostram os maiores coeficientes de difusão para a amostra 03, indicando menor nível de agregação das moléculas aromáticas, alquílicas e dos grupos C-O, C-N desta SH.

**Tabela 9.** Coeficientes de difusão ( $D$ ) e massas molares médias (MM) das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP determinadas por DOSY-RMN.

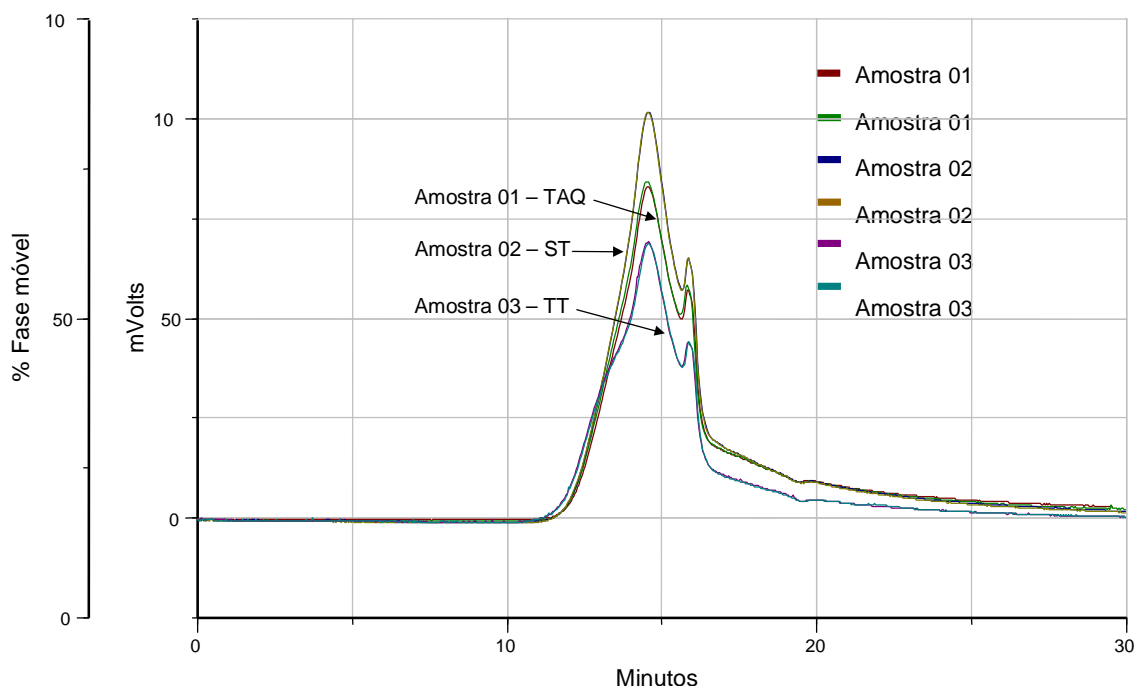
Amostras / Local de coleta	9,47-5,12 (ppm) Aromáticos		4,32-3,04 (ppm) C-O, C-N		3,04-0 (ppm) Alquílicos	
	$D$ ( $m^2 s^{-1} \cdot 10^{-10}$ )	MM (Da)	$D$ ( $m^2 s^{-1} \cdot 10^{-10}$ )	MM (Da)	$D$ ( $m^2 s^{-1} \cdot 10^{-10}$ )	MM (Da)
	<b>01</b> Taquaral-SP	0,948	7726	1,159	5067	1,451
<b>02</b> São Simão-SP (in-natura)	1,114	5506	1,380	3512	1,287	4067
<b>03</b> São Simão-SP (tratada)	1,702	2261	1,609	2545	2,070	1499

Esses resultados corroboram com as determinações feitas por RMN  $^{13}C$ , onde a amostra 03 foi caracterizada como mais hidrofílica, ou seja, maior razão HI/HB.

Os níveis de agregação das amostras de SH deste trabalho são maiores do que aqueles determinados por MORRIS *et al.* (1999) e também por LEAD *et al.* (2000).

#### 4.6 Cromatografia por exclusão de tamanho – HPSEC das SH extraídas das amostras de turfás

Os cromatogramas com as distribuições de tamanho molecular das amostras de SH estudadas são mostradas na Figura 16 e utilizando o método descrito por YAU *et al.* (1979) calcularam-se as massas molares das SH extraídas das amostras de turfa (Tabela 10). Esses cromatogramas mostram a absorção dos grupos cromóforos das SH no ultravioleta ( $\lambda = 280$  nm) em função do tempo.



**Figura 16.** Cromatogramas de exclusão por tamanho (HPSEC) das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP.

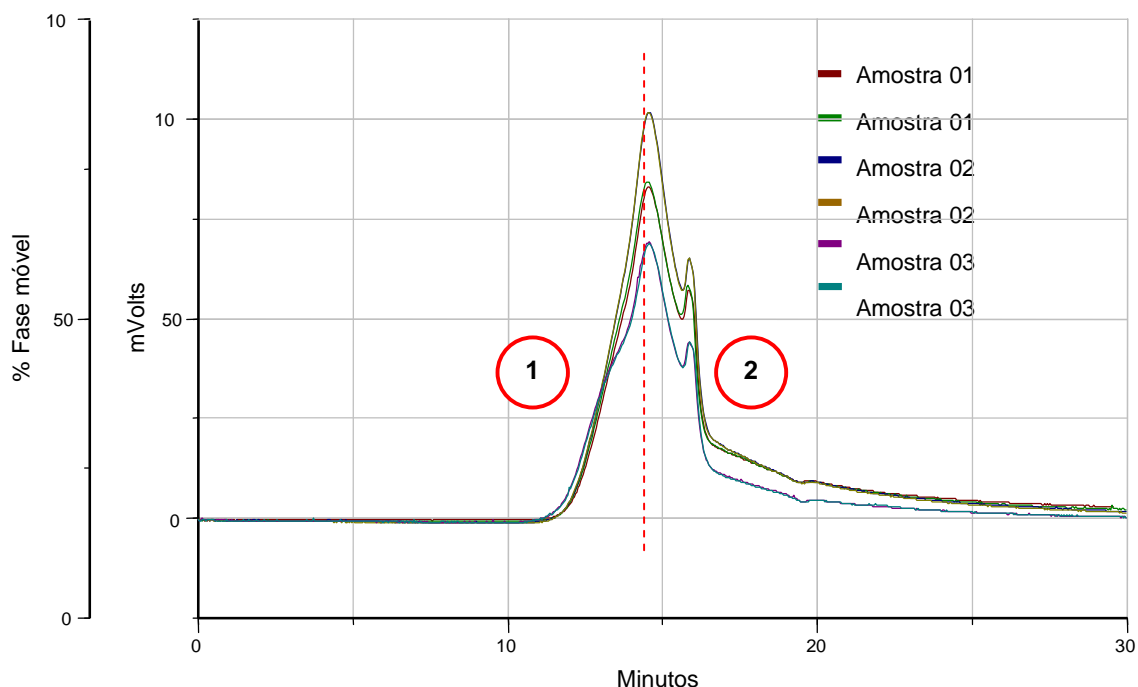
**Tabela 10.** Massas molares médias das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP determinadas por cromatografia por exclusão de tamanho – HPSEC.

Amostras / Local de coleta	Massa molar média (Da)
<b>01</b> Taquaral-SP	8205
<b>02</b> São Simão-SP (in-natura)	7393
<b>03</b> São Simão-SP (tratada)	9198

As amostras de SH apresentaram dois picos principais com tempos de retenção de 14,5 e 15,8 minutos. Baseado nos cromatogramas da Figura 16 observa-se que a amostra tratada coletada no município de São Simão-SP (amostra 03) começa a eluir

antes das amostras 01 e 02, mostrando que esta amostra 03 possui compostos com maior nível de agregação, resultando num valor de MM maior. Esses dados corroboram com os resultados de RMN  $^{13}\text{C}$ , onde a amostra 03 tem a maior porcentagem de grupos alifáticos, os quais podem se auto associar em meio aquoso por efeitos hidrofóbicos, reduzindo assim a energia de solvatação em solução. Assim, essa estabilização termodinâmica cria uma estrutura supramolecular com aparente massa elevada, resultando em menor tempo de eluição na coluna por exclusão de tamanho (PICCOLO *et al.*, 2002).

No entanto, aplicando testes estatísticos de variância, observa-se que não existem diferenças significativas entre esses valores de MM determinados, no intervalo de 95% de confiança. Assim, decidiu-se verificar a similaridade ou diferença das partes iniciais dos cromatogramas, as quais são referentes ao compostos mais agregados. Com isso fez-se a separação dos cromatogramas em duas regiões (1 e 2), conforme ilustrado na Figura 17 e calcularam-se separadamente os valores de MM de cada uma delas. Os resultados são mostrados na Tabela 11.



**Figura 17.** Cromatogramas de exclusão por tamanho (HPSEC) das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP.

**Tabela 11.** Massas molares médias das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP determinadas por cromatografia por exclusão de tamanho – HPSEC.

Amostras/Local de coleta	Massa molar média (Da)	
	Região 1	Região 2
<b>01</b> Taquaral-SP	23137	3919
<b>02</b> São Simão-SP ( <i>in-natura</i> )	22519	3958
<b>03</b> São Simão-SP ( <i>tratada</i> )	24779	4028

Apesar da diferença entre os cromatogramas, quando foram aplicados os testes de variâncias nos dados da Tabela 11 também observou-se que não existem diferenças significativas nos valores de MM das amostras estudadas, no intervalo de 95% de confiança.

Quando foram determinadas as massas molares médias das amostras de SH por RMN-DOSY, a amostra 03 foi classificada com menores níveis de agregação e na cromatografia por exclusão de tamanho, HPSEC, a amostra 03 apresentou maior valor de MM (9198 Da). No entanto, a técnica HPSEC não faz distinção entre o nível de agregação de cada grupamento funcional, como é o caso da técnica DOSY-RMN, faz apenas a determinação da massa molar média da amostra total.

#### 4.7 Análises granulométricas das amostras de turfás

Na Tabela 12 estão os resultados das análises granulométricas feitas nas turfás coletadas no município de São Simão–SP e no distrito de Taquaral–SP e mostram a distribuição dos tamanhos de partículas da fração mineral.

**Tabela 12.** Análise granulométrica das amostras de turfas coletadas no município de São Simão–SP e no distrito de Taquaral–SP e dados da literatura.

Amostras		Areia / %	Silte / %	Argila / %
<b>01</b>	Taquaral–SP	83,50	14,12	2,50
<b>02</b>	São Simão–SP (in–natura)	80,17	15,24	4,59
<b>03</b>	São Simão–SP (tratada)	80,08	13,10	6,82
	<i>MESSIAS, 2004</i>	67,00	28,00	5,00
	<i>MARTINS et al., 1999</i>	22,88	33,33	43,78

Os resultados mostram que as amostras de turfas são arenosas, com teores variando entre 80% e 83%. Apesar de regiões distintas, observa-se semelhança na composição mineralógica entre as amostras em estudo e com os dados obtidos por MESSIAS, 2004. No entanto, há diferenças significativas quando comparadas com outra amostra da literatura (MARTINS *et al.*, 1999). Essas diferenças podem estar associadas às condições de formação das turfas, como por exemplo, material de formação, condições climáticas, vegetação e grau de decomposição (STEVENSON, 1994).

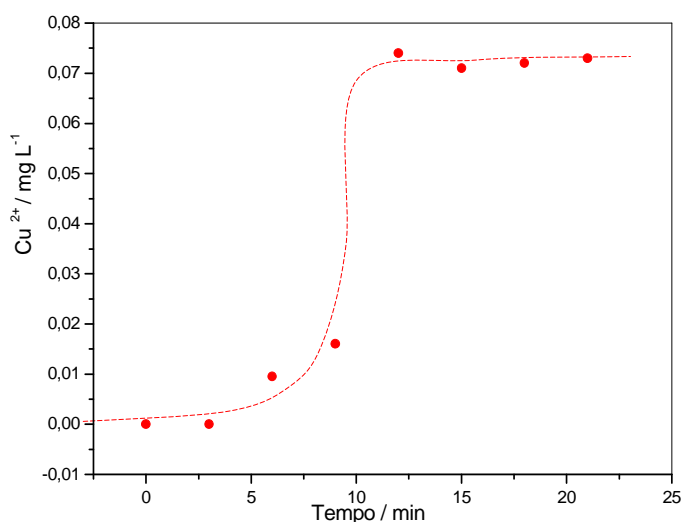
Assim, pode-se inferir que o tamanho das partículas da fração mineral das turfas não influencia os parâmetros de fertilidade

#### 4.8 Determinação do tempo de equilíbrio de complexação das SH extraídas das amostras de turfas

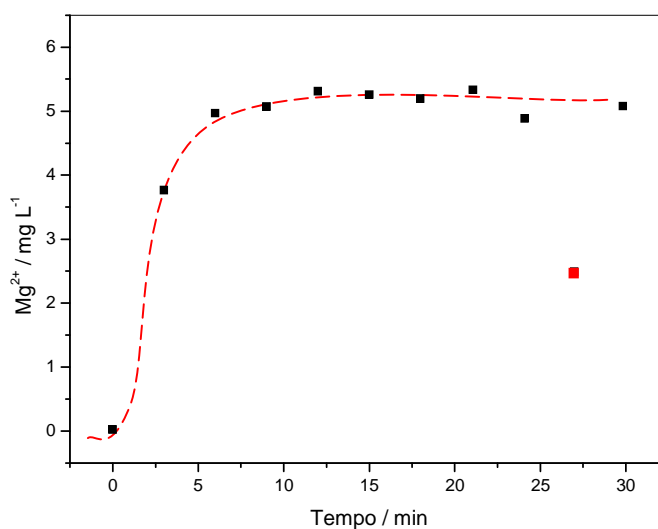
A principal vantagem da utilização do sistema de ultrafiltração é ser mais versátil para aplicações quanto à natureza do íon metálico e do ligante (BUFFLE & STAUB, 1984). Além disso, os limites de detecção para os metais são limitados às sensibilidades das técnicas empregadas na determinação dos mesmos (VAN den BERGH *et al.*, 2001). Comparada com outras técnicas de separação, uma vantagem da UF é de não ser demorada como a diálise e nem perturbar o equilíbrio de complexação como a cromatografia de troca iônica (NIFANTEVA *et al.*, 1999).

Os experimentos mostraram o mesmo comportamento cinético de complexação das amostras de substâncias húmicas por íons  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ ,

onde cerca de 10 minutos foram necessários para atingir o equilíbrio de complexação, conforme exemplificado nas Figuras 18 e 19 para os íons cobre e magnésio, respectivamente. Esses tempos estão de acordo com aqueles determinados por SANTOS *et al.* (2007), quando estudaram a interação entre SH e diferentes espécies metálicas.



**Figura 18.** Cinética de complexação de íons  $\text{Cu}^{2+}$  por substâncias húmicas extraídas das amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP. Condições: pH 5,5 e  $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .

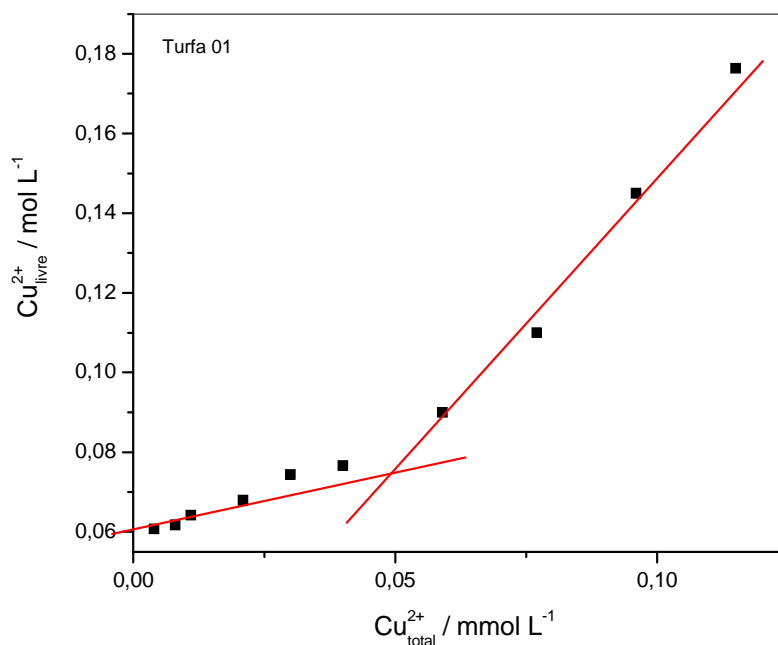


**Figura 19.** Cinética de complexação de íons  $\text{Mg}^{2+}$  por substâncias húmicas extraídas das amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP. Condições: pH 5,5;  $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .

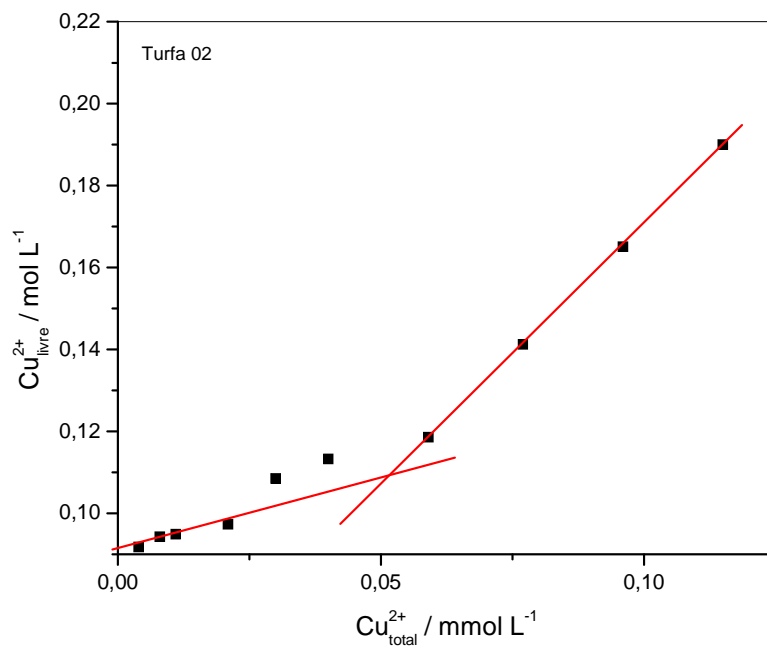
#### 4.9 Determinação da capacidade complexante das SH por espécies metálicas

Na determinação da capacidade complexante das SH por espécies metálicas (Cu, Mg, Ca, Mn, Zn e Fe), foram feitas titulações utilizando-se o sistema de ultrafiltração tangencial. Durante a titulação, primeiro ocorre saturação dos sítios ligantes mais fortes e depois a saturação dos mais fracos.

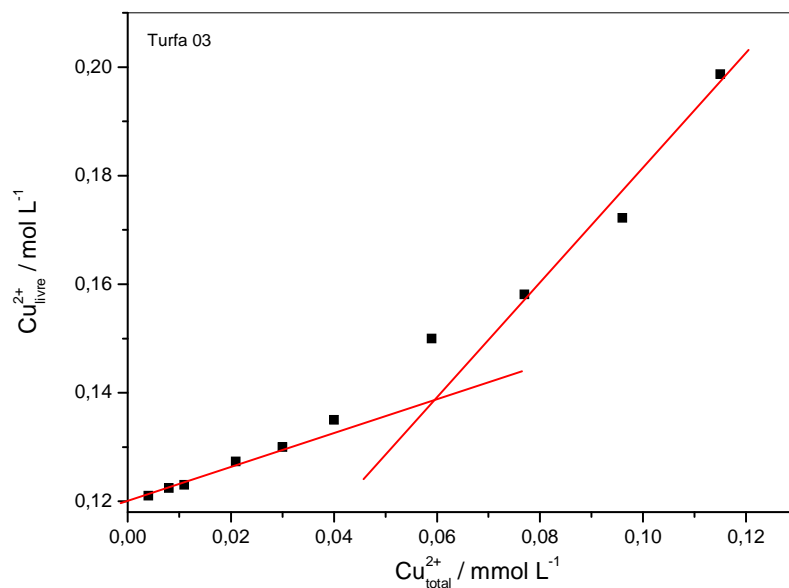
As Figuras 20-37 mostram as curvas utilizadas na determinação das capacidades complexantes das SH, onde são representadas graficamente a concentração da espécie metálica livre em função da concentração da espécie metálica total ( $\text{mmol L}^{-1}$ ). As curvas apresentam uma mudança de inclinação e a capacidade de complexação é obtida pela intersecção das duas seções lineares do gráfico (EINAX & KUNZE, 1996).



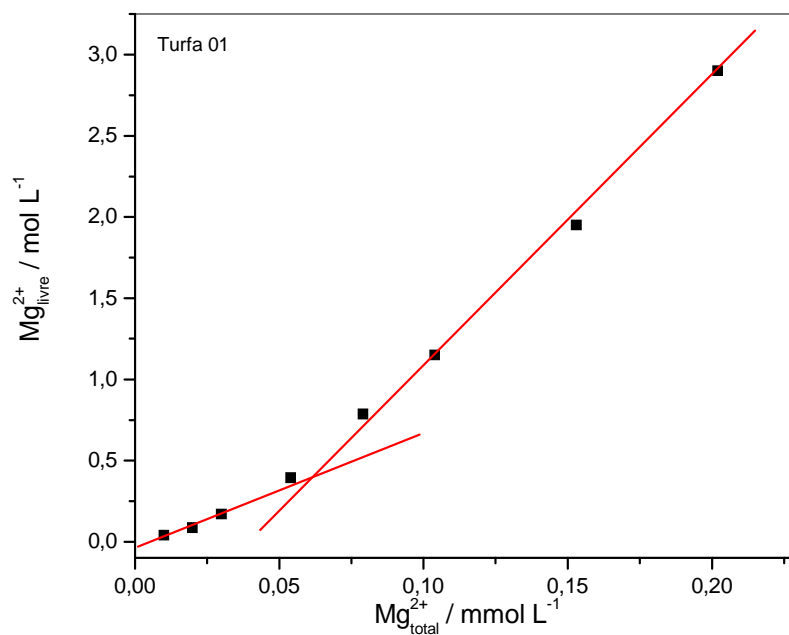
**Figura 20.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP por íons  $\text{Cu}^{2+}$ . Condições: pH 5,5;  $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .



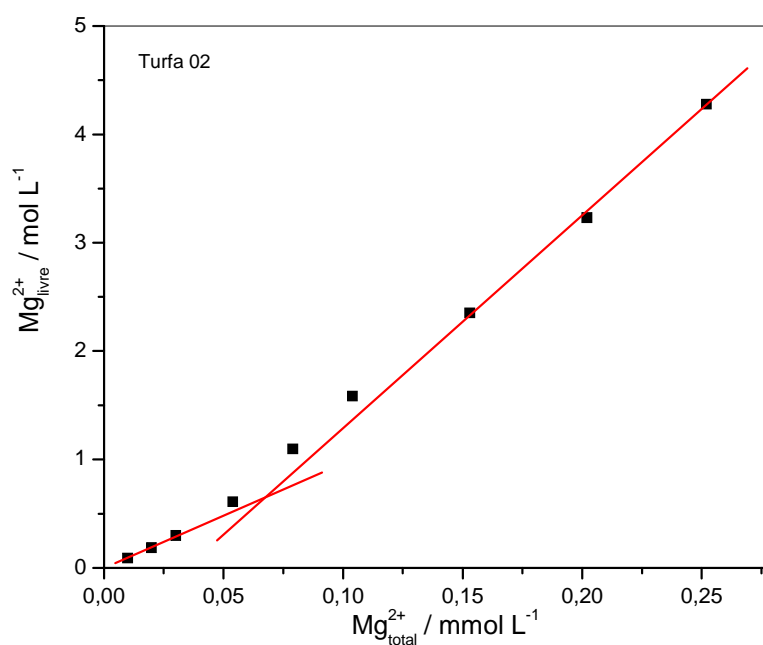
**Figura 21.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (in-natura) coletadas no município de São Simão-SP por íons  $\text{Cu}^{2+}$ . Condições: pH 5,5;  $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .



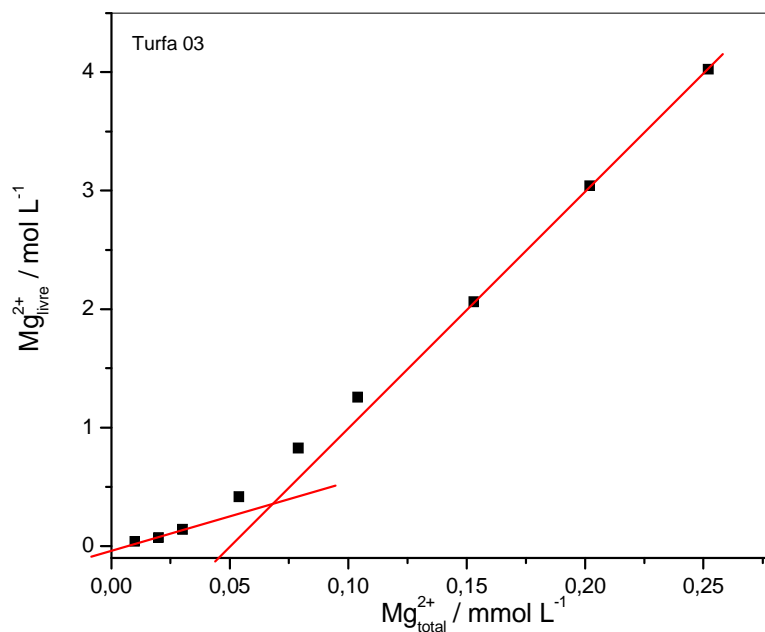
**Figura 22.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (tratada) coletadas no município de São Simão-SP por íons  $\text{Cu}^{2+}$ . Condições: pH 5,5;  $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .



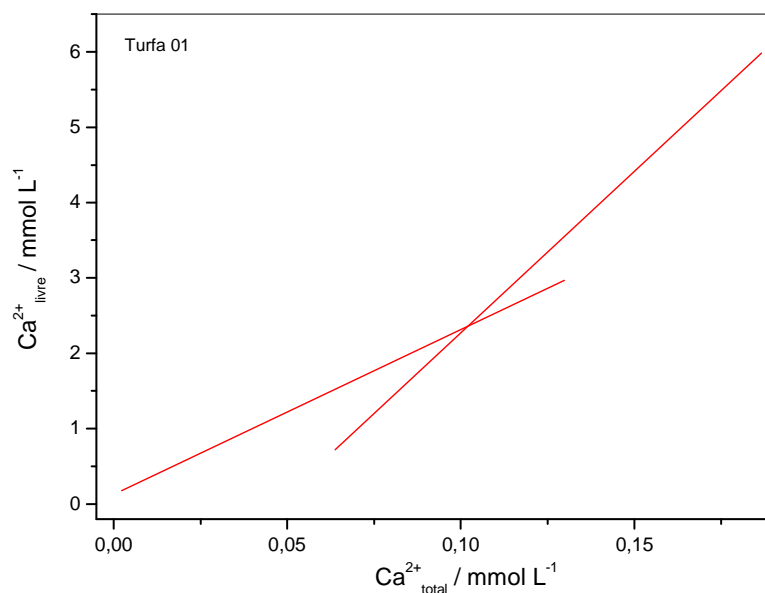
**Figura 23.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP por íons  $Mg^{2+}$ . Condições: pH 5,5;  $[SH] = 100 mg L^{-1}$ .



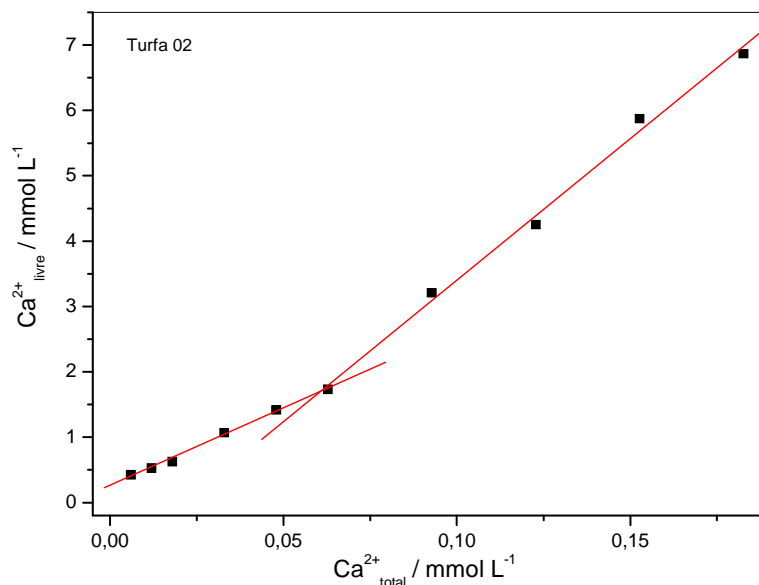
**Figura 24.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (in-natura) coletadas no município de São Simão-SP por íons  $Mg^{2+}$ . Condições: pH 5,5;  $[SH] = 100 mg L^{-1}$ .



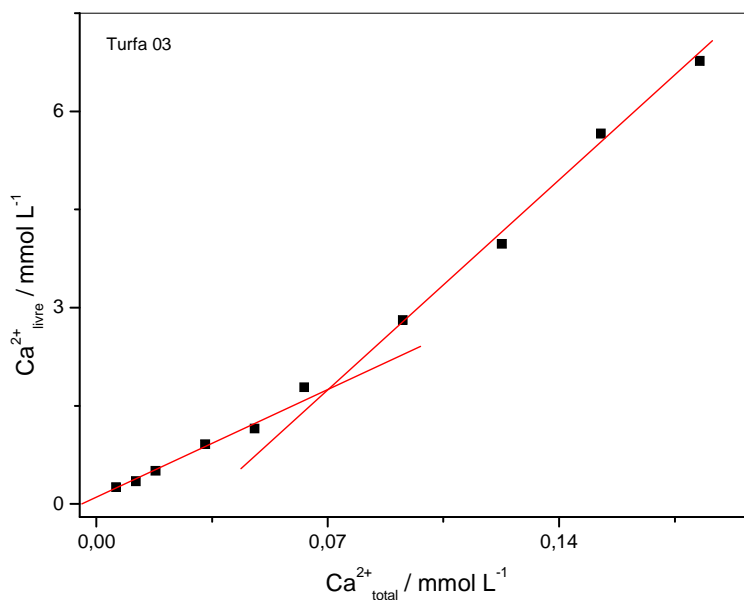
**Figura 25.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (tratada) coletadas no município de São Simão-SP por íons  $Mg^{2+}$ . Condições: pH 5,5;  $[SH] = 100 mg L^{-1}$ .



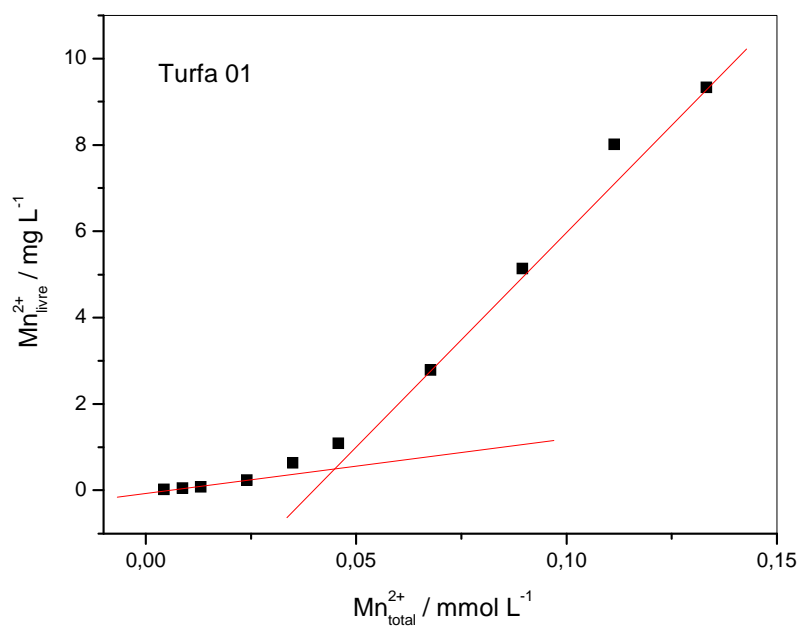
**Figura 26.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP por íons  $Ca^{2+}$ . Condições: pH 5,5 e  $[SH] = 100 mg L^{-1}$ .



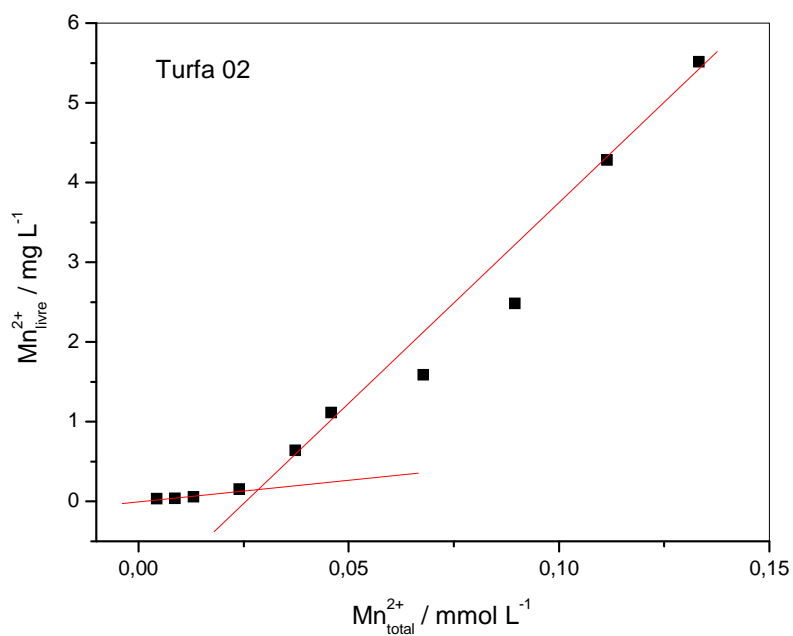
**Figura 27.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (in-natura) coletadas no município de São Simão-SP por íons  $\text{Ca}^{2+}$ . Condições: pH 5,5;  $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .



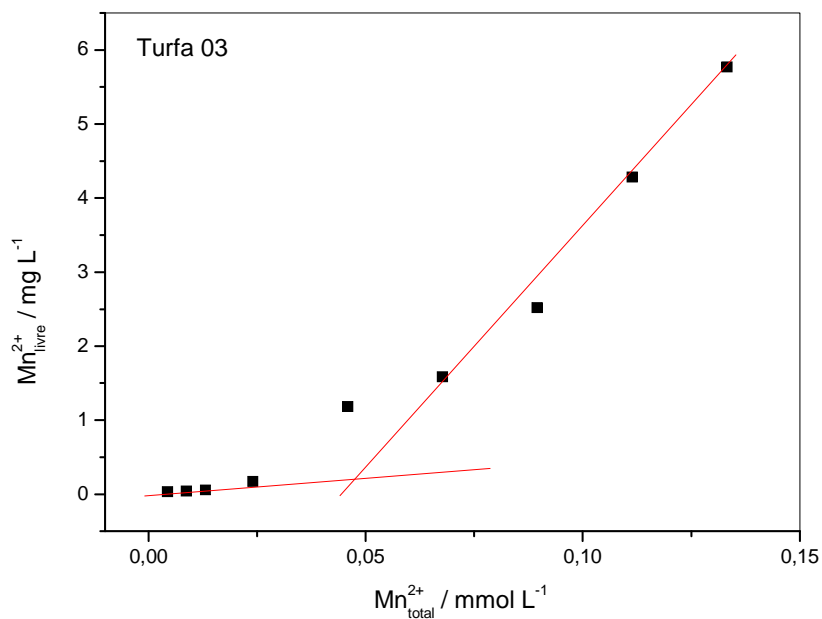
**Figura 28.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (tratada) coletadas no município de São Simão-SP por íons  $\text{Ca}^{2+}$ . Condições: pH 5,5;  $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .



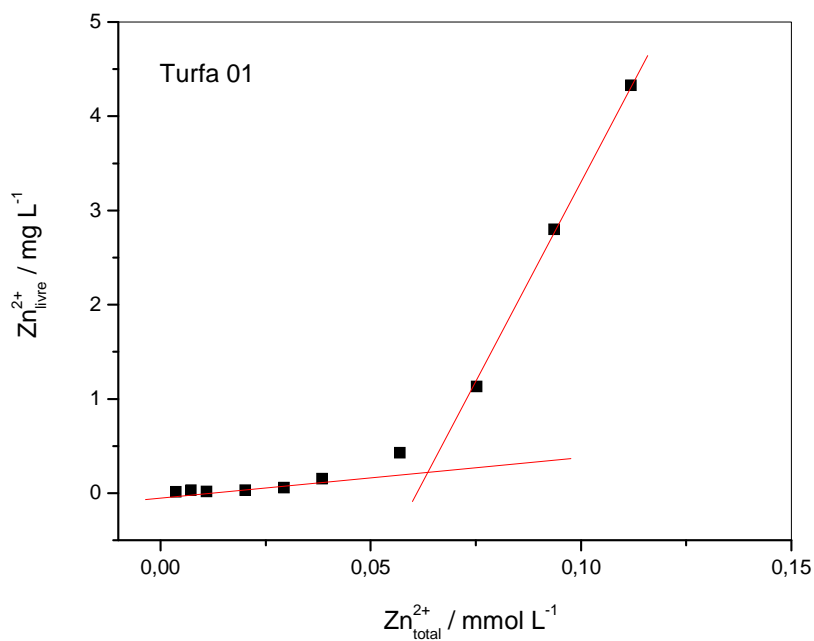
**Figura 29.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP por íons  $Mn^{2+}$ . Condições: pH 5,5 e  $[SH] = 100 mg L^{-1}$ .



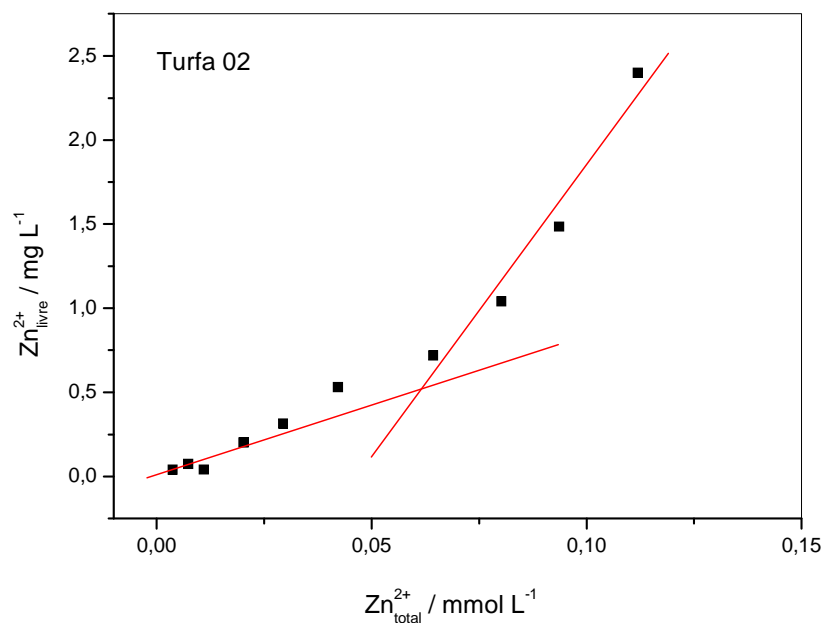
**Figura 30.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (*in-natura*) coletadas no município de São Simão-SP por íons  $Mn^{2+}$ . Condições: pH 5,5;  $[SH] = 100 mg L^{-1}$ .



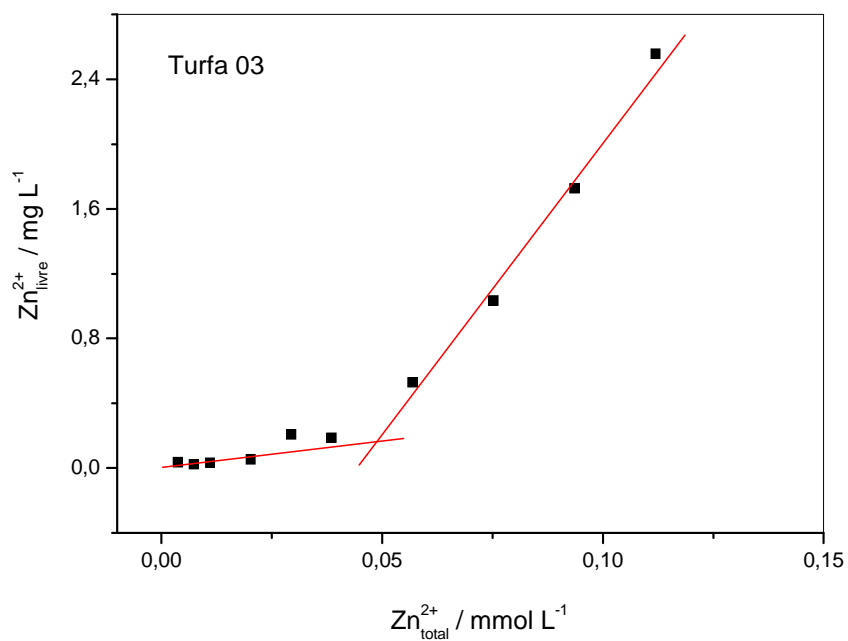
**Figura 31.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (tratada) coletadas no município de São Simão-SP por íons  $Mn^{2+}$ . Condições: pH 5,5;  $[SH] = 100 mg L^{-1}$ .



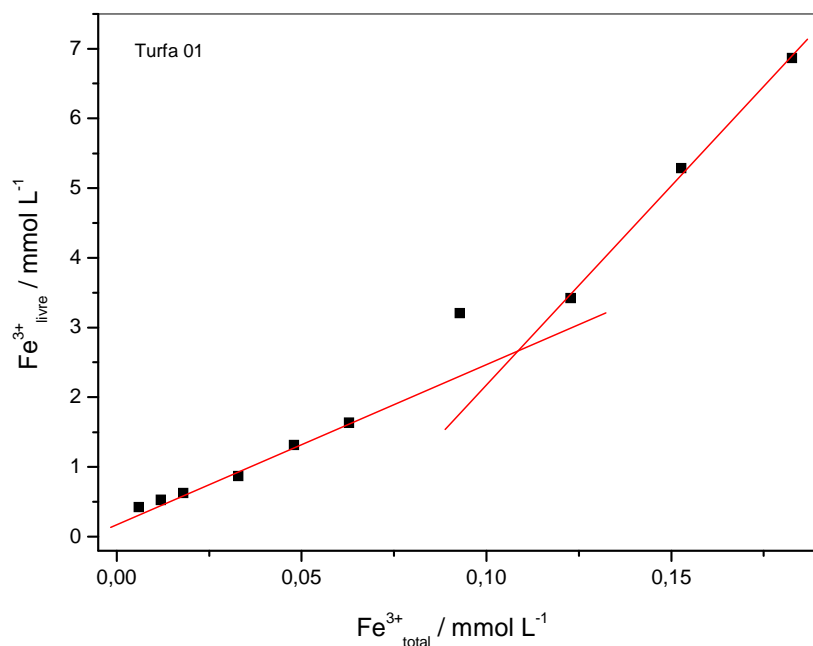
**Figura 32.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP por íons  $Zn^{2+}$ . Condições: pH 5,5 e  $[SH] = 100 mg L^{-1}$ .



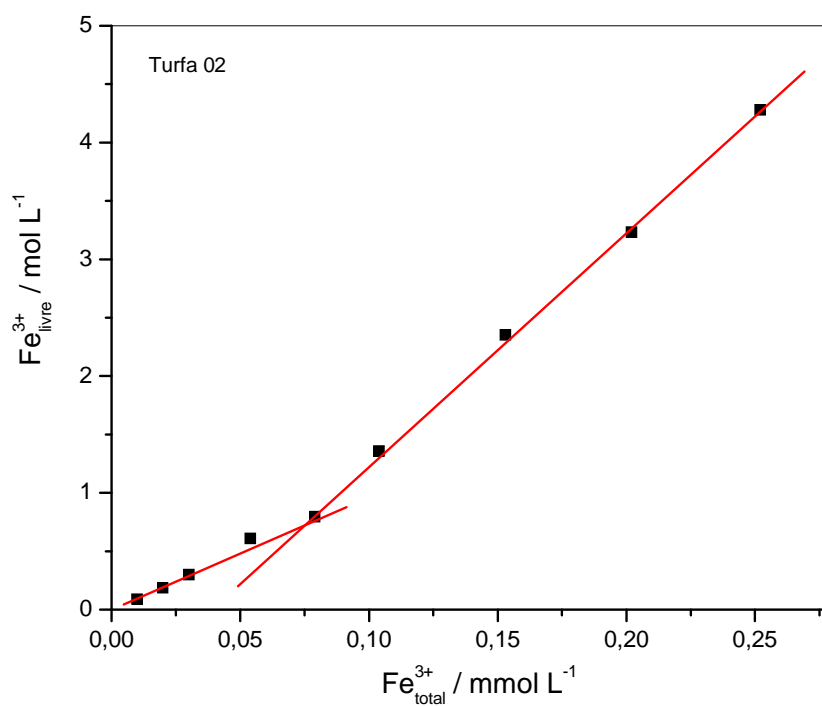
**Figura 33.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (*in-natura*) coletadas no município de São Simão-SP por íons  $Zn^{2+}$ . Condições: pH 5,5;  $[SH] = 100 mg L^{-1}$ .



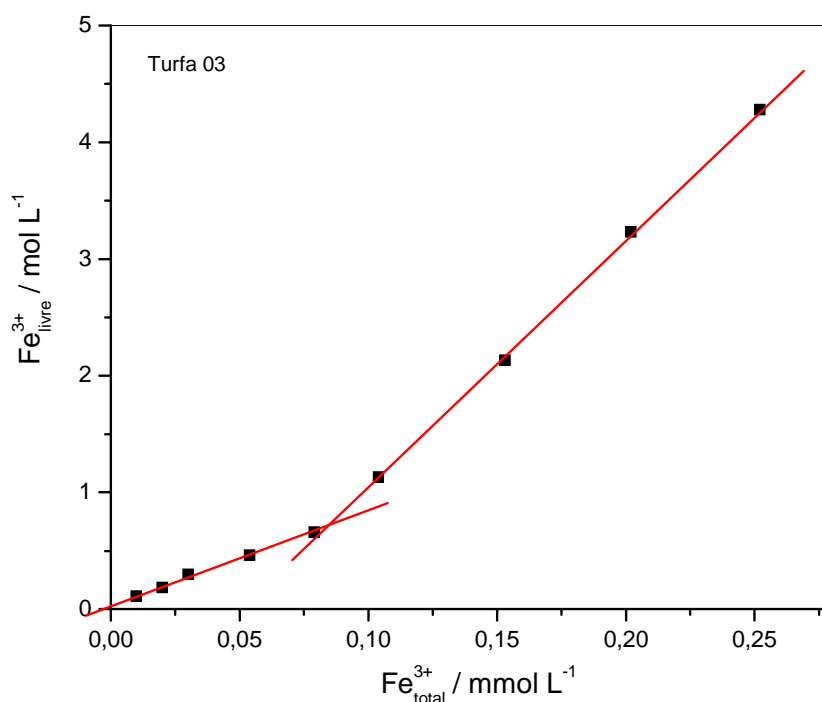
**Figura 34.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (*tratada*) coletadas no município de São Simão-SP por íons  $Zn^{2+}$ . Condições: pH 5,5;  $[SH] = 100 mg L^{-1}$ .



**Figura 35.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP por íons  $\text{Fe}^{3+}$ . Condições: pH 5,5 e  $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .



**Figura 36.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (*in-natura*) coletadas no município de São Simão-SP por íons  $\text{Fe}^{3+}$ . Condições: pH 5,5;  $[\text{SH}] = 100 \text{ mg L}^{-1}$ .



**Figura 37.** Curva para determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa (tratada) coletadas no município de São Simão-SP por íons Fe<sup>3+</sup>. Condições: pH 5,5; [SH] = 100 mg L<sup>-1</sup>.

A Tabela 13 apresenta os valores determinados das capacidades complexantes das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP por íons Cu<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> e Fe<sup>3+</sup>.

**Tabela 13.** Capacidades complexantes das substâncias húmicas extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral-SP e no município de São Simão-SP.

Amostras / Local de coleta	Espécies metálicas / Capacidade complexante (mmol metal g <sup>-1</sup> SH)					
	Cu	Mg	Ca	Mn	Zn	Fe
<b>01</b> Taquaral-SP	0,49	0,63	1,02	0,45	0,64	1,11
<b>02</b> São Simão-SP (in-natura)	0,51	0,69	0,61	0,29	0,60	0,76
<b>03</b> São Simão-SP (tratada)	0,58	0,68	0,70	0,47	0,49	0,84
ROMÃO et al., 2003	0,38	---	---	---	---	---

Os valores de CC determinados para as SH fornecem importantes informações de natureza quantitativa (quantidades complexadas de cada metal) bem como, quanto à afinidade das mesmas por diferentes espécies metálicas.

Segundo PEARSON (1963), as espécies químicas podem ser classificadas como ácidos e bases “duros” e “moles” e os conceitos de “dureza” e “maciez” ajudam a interpretar parte dos mecanismos envolvidos nas reações de complexação. A tendência de os ácidos “moles” ligarem-se às bases “moles” e a dos ácidos “duros” ligarem-se às bases “duras”, explica a forma que os elementos são encontrados na crosta terrestre. Nesta classificação existem duas classes principais: os elementos litofílicos e os elementos calcofílicos. Os elementos litofílicos são cátions duros, entre eles o magnésio, alumínio, lítio, cálcio, ferro, manganês, possuindo grande afinidade por bases duras, como  $O^{2-}$ . Por outro lado os elementos calcofílicos (ácidos moles) são frequentemente encontrados em combinação com grupos aminos e cianos (bases moles) e incluem cobre, chumbo, zinco, cádmio, dentre outros.

Analisadas as capacidades complexantes das substâncias húmicas extraídas das amostras de turfa, observou-se que as maiores afinidades estão relacionadas ao magnésio, cálcio e ferro, os quais são classificados como ácidos duros. Esta maior afinidade deve estar relacionada com a grande quantidade de grupos oxigenados (bases “duras”) presentes nas amostras de SH (composição elementar em torno de 50% de oxigênio). As espécies metálicas classificadas como ácidos moles, Cu e Zn, tiveram as menores capacidades de complexação.

No entanto, as capacidades de complexação das SH com manganês não seguiram a classificação de PEARSON (1963). Quando as capacidades de complexação forem muito próximas, no modelo de cálculo utilizado, a escolha das seções lineares dos gráficos influencia relativamente mais nos valores de CC determinados. Assim, nesses casos, é mais conveniente estabelecer uma relação de “aproximadamente igual” nas ordens de afinidade entre as SH e as espécies metálicas. Por outro lado, se as CC forem muito diferentes, uma pequena variação na escolha das seções lineares dos gráficos utilizados nos cálculos não influirão nos valores de CC e consequentemente, na ordem de afinidade das SH pelas espécies metálicas. Com isso,

a proximidade dos valores das capacidades de complexação determinados neste trabalho pode explicar os desvios da classificação de Pearson.

Com isso, fica evidente que os resultados são comparáveis quando obtidos nas mesmas condições experimentais e quando os dados forem tratados com o mesmo modelo matemático.

Observa-se ainda que os valores das CC das amostras 02 e 03 não são significativamente diferentes, mostrando que o tratamento industrial feito nas amostras de turfa 03 não influenciou nas propriedades de complexação das substâncias húmicas desta amostra. ROMÃO *et al.* (2003) determinaram a capacidade complexante de SH extraídas de solos alagáveis e não alagáveis da região do médio Rio Negro-AM por íons cobre e encontraram valores em torno de  $0,38 \text{ mmol Cu g}^{-1} \text{ SH}$ . Esta menor capacidade complexante das SH extraídas de amostras coletadas na Bacia do Rio Negro-AM se deve possivelmente as características estruturais destas SH. BOTERO *et al.*, (2009) obtiveram valores de CC menores, no estudo de complexação de SH extraídas de amostras de lodo de estação de tratamento de água com as espécies metálicas Cu, Ca, Mg, Mn e Fe.

Vários trabalhos da literatura (COSTA, *et al.*, 2008; ROMÃO, 2003) mostram a relação entre valores de CC e a quantidade de grupos funcionais das moléculas de SH. Com isso, relacionou os dados obtidos por RMN  $^{13}\text{C}$  com as capacidades de complexação e obteve-se relação linear entre todos os grupos e as espécies metálicas Cu e Zn, exceto para os grupamentos carboxílicos. As espécies metálicas Mg, Ca e Fe apresentaram boas correlações lineares com os grupamentos alifáticos e carboxílicos, enquanto que Mn não se correlacionou linearmente com nenhum dos grupamentos analisados. A Tabela 14 mostra os parâmetros lineares obtidos em cada caso.

**Tabela 14.** Parâmetros das correlações lineares entre dados de RMN <sup>13</sup>C e valores das capacidades de complexação das substâncias húmicas por diferentes espécies metálicas.

Grupamento	Espécie metálica	Parâmetros lineares		
		ax	b	R <sup>2</sup>
Alifáticos	Cu	0,011	0,254	0,761
	Mg	0,008	0,478	0,787
	Ca	-0,049	-2,002	0,741
	Mn	-0,003	0,468	0,010
	Zn	-0,018	1,036	0,800
	Fe	-0,042	1,940	0,733
C-O; C-N	Cu	0,024	0,413	0,924
	Mg	0,013	0,606	0,575
	Ca	-0,082	1,167	0,521
	Mn	0,007	0,371	0,017
	Zn	-0,040	0,766	0,947
	Fe	-0,069	1,232	0,512
O-Alifáticos	Cu	0,022	0,397	0,991
	Mg	0,009	0,611	0,390
	Ca	-0,058	1,122	0,338
	Mn	0,014	0,318	0,098
	Zn	-0,036	0,791	0,998
	Fe	-0,049	1,194	0,329
Aromáticos	Cu	-0,006	0,861	0,928
	Mg	-0,003	0,844	0,566
	Ca	0,021	-0,356	0,512
	Mn	-0,002	0,505	0,020
	Zn	0,010	0,021	0,951
	Fe	0,018	-0,052	0,503
Carboxílicos	Cu	-0,023	0,750	0,069
	Mg	-0,056	1,218	0,904
	Ca	0,378	-2,978	0,934
	Mn	0,140	-0,983	0,607
	Zn	0,043	0,146	0,095
	Fe	0,323	-2,300	0,938

O parâmetro linear “a” mostrado na Tabela 14 refere-se ao coeficiente angular da reta e indica se as correlações obtidas são diretamente ou inversamente proporcionais. Valores positivos de “a” representam proporcionalidade direta, enquanto que valores negativos mostram que as variáveis analisadas são inversamente proporcionais. De acordo com a Tabela 14, verifica-se que íons cobre estão diretamente relacionados com as partes alifáticas das moléculas de SH, referentes aos deslocamentos químicos de 0-90 ppm do  $^{13}\text{C}$ , pois os coeficientes angulares entre essas variáveis são positivos. Por outro lado, íons cobre estão inversamente relacionados com os grupos da região de 90-155 ppm ( $a = -0,006$ ).

O comportamento observado para o zinco é o oposto daquele observado para o cobre, ou seja, o zinco relaciona-se de forma direta apenas com os grupamentos aromáticos (90-155 ppm) e de forma inversa com as partes alifáticas das moléculas de SH em estudo (0-90 ppm).

Para as espécies metálicas Mg, Ca e Fe obteve correlação apenas para os grupamentos alifáticos (0-45 ppm) e carboxílicos (155-190 ppm) das SH. Para os grupamentos alifáticos foi obtida correlação direta para Mg e inversa para Ca e Fe, enquanto que para os grupamentos carboxílicos foram obtidas correlações diretas para Ca e Fe e inversa para Mg.

Para avaliar a influência do tamanho molecular dos intervalos de grupamentos funcionais na capacidade de complexação, correlacionaram-se os valores dos coeficientes de difusão  $D$  (determinados por DOSY – RMN) e os resultados mostraram que íons cobre estão inversamente relacionados e íons zinco estão diretamente relacionados com a massa molar média das SH. Ou seja, de acordo com a técnica DOSY, quanto maior a massa molar média dos diferentes grupamentos analisados (alifáticos, C-O e C-N, aromáticos), menores são as capacidades de complexação das SH por esta espécie metálica. Por outro lado, o aumento da massa molar dos grupamentos das SH resulta em maiores capacidades de complexação para o zinco. Para as outras espécies metálicas estudadas não foram obtidas correlações lineares significativas.

Enquanto a técnica DOSY fornece informações sobre os níveis de agregação de diferentes grupos funcionais, a técnica HPSEC fornece os valores de massa molar média (ou nível de agregação) da molécula total. Nesse sentido, observaram-se boas

correlações lineares entre os valores de massas molares médias determinadas por HPSEC e as espécies cobre e zinco, de forma diretamente proporcional e inversamente proporcional, respectivamente.

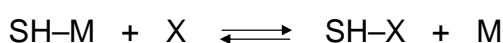
Dessa forma, pode-se inferir que íons cobre estão diretamente relacionados com grupamentos alifáticos e com o nível de agregação das moléculas de SH (ou seja, com a MM) e estão inversamente relacionados com os grupamentos aromáticos e com o nível de agregação dos grupos funcionais das SH, enquanto os íons zinco apresentam comportamento inverso.

Pode-se inferir ainda que as espécies metálicas possuem sítios preferenciais de complexação, reforçando a importância da caracterização estrutural das substâncias húmicas em estudo.

De acordo com estas relações lineares obtidas, sugere-se que o prévio conhecimento das características estruturais pode indicar qual das amostras complexaria com mais eficiência uma determinada espécie metálica. Ou seja, baseado nos dados das caracterizações das amostras seria possível selecionar qual delas resultaria em melhores interações com os diferentes nutrientes, visando a aplicação das turfas ou das SH nos setores agrícolas.

#### 4.10 Determinação das constantes de troca entre íons $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$ , $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mn}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ e $\text{Fe}^{3+}$ (adicionados) e espécies metálicas originalmente complexadas pelas SH

Utilizando o sistema de UF–FT ilustrado na Figura 9 e aplicando um modelo de cálculo matemático, estimaram-se as constantes termodinâmicas de troca. Na situação de equilíbrio, a lei de ação das massas é obedecida e de acordo com a Equação 1, calcularam-se as constantes de troca entre íons  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$  (adicionados) e espécies metálicas originalmente complexadas pelas SH representando graficamente  $[\text{M}]/[\text{SH-M}]$  versus  $[\text{X}]/[\text{SH-X}]$ .



$$K_{troca} = \frac{[SH - X][M]}{[SH - M][X]} \quad \text{Equação 1}$$

onde:

M = espécies metálicas originalmente complexadas às SH

X = espécies metálicas adicionadas ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  ou  $\text{Fe}^{3+}$ )

A Tabela 15 mostra os valores das constantes de troca determinados.

**Tabela 15.** Constantes de troca entre íons  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$   $\text{Zn}^{2+}$  ou  $\text{Fe}^{3+}$  (adicionados) e espécies metálicas originalmente complexadas por SH extraídas de amostras de turfa coletadas no distrito de Taquaral–SP e no município de São Simão–SP.

Amostras	Metal adicionado	Constantes de troca			
		Ca	Cu	Fe	Mg
<b>01</b> Taquaral–SP	<b>Cu</b>	5,55	/	0,67	2,11
<b>02</b> São Simão–SP (in–natura)		3,59		0,08	1,66
<b>03</b> São Simão–SP (tratada)		3,13		0,05	1,44
<b>01</b> Taquaral–SP	<b>Mg</b>	0,07	0,49	0,03	/
<b>02</b> São Simão–SP (in–natura)		0,01	0,64	0,04	
<b>03</b> São Simão–SP (tratada)		--	0,26	0,07	
<b>01</b> Taquaral–SP	<b>Ca</b>	/	0,13	0,14	5,24
<b>02</b> São Simão–SP (in–natura)			0,07	0,06	3,33
<b>03</b> São Simão–SP (tratada)			0,12	0,09	1,26
<b>01</b> Taquaral–SP	<b>Mn</b>	0,33	0,66	0,69	0,11
<b>02</b> São Simão–SP (in–natura)		0,47	0,77	0,45	0,21
<b>03</b> São Simão–SP (tratada)		0,46	0,75	0,55	0,09
<b>01</b> Taquaral–SP	<b>Zn</b>	0,05	0,08	0,98	0,71
<b>02</b> São Simão–SP (in–natura)		0,22	0,14	0,95	0,69
<b>03</b> São Simão–SP (tratada)		0,37	0,18	0,99	0,67
<b>01</b> Taquaral–SP	<b>Fe</b>	0,17	0,02	/	4,43
<b>02</b> São Simão–SP (in–natura)		0,21	0,08		5,78
<b>03</b> São Simão–SP (tratada)		0,44	0,31		7,88

-- não determinados

De acordo com a Equação 1, o valor da constante de troca é inversamente proporcional à estabilidade do complexo SH–X. Assim, altos valores de constante de troca indicam menor estabilidade do complexo SH–M.

Estudos mostram que a ordem de estabilidade e afinidade das espécies metálicas com diferentes matrizes (solos e minerais, por exemplo) está relacionada com os raios dos íons hidratados (ABREU *et al.*, 2007). Ao adicionar íons cobre na solução de SH, os complexos SH-Ca e SH-Mg originalmente formados são menos estáveis que o complexo SH-Cu, pois os valores determinados para as constantes de troca foram maiores que 1, enquanto que o complexo SH-Fe foi caracterizado como mais estável. Os íons cobre (raio iônico hidratado = 4,19 Å) adicionados na solução de SH, formaram complexos mais estáveis do que o Mg (4,29 Å) e também com o Ca (4,12 Å), apesar do raio maior. O complexo SH-Fe é mais estável frente a adição de íons Cu e dos outros metais (Mg, Ca, Mn e Zn) e de acordo com dados da literatura, o raio dos íons Fe em solução é o maior dentre todas as espécies metálicas estudadas (4,57 Å). No entanto, a maior estabilidade associada aos complexos SH-Fe deve estar relacionada com a carga 3<sup>+</sup> deste íon e não com o raio.

Quando foram adicionados íons magnésio, observou-se que todas as espécies originalmente complexadas são mais estáveis que o complexo SH-Mg, pois apresentam raios hidratados menores. A adição de íons cálcio mostrou que dentre as espécies metálicas estudadas, apenas o complexo SH-Mg é menos estável. Em relação à adição de íons manganês, como todas as constantes de troca foram menores que 1, este íon não trocou com nenhum metal originalmente complexado às SH, possivelmente em decorrência do maior raio iônico hidratado do Mn (4,38 Å) comparado com as outras espécies metálicas bivalentes estudadas. O comportamento observado para a adição de zinco foi similar, exceto para o complexo original SH-Fe, onde as constantes de troca estão próximas de 1, ou seja, adição de zinco e consequente deslocamento (troca) com o ferro ocorre na mesma proporção (1:1), sugerindo que Fe e Zn devem competir pelos mesmos sítios de complexação das SH. Apesar do Zn ser menor que o Fe (4,30 Å e 4,57 Å respectivamente), o Fe possui carga maior.

Quando foram adicionados íons ferro, assim como para a adição de íons cálcio, apenas o complexo SH-Mg é menos estável. Ou seja, apesar da carga maior, os íons Fe deslocam apenas os íons Mg e os outros íons que são menores (Cu e Ca) não são

trocados. Estudos feitos por ANDERSSON (1977) mostraram correlações lineares para a distribuição das espécies metálicas Ca, Cu, Cr, Mn e Zn e seus respectivos raios iônicos.

De modo geral, os resultados mostram alta estabilidade dos complexos originais SH-Ca, SH-Cu e SH-Fe, sugerindo que os mesmos estão fortemente ligados às SH ou as espécies metálicas adicionadas não competem pelos mesmos sítios de complexação da molécula. Por exemplo, apesar da capacidade de complexação do Ca e do Fe estar correlacionada da mesma forma com os dados de RMN, a adição de um não altera o equilíbrio de troca do outro. Desta forma, apesar da mesma correlação desses íons com os grupamentos alifáticos (de modo direto) e carboxílicos (de modo inverso), os sítios de complexação específicos devem ser diferentes.

#### 4.11 Experimentos em casa de vegetação

Os experimentos na casa de vegetação (UNESP – Jaboticabal) foram feitos para avaliar a influência das amostras e das quantidades de turfas de diferentes origens, no desenvolvimento e estado nutricional das plantas testadas (milho e rabanete). Foram avaliados os parâmetros massa seca, macro nutrientes (N, P, K, Ca e Mg) e micro nutrientes (B, S, Zn, Fe, Cu e Mn). O micronutriente Cu esteve abaixo do limite de quantificação da técnica utilizada (FAAS) nas determinações.

Os resultados referentes aos parâmetros analisados foram inicialmente submetidos à análise de variância, no intervalo de confiança de 95%.

##### 4.11.1 Cultura do milho

###### Experimento A – Avaliação do fornecimento de nitrogênio pela turfa

Os testes estatísticos de variância mostraram que neste experimento A, a aplicação das diferentes doses (15, 30, 60 e 90 t ha<sup>-1</sup>) das amostras de turfa promoveu a absorção significativamente diferente das quantidades de micro e macro nutrientes nas plantas. No entanto, o parâmetro massa seca não foi influenciado.

Alguns parâmetros analisados apresentaram boa correlação linear entre suas concentrações na planta em função das doses de turfa aplicadas no solo. Por outro lado, outros parâmetros tiveram seus comportamentos melhor ajustados na forma de equações quadráticas de segunda ordem (polinômio), ou seja, de forma não linear.

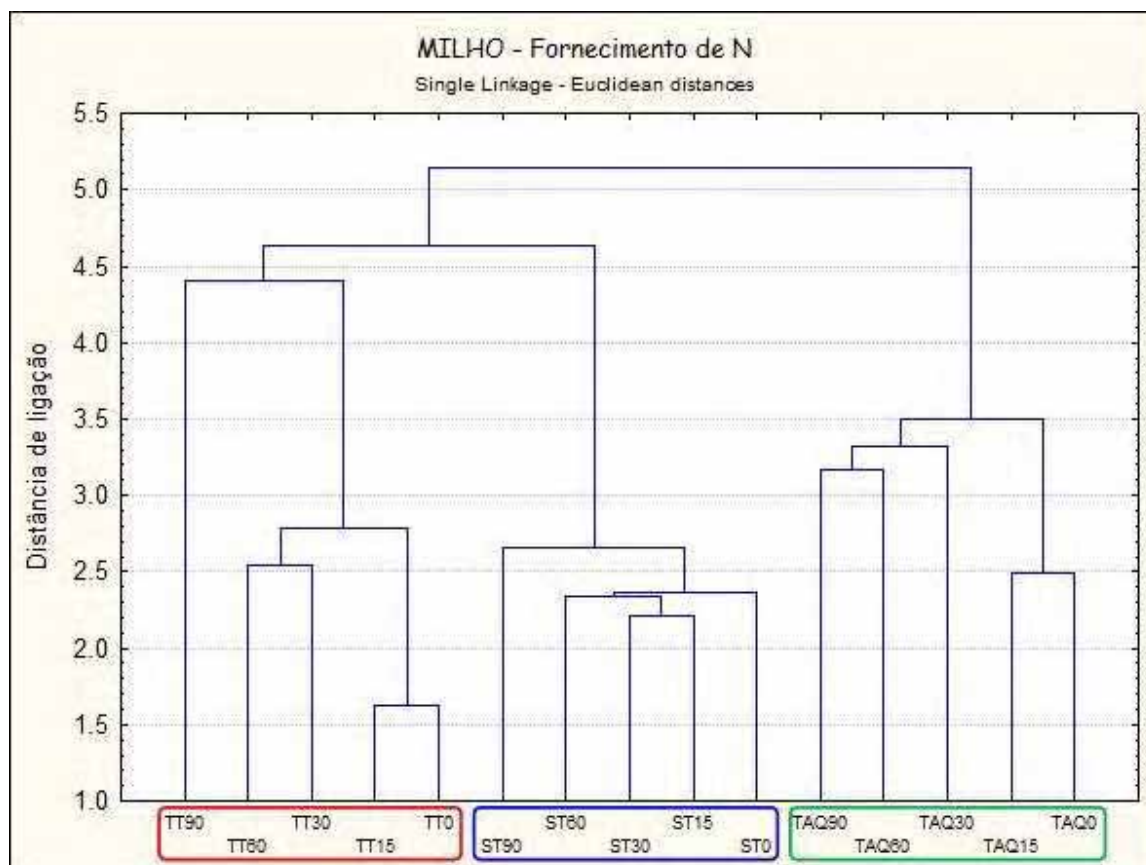
Nestes experimentos, onde um grande número de variáveis devem ser consideradas simultaneamente, as ferramentas estatísticas multivariadas têm se mostrado eficientes para avaliar correlações e interpretar os resultados obtidos. A análise exploratória é utilizada para detectar padrões de associação no conjunto de dados, podendo se estabelecer relações entre as variáveis. Neste caso, a análise hierárquica de agrupamentos (AHA) e a análise de componentes principais (ACP) têm sido as mais utilizadas (de BARROS NETO *et al.*, 2006; BURNS *et al.*, 1997; SALAU *et al.*, 1997).

A AHA tem como objetivo a formação de agrupamentos naturais, em uma estrutura hierárquica em que as amostras são colocadas em um sistema de grupos e subgrupos, dependendo do grau de similaridade entre elas. Neste caso, o que define a similaridade entre dois pontos é a distância entre eles no espaço multidimensional. Quanto menor esta distância, maior a similaridade entre as variáveis representadas pelos dois pontos (de BARROS NETO *et al.*, 2006).

O principal objetivo da ACP é reduzir a dimensão dos dados originais, facilitando a interpretação das informações mais importantes em menor número de fatores ou componentes principais, preservando ao mesmo tempo o máximo de informação, e isto é feito calculando-se combinações lineares das variáveis originais. A primeira componente principal a  $CP_1$  é a combinação linear de máxima variância (isto é de máxima informação), a segunda componente,  $CP_2$ , também é de máxima variância, porém ortogonal a  $CP_1$  e a terceira é de máxima variância e ortogonal as duas primeiras CPs. Como esses eixos são calculados em ordem decrescente de importância, muitas vezes a informação relevante fica concentrada nas duas ou três primeiras CPs (de BARROS NETO *et al.*, 2006).

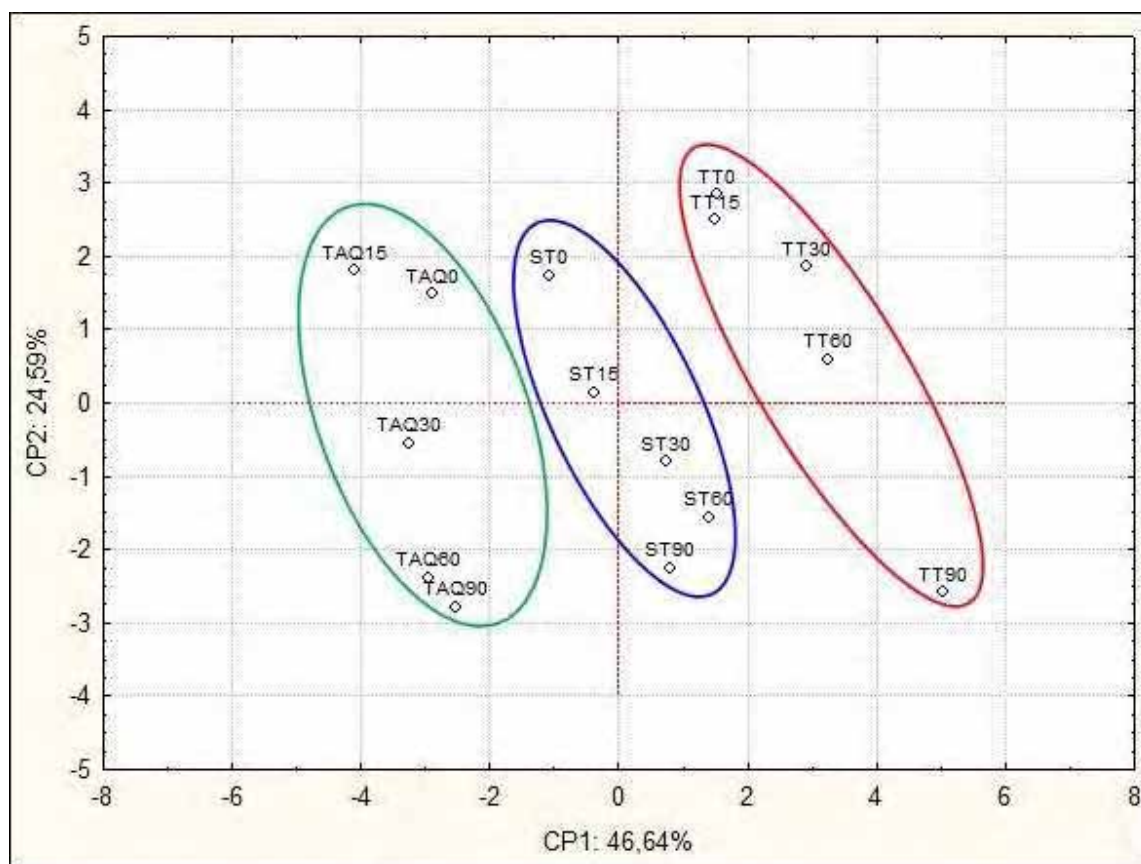
Desta forma, utilizou-se o software STATISTICA 6.0 para verificar as correlações existentes entre: (i) parâmetros analisados nas plantas; (ii) tipo/fonte das turfas; (iii) doses das turfas e (iv) características estruturais das SH extraídas das amostras de turfa.

Na AHA, as estruturas hierárquicas são organizadas na forma de gráficos bidimensionais denominados dendogramas, nos quais é possível observar as correlações e similaridades entre as amostras. A Figura 38 mostra o dendograma obtido para o experimento A do milho.



**Figura 38.** Dendograma para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a cultura do milho.

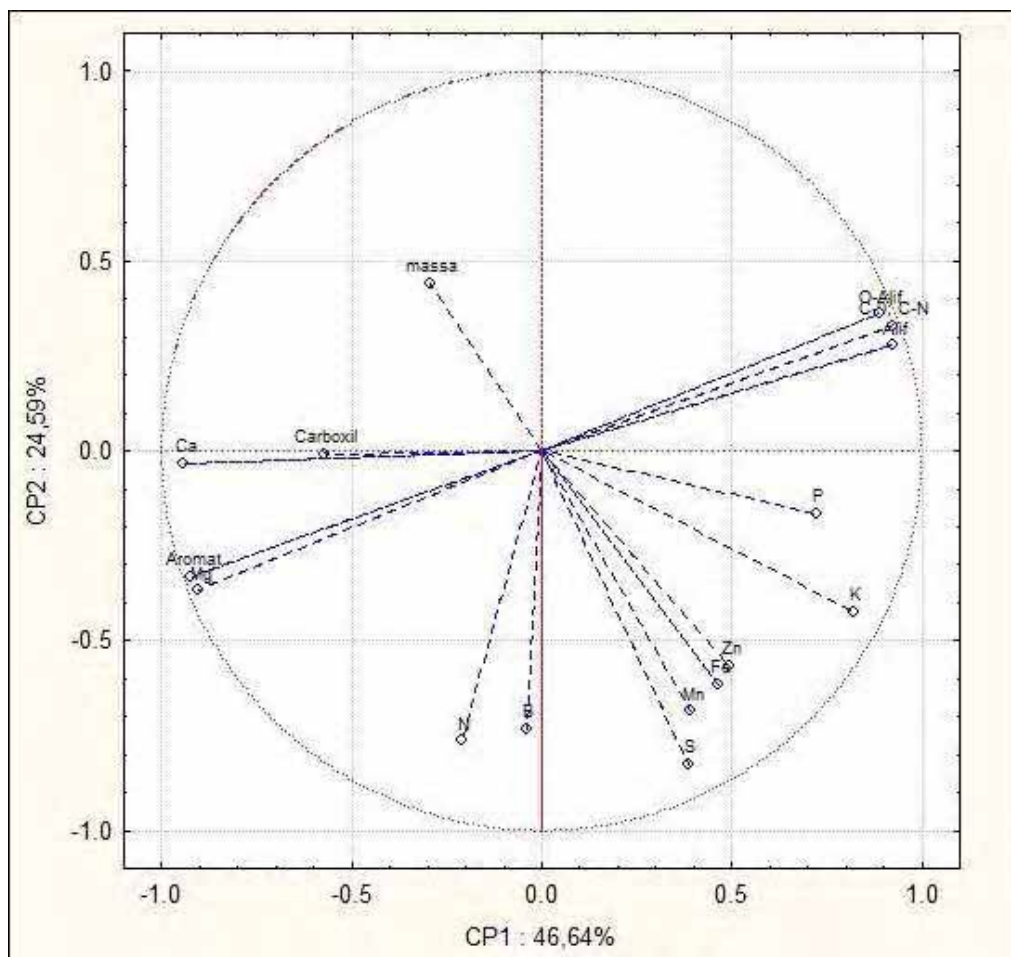
Observa-se a formação de 3 grupamentos principais: (a) turfa 01 – TAQ; (b) turfa 02 – ST; (c) turfa 03 – TT. De acordo com estes resultados, pode-se inferir que o estado nutricional das plantas de milho no experimento de fornecimento de nitrogênio está principalmente associado às características estruturais das turfas e não com as respectivas doses de turfa. Isso se deve ao fato de que os grupamentos foram formados entre as amostras e não entre as doses de turfa. Este comportamento pode ser visualizado também com o gráfico da ACP (Figura 39), onde os 3 *clusters* formados mostram o agrupamento dos pontos em função do tipo de amostra de turfa.



**Figura 39.** Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a cultura do milho.

A Figura 40 mostra a ACP dos parâmetros analisados nas plantas de milho e das características estruturais das amostras de turfa. Assim, comparando com as informações das ACP, observa-se pela CP<sub>1</sub> da Figura 40, a qual descreve 46,64 % da variância total dos dados, que a turfa TAQ (amostra 01), coletada no distrito de Taquaral está principalmente relacionada com o teor de grupos aromáticos e carboxílicos das SH extraídas das amostras de turfa e com os teores de Ca e Mg das plantas. Ou seja, a absorção dos nutrientes Ca e Mg é favorecida pelos maiores teores desses grupos (aromáticos e carboxílicos). Pela CP<sub>1</sub> da Figura 40 também pode-se observar que a turfa TT (amostra 03) se relaciona principalmente com os grupos alifáticos, C-O / C-N e O-alifáticos e com os nutrientes P e K. Analisando a Figura 40 verifica-se que quase todos nutrientes determinados nas plantas de milho ficaram agrupados na parte negativa em relação a CP<sub>2</sub>, a qual descreve 24,59 % da variância dos dados. Comparando com a Figura 39 esse comportamento está associado às

maiores doses de amostras de turfa aplicadas no solo, no entanto, deve-se ressaltar que as maiores variâncias estão associadas às diferenças estruturais entre as amostras de turfa, conforme descrito anteriormente.



**Figura 40.** Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a cultura do milho.

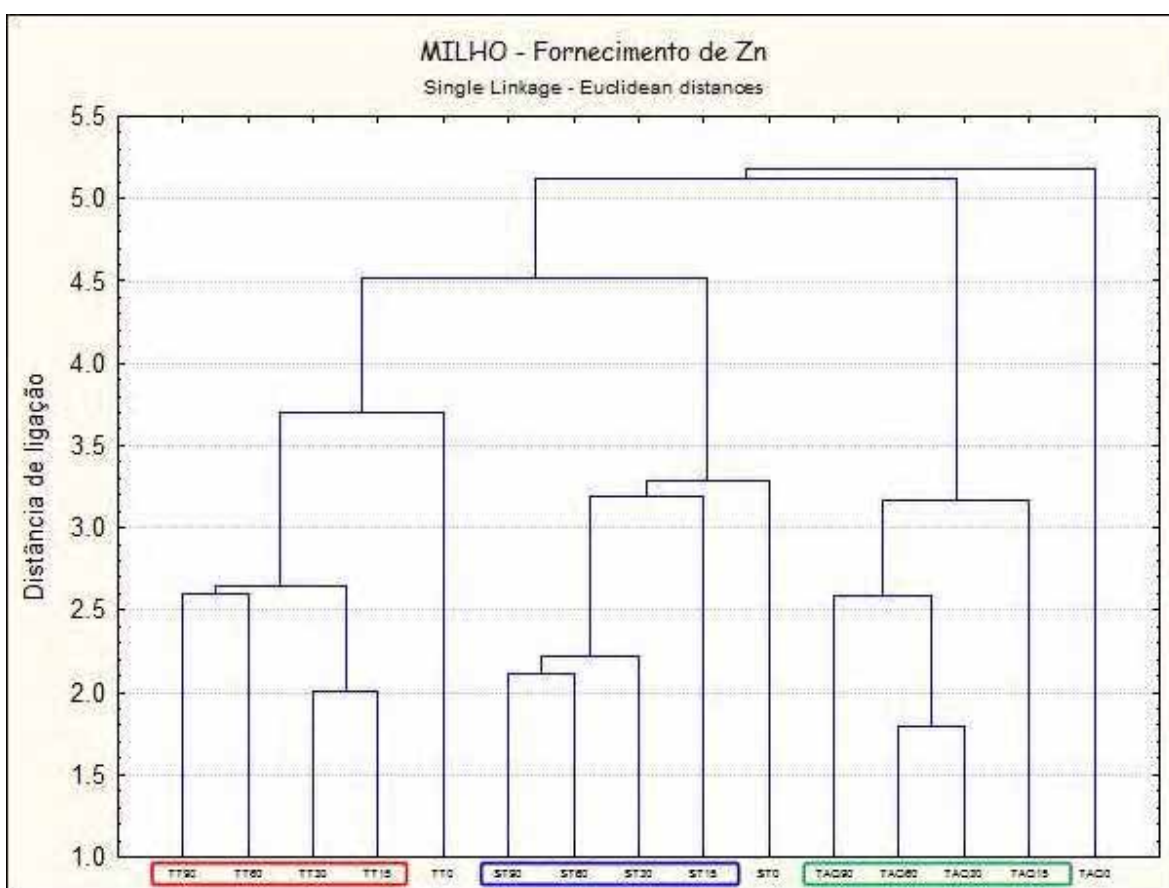
#### Experimento B – Avaliação do fornecimento de zinco pela turfa

A deficiência de Zn é um problema comum em muitas áreas produtoras de milho no Brasil, causando em muitas situações redução no rendimento de grãos (COUTINHO *et al.*, 2007). O zinco participa como componente de um grande número de enzimas. Suas funções básicas na planta estão relacionadas ao metabolismo de carboidratos, proteínas e fosfatos, além da formação da estrutura das auxinas, RNA e ribossomos, no

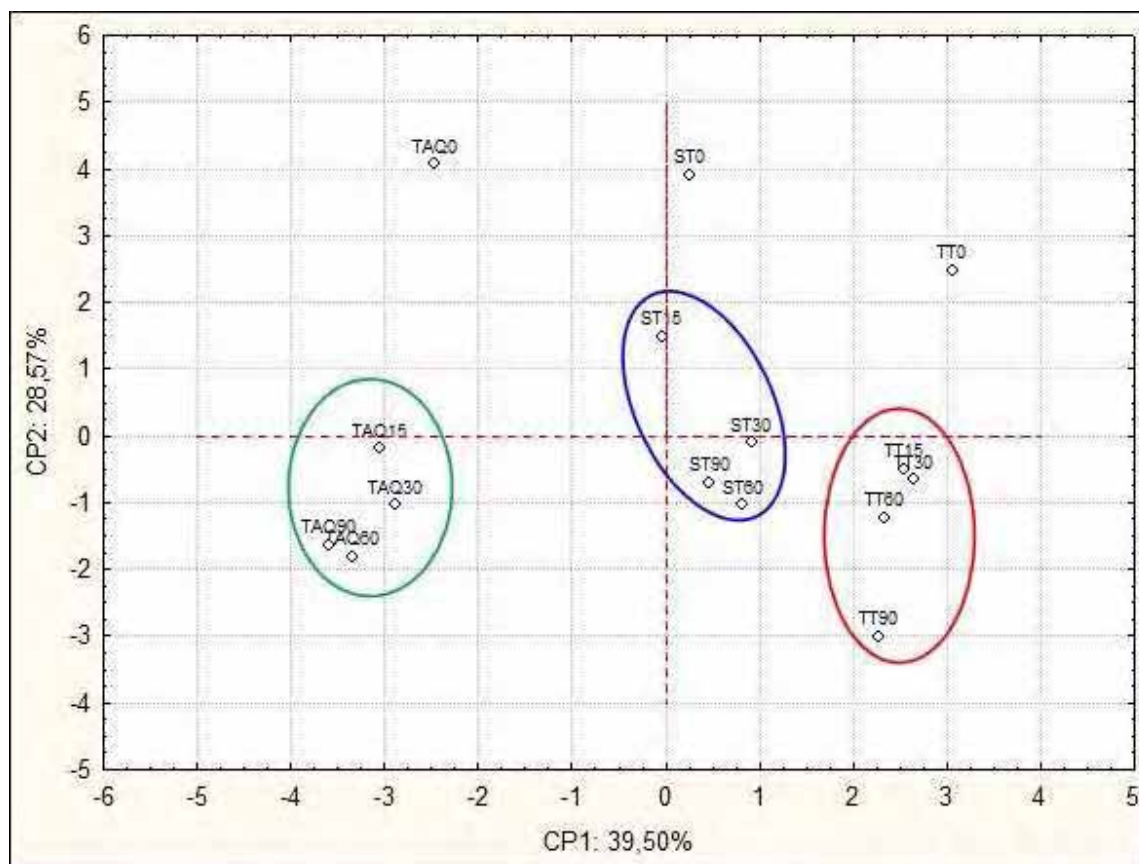
metabolismo dos fenóis, no aumento do tamanho e multiplicação celular e na fertilidade dos grãos de pólen (MALAVOLTA *et al.*, 1991).

Os teores de zinco determinados na parte aérea das plantas do experimento B variaram entre 12,6 – 74,2 mg kg<sup>-1</sup>. Assim, os resultados estão dentro do intervalo ótimo considerado por CANTARELLA *et al.*, (1997), os quais sugerem valores entre 15 e 50 mg Zn kg<sup>-1</sup> e também de acordo com os valores entre 20 e 70 mg Zn kg<sup>-1</sup> determinados por ROSOLEM & FRANCO (2000). Os resultados estão ainda abaixo do nível tóxico de 427 mg Zn kg<sup>-1</sup>, de acordo com FAGERIA (2000).

A Figura 41 mostra o dendograma e as Figuras 42 e 43 mostram as ACP's, obtidas para o experimento B do milho, onde foi avaliado o fornecimento de zinco pelas amostras de turfa, as quais foram previamente enriquecidas com este micronutriente.



**Figura 41.** Dendrograma para o experimento de fornecimento de zinco pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a cultura do milho.

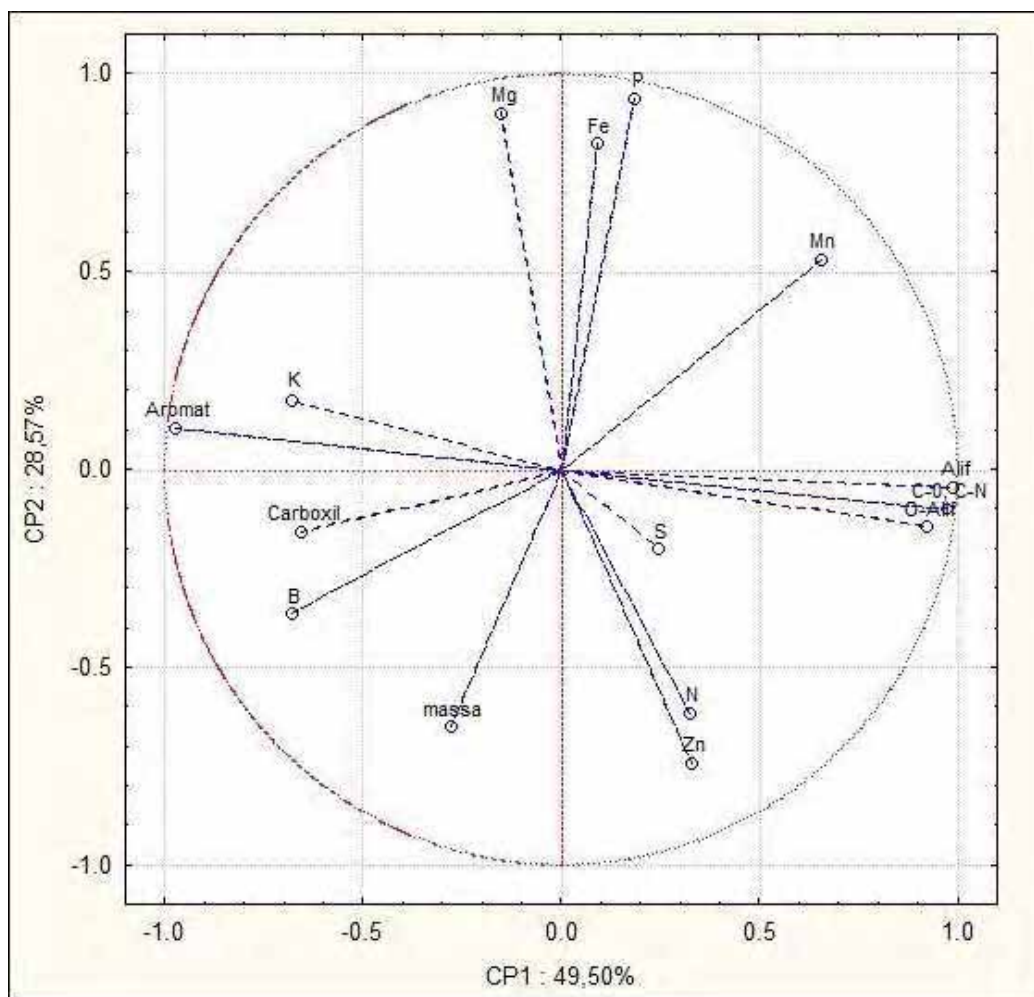


**Figura 42.** Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de zinco pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a cultura do milho.

Semelhante ao experimento A, observa-se a formação de 3 grupamentos principais na HCA (Figura 41): (a) turfa 01 – TAQ; (b) turfa 02 – ST; (c) turfa 03 – TT, inferindo que os parâmetros determinados nas plantas de milho no experimento de fornecimento de zinco estão principalmente associados às características estruturais das turfas. O gráfico da ACP (Figura 42) também mostra que os 3 *clusters* formados agruparam os pontos em função do tipo de amostra de turfa. No entanto, as amostras TAQ0, ST0 e TT0, referente às testemunhas, ou seja, as quais não receberam doses de turfa ficaram separadas dos respectivos grupos, indicando que a adição do complexo turfa-zinco resultou em melhorias mais significantes no estado nutricional das plantas em relação à planta-controle (testemunha) e em relação ao experimento A. O dendograma da Figura 41 também mostra essa separação.

Esse comportamento pode estar relacionado com o tipo de solo utilizado no experimento B (Neossolo Quartzênico), o qual é de textura arenosa e conseqüentemente, com menores concentrações de elementos essenciais, comparado com o solo utilizado no experimento A (Latossolo Vermelho Distrófico), o qual é de textura média (mais argiloso). Nesse caso, o LVd do experimento A pode conter quantidades traço de elementos essenciais, os quais não estão presentes no RQ do experimento B e assim, mesmo sem adição das turfas, o LVd pode suprir as necessidades das plantas até o estágio de desenvolvimento estudado.

Na Figura 43 tem-se a ACP dos parâmetros analisados nas plantas de milho do experimento B e das características estruturais das amostras de turfa.



**Figura 43.** Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de zinco pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a cultura do milho.

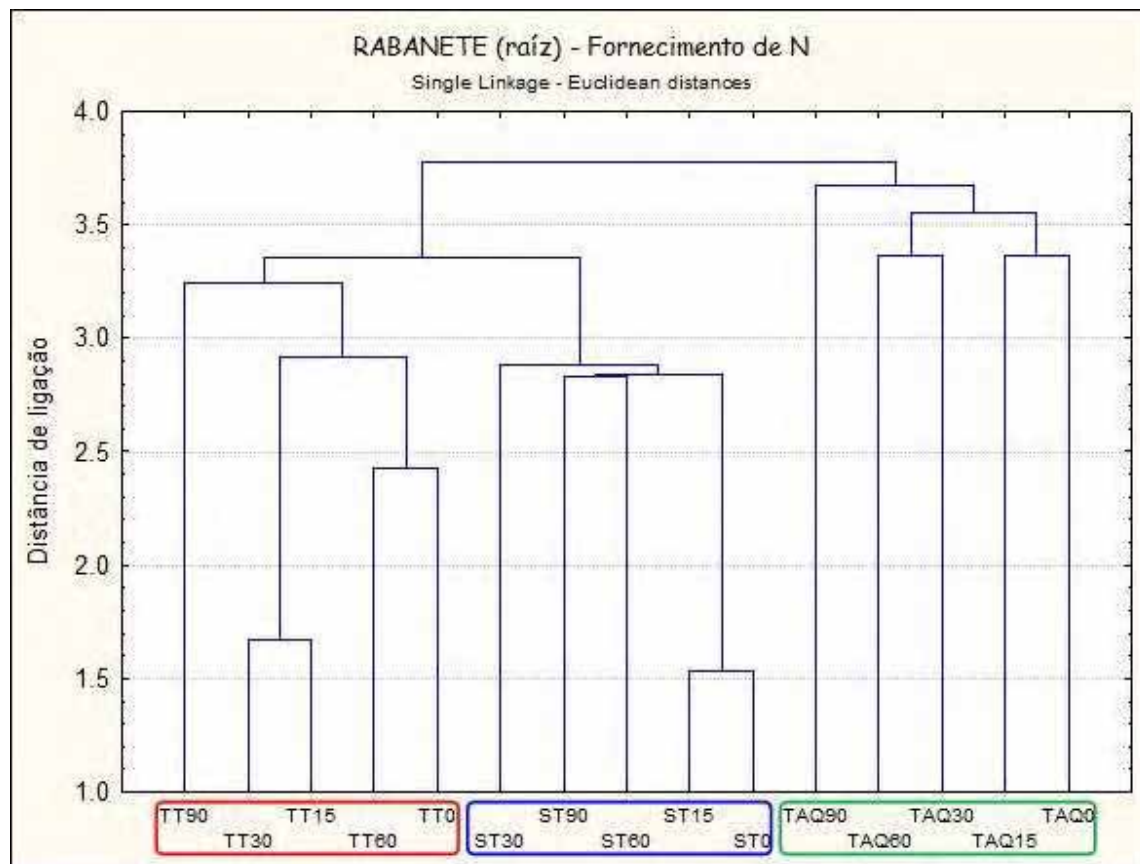
Comparando as informações das ACP, a CP<sub>1</sub> da Figura 43, a qual descreve 49,5 % da variância total dos dados, observa-se que a turfa TAQ (amostra 01), também está relacionada com o teor de grupos aromáticos e carboxílicos das SH extraídas das amostras de turfa e com os teores de B e K das plantas, mostrando que a absorção destes nutrientes (B e K) é favorecida pelos maiores teores de grupos aromáticos e carboxílicos. Da mesma forma, pela CP<sub>1</sub> da Figura 43 observa-se que a turfa TT (amostra 03) se relaciona principalmente com os grupos alifáticos, C-O / C-N e O-alifáticos e com Mn. Analisando a CP<sub>2</sub> da Figura 43, a qual descreve 28,57 % da variância dos dados, verifica-se que os nutrientes determinados nas plantas não se agruparam, diferente daquele comportamento observado para o experimento A.

Isso pode estar associado a um tipo de interação competitiva entre Zn e alguns nutrientes (p. e. Fe, Mg e P), corroborando com os resultados obtidos por PAULA *et al.* (1999) e PRADO *et al.* (2007). Assim como observado por LEAL *et al.* (2007), a aplicação das turfas *in natura* (experimento A) ou enriquecida com zinco (experimento B) não resultou em diferenças significativas na massa seca de milho.

#### 4.11.2 Cultura do rabanete

##### Experimento A – Avaliação do fornecimento de nitrogênio pela turfa

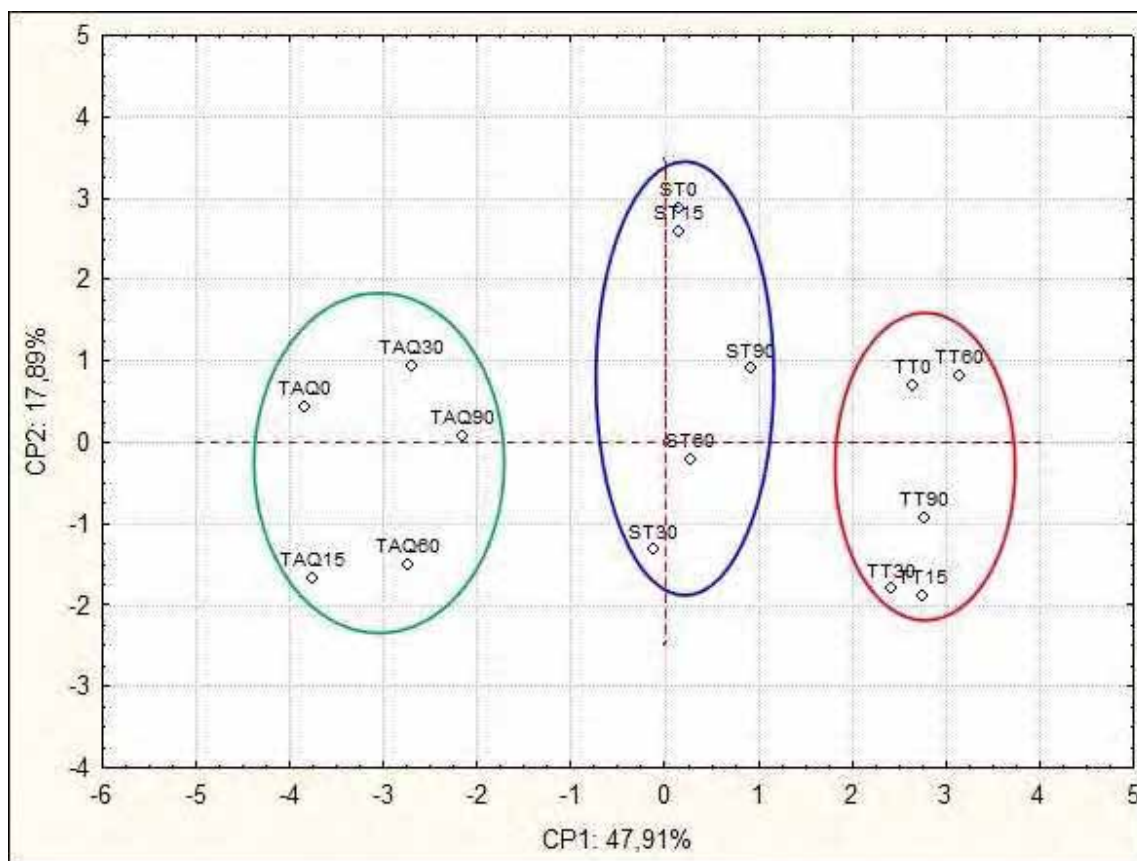
A Figura 44 mostra o dendograma e as Figuras 45 e 46 mostram as ACP's, obtidas para o experimento de fornecimento de nitrogênio pela turfa para a cultura do rabanete. Estes resultados são referentes à parte comestível da planta, denominado como raiz.



**Figura 44.** Dendrograma para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a raiz da cultura do rabanete.

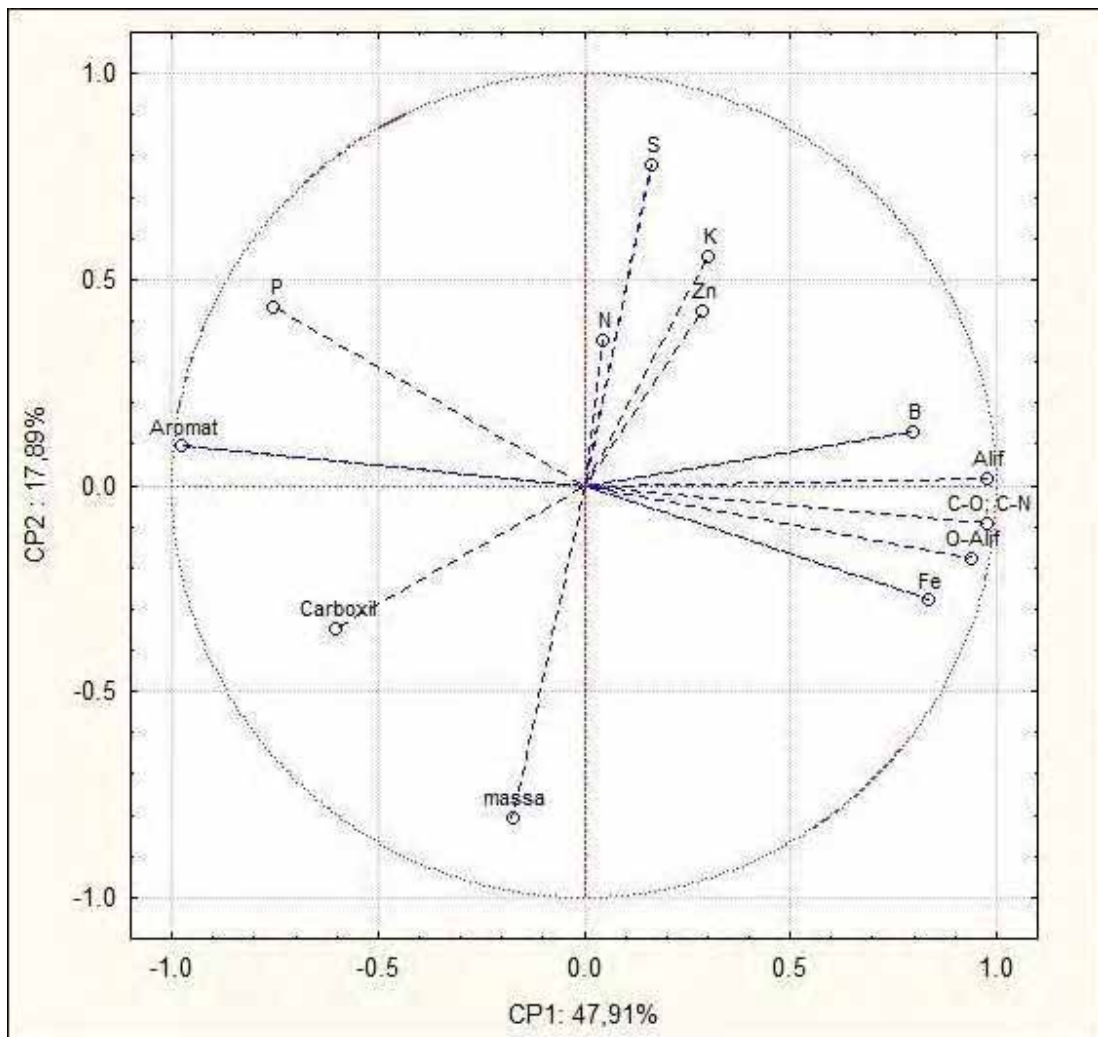
Assim como nos experimentos com o milho (A e B), houve formação de 3 grupamentos principais na HCA: (a) turfa 01 – TAQ; (b) turfa 02 – ST; (c) turfa 03 – TT. No entanto, os *clusters* formados não estão ordenados em função da dose de turfa aplicada. Com isso, os resultados mostram que os parâmetros determinados nas plantas de rabanete estão mais associados às características estruturais das turfas do que com as doses, em relação aos experimentos com milho. O dendrograma da Figura 44 mostra maiores distâncias de ligação associadas à amostra de turfa coletada no distrito de Taquaral (amostra 01). A Figura 45 também mostra os 3 grupamentos formados em função do tipo de amostra de turfa e com a CP<sub>1</sub>, a qual descreve 47,91 %

da variância dos dados, também se observa a maior separação entre os pontos referentes às amostras 01 (TAQ).



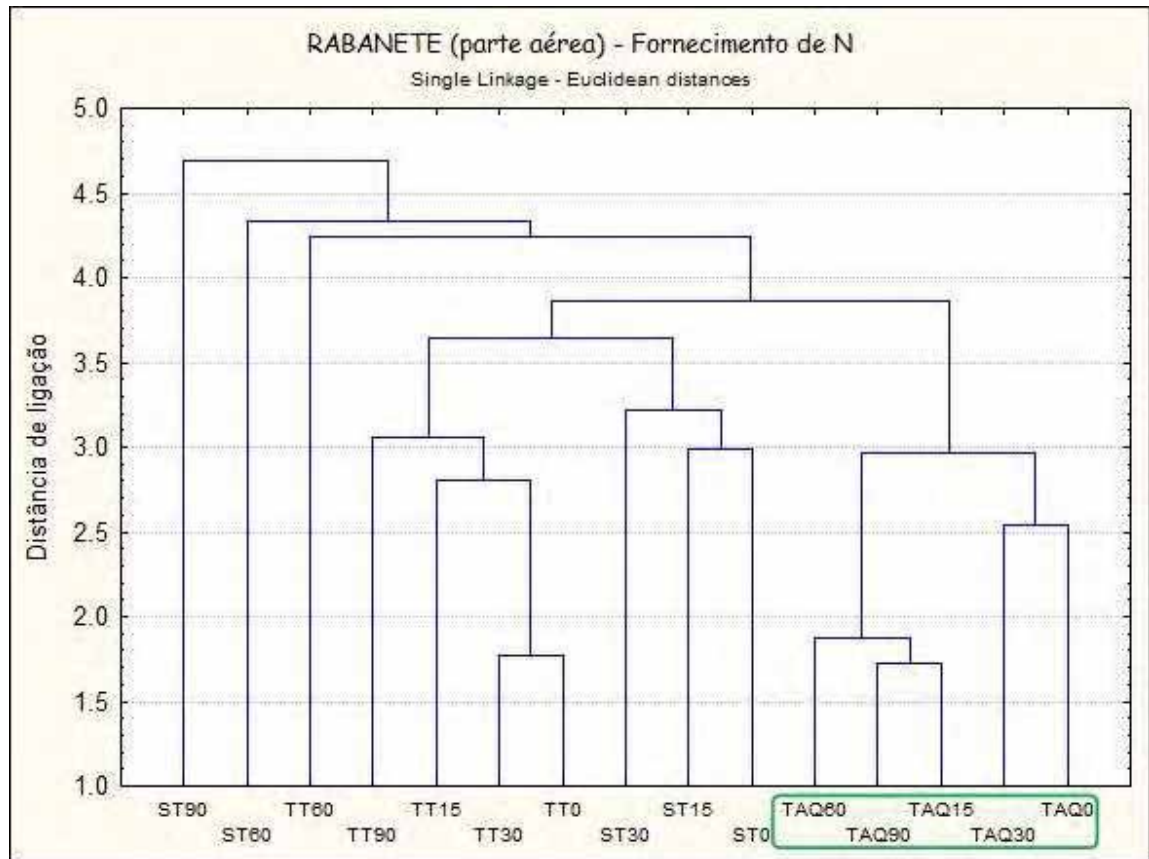
**Figura 45.** Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a raiz da cultura do rabanete.

Na Figura 46 estão relacionados os parâmetros analisados nas plantas de rabanete e as características estruturais das amostras de turfa. Pela CP<sub>1</sub>, verifica-se que a turfa TAQ (amostra 01), assim como observado para os experimentos com milho, também está relacionada com o teor de grupos aromáticos e carboxílicos das SH extraídas das amostras de turfa. Neste caso, os maiores teores de grupos aromáticos e carboxílicos das amostras coletadas em Taquaral favorecem a absorção do nutriente P. A turfa TT (amostra 03) se relaciona principalmente com os grupos alifáticos, C-O / C-N e O-alifáticos e com os nutrientes B e Fe.

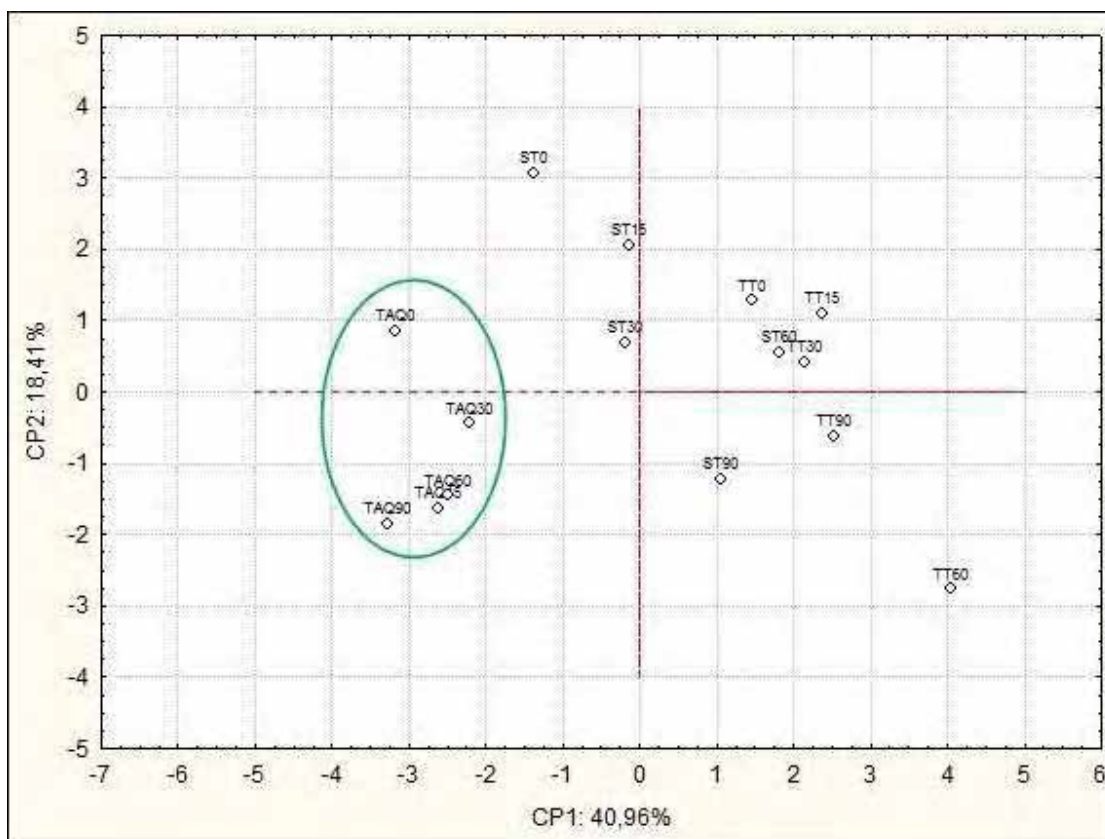


**Figura 46.** Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a raiz da cultura do rabanete.

As Figuras 47 a 49 se referem à parte aérea das plantas de rabanete. A Figura 47 mostra o dendograma e as Figuras 48 e 49 mostram as ACP's.

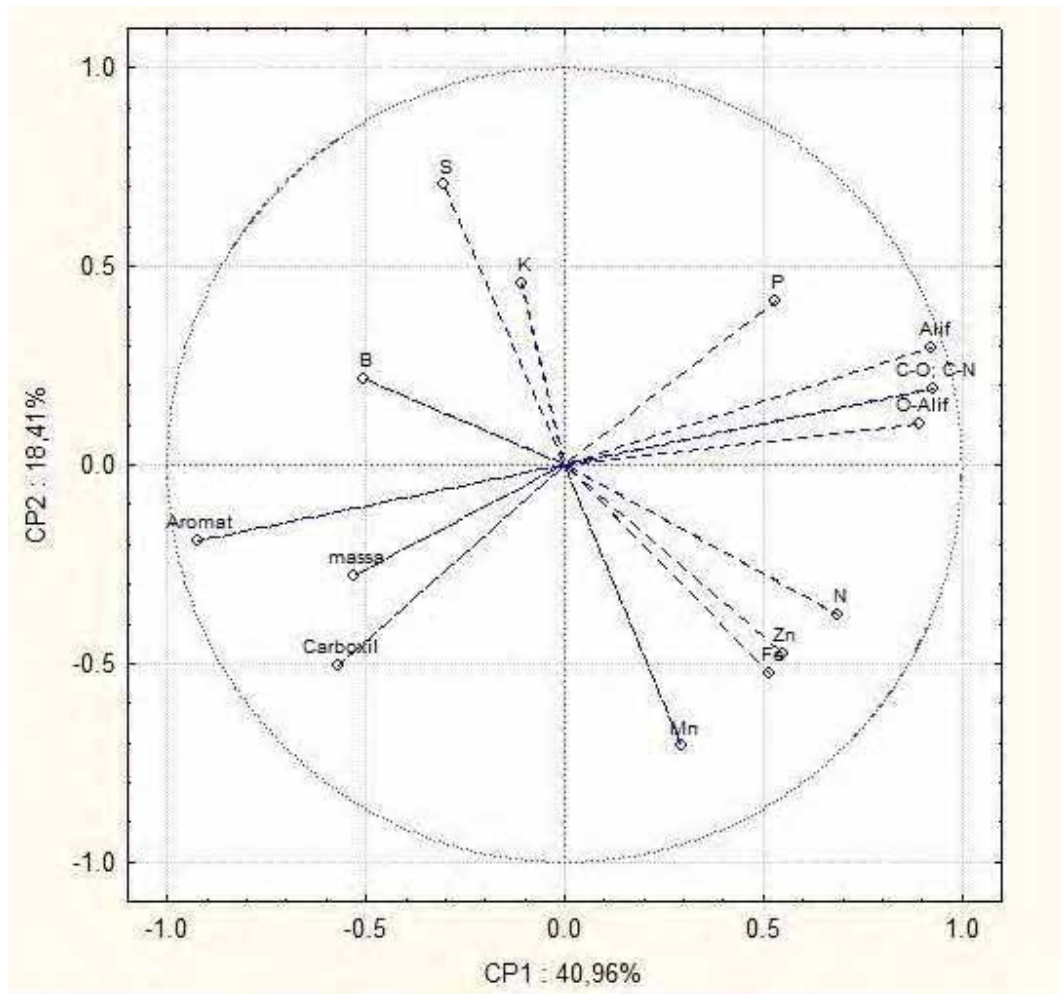


**Figura 47.** Dendograma para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a parte aérea da cultura do rabanete.



**Figura 48.** Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a parte aérea da cultura do rabanete.

Pelo dendograma e pela ACP da Figura 48, observa-se que dentre os *clusters* formados, apenas as amostras referentes à turfa coletada em Taquaral ficaram agrupadas. Estes resultados sugerem que o efeito residual da aplicação das turfas, ou seja, sua mineralização no intervalo de tempo entre os experimentos do milho e rabanete ocorreu de forma diferente para as amostras. É provável que este tempo ainda seja insuficiente para uma avaliação precisa sobre os efeitos residuais deste tipo de material, quando utilizados como substratos na agricultura.



**Figura 49.** Peso das variáveis e escores para o experimento de fornecimento de nitrogênio pelas amostras de turfas coletadas no Distrito de Taquaral-SP (TAQ) e no município de São Simão-SP (ST e TT) para a parte aérea da cultura do rabanete.

Com a CP<sub>1</sub> da Figura 49 (40,96 %), é possível relacionar os teores de grupos aromáticos e carboxílicos das SH extraídas das amostras TAQ com a maior absorção do nutriente B.

## 5 CONCLUSÕES

As diversas técnicas utilizadas nas caracterizações das amostras de turfa e das SH extraídas dessas matrizes (análise elementar, IV, RMN 13C / RMN-DOSY, HPSEC, granulometria), mostraram algumas diferenças estruturais entre elas.

Nos ambientes naturais as diferentes espécies metálicas coexistem e estão presentes como formas livres ou complexadas por ligantes orgânicos ou inorgânicos. Assim, durante o processo de complexação há uma competição natural entre essas espécies pelos sítios ligantes disponíveis. Estudos de complexação e troca geralmente são feitos apenas para alguns elementos e posteriormente extrapolados para outras espécies metálicas. No entanto, a crescente busca por alternativas agrícolas sustentáveis demandam que essas extrapolações sejam substituídas por conhecimentos gerados pelas experimentações, evitando generalizações errôneas ou superficiais sobre essas interações. Os resultados deste trabalho mostraram que as capacidades de complexação das espécies metálicas (Cu, Mg, Ca, Mn, Zn e Fe) correlacionaram-se linearmente com os grupos funcionais das SH, como segue:

-Cu e Zn: grupos alifáticos (0-45 ppm), C-O;C-N (45-65 ppm), O-Alif (65-90 ppm) e Aromáticos (90-155 ppm);

-Mg, Ca e Fe: grupos alifáticos e carboxílicos (155-190 ppm).

Os valores das capacidades de complexação dos íons Cu e Zn também se correlacionaram com o nível de agregação (massa molar) das SH.

Como as capacidades de complexação se correlacionam com os grupos funcionais e níveis de agregação das SH e essas correlações seguiram comportamentos distintos, pode-se inferir que as espécies metálicas possuem sítios preferenciais de complexação, reforçando a importância da caracterização estrutural das matrizes em estudo.

Estas relações lineares obtidas sugerem que o prévio conhecimento das características estruturais pode indicar qual das amostras complexará com mais eficiência uma determinada espécie metálica. Ou seja, baseado nos dados das caracterizações das amostras seria possível selecionar qual delas resultaria em melhores interações com os diferentes nutrientes, visando a aplicação das turfas ou das

SH nos setores agrícolas. Por exemplo, a partir dos resultados de uma análise de RMN  $^{13}\text{C}$ , poderia-se escolher qual das amostras disponíveis (com maiores ou menores teores de um grupamento de carbono) seria mais adequada para enriquecimento com um determinado nutriente, de acordo com a cultura a ser aplicada.

De modo geral, nos experimentos de cultivo do milho e do rabanete, apesar de não haver diferenças significativas no parâmetro 'massa seca', a aplicação da matéria orgânica na forma de turfa favoreceu a absorção de nutrientes, melhorando o estado nutricional das plantas.

Assim, apesar do pouco conhecimento científico sobre mecanismos e processos ocorridos quando turfas são incorporadas ao solo, a utilização dessas como produto comercial tem se mostrado um mercado promissor. Os resultados deste trabalho contribuem para o melhor entendimento sobre alguns fatores que influenciam as interações entre espécies metálicas e matéria orgânica do solo e esses estudos contribuirão para melhorias nas práticas agrícolas, refletindo em melhores produtividades e menores impactos ambientais.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, C. A.; LOPES, A. S.; SANTOS, G. C. G. Micronutrientes. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 645-736.
- ACHARD, F. K. Chemische untersuchung des torfs. **Crells**, v. 2, p. 391, 1786.
- ALLEN, S. J.; MURRAY, M.; BROWN, P.; FLYNN, O. Peat as an adsorbent of dyes and metals in wastewaters. **Res. Conserv. Rec.**, v. 11, p. 11- 25, 1994.
- ARAÚJO, A. B.; ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; ROMÃO, L. P. C. Distribuição de metais e determinação da constante de troca de frações húmicas aquáticas de diferentes tamanhos moleculares. **Quim. Nova**, v. 25, p. 1103-1107, 2002.
- ASTER, B.; BERGH, J. V.; BURBA, P. Characterization of aquatic humic substances and their metal species by using ligand exchange (EDTA) and multistage-ultrafiltration. In: ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS. **Anais...** São Carlos: EMBRAPA-CNPDIA, 1997. p. 131-132.
- BAILEY, S. E.; OLIN, T. J.; BRICKA, R. M.; ADRIAN, D. D. A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals. **Water Res.**, v. 33, p. 2469-2479, 1999.
- BARELLI, N. Caracterização granulométrica, mineralógica e microestrutural de solos usados como base de pavimentação rodoviária – **Relatório Semestral**, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, p. 38, 1979.
- BARROS NETO, B. de; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. 25 anos de quimiometria no Brasil. **Quim. Nova**, v. 29, p. 1401-1406, 2006.
- BEZERRA, P.; TAKIYAMA, L. R.; BEZERRA, C. W. B. Complexação de íons de metais por matéria orgânica dissolvida: modelagem e aplicação em sistemas reais. **Acta Amazon.**, v. 39, p. 639-648, 2009.
- BIASI, L. A.; BILIA, D. A. C.; SÃO JOSÉ, A. R.; FORNASIERI, J. L.; MINAMI, K. Efeito de misturas de turfa e bagaço-de-cana sobre a produção de mudas de maracujá e tomate. **Sci. Agr.**, v. 52, p. 239-243, 1995.
- BOTERO, W. G.; SANTOS, A.; OLIVEIRA, L. C.; ROCHA, J. C. Caracterização de lodo gerado em estações de tratamento de água: perspectivas de aplicação agrícola. **Quim. Nova**, v. 32, p. 2018-2022, 2009.
- BUFFLE, J.; STAUB, C. Measurement of complexation properties of metal ions in natural conditions by ultrafiltration: measurements of equilibrium constants for complexation of zinc by synthetic and natural ligands. **Anal. Chem.**, v. 56, p. 2837-2842, 1984.

BUFFLE, J. **Complexation reactions in aquatic systems: an analytical approach**. 2nd ed. New York: Ellis Horwood, 1990. 692 p.

BURBA, P.; SHKINEV, V.; SPIVAKOV, B. Y. On-line fractionation and characterization of aquatic humic substances by means of sequential-stage ultrafiltration. **J. Anal. Chem.**, v. 351, p. 74-82, 1995.

BURBA, P.; VAN DEN BERGH, J.; KLOCKOW, D. On-site characterization of humic-rich hydrocolloids and their metal loads by means of mobile size-fractionation and exchange techniques. **J. Anal. Chem.**, v. 371, p. 660-669, 2001.

BURNS, W. A.; MANKIEWICZ, P. J.; BENCE, A. E.; PAGE, D. S.; PARKERS, K. R. A. Principal-component and least-squares method for allocating polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment to multiple sources. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 16, p. 1119-1131, 1997.

CALDERONI, G.; SCHNITZER, M. Effects of age on the chemical structure of paleosol humic acids and fulvic acids. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 48, p. 2045-2951, 1984.

CANTARELLA, H.; FURLANI, P. R. Arroz de sequeiro. In: RAIJ, B.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônômico, 1997. p. 48-49.

CARDOSO, A. I. I.; HIRAKI, H. Avaliação de doses e épocas de aplicação de nitrato de cálcio em cobertura na cultura do rabanete. **Hortic. Bras.**, v. 19, p. 328-331, 2001.

CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA. Cultivos. Disponível em: <[www.cib.org.br/cultivo.php?chave=10](http://www.cib.org.br/cultivo.php?chave=10)>. Acesso em: 01 out. 2009.

CONTE, P.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A. Advanced CPMAS-<sup>13</sup>C NMR techniques for molecular characterization of size-separated fractions from a soil humic acid. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 386, p. 382-390, 2006.

COSTA, T. G.; MIRANDA, F. S.; SILVA, M. R.; SZPOGANICZ, B. P.; IANNUZZI, C. P.; SZPOGANICZ, B. Equilibrium studies of the interactions of Zn(II) and Cu(II) ions with humic acid by potentiometric titration, IR and fluorescence spectroscopy. **South. Braz. J. Chem.**, v. 16, p.1-10, 2008.

COUTINHO, E. L. M.; SILVA, E. J.; SILVA, A. R. Crescimento diferencial e eficiência de uso em zinco de cultivares de milho submetidos a doses de zinco em Latossolo Vermelho. **Acta Sci. Agron.**, v. 29, p. 227-234, 2007.

DAVIES, G.; GHABBOUR, E. A.; STEELINK, C. Humic acids: marvelous products of soil chemistry. **J. Chem. Educ.**, v. 78, p. 125-128, 2001.

DICK, D. P.; SILVA, L. B. da; INDA JUNIOR, A. V. Estudo comparativo da matéria orgânica de diferentes classes de solos de altitude do sul do Brasil por técnicas convencionais e espectroscópicas. **Rev. Bras. Cienc. Solo**, v. 32, p. 2289-2296, 2008.

EINAX, J.; KUNZE, C. Complexation capacity of aquatic systems in dependence on different ligands and heavy metals- electroanalytical investigations and statistical evaluation. **J. Anal. Chem.**, v. 354, p. 895-899, 1996.

EMBRAPA. Cultivo do milho. Disponível em:

<<http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho/index.htm>>. Acesso em: 21/09/2009.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. 412 p.

FAÇANHA, A. R.; FAÇANHA, A. L. O; OLIVARES, F. L.; GURIDI, F.; SANTOS, G. A. de; VELLOSO, A. C. X.; RUMJANEK, V. M.; BRASIL, F.; SCHRIPEMA, J.; BRAZ-FILHO, R.; OLIVEIRA, M. A. de; CANELLAS, L. P. Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.37, p.1301-1310, 2002.

FAGERIA, N. K. Níveis adequados e tóxicos de zinco na produção de arroz, feijão, milho, soja e trigo em solo de cerrado. **Rev. Bras. Eng. Agri. Amb.**, v. 4, n. 3, p. 390-395, 2000.

FERRAZ, M. V.; CENTURION, J. F.; BEUTLER, A. N. Caracterização física e química de alguns substratos comerciais. **Acta Sci. Agron.**, v. 27, n. 2, p. 209-214, 2005.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 2000. 402 p.

FLONERAGAN, J.; WEBB, M. J. Interactions between zinc and other nutrients affecting the growth of plants. In: ROBSON, A. D. (Ed.). **Zinc in soils and plants**. Dordrecht: Kluwer, 1993. p.119-134.

FRIMMEL, F. H. Complexation of paramagnetic metal ions by aquatic fulvic acids. In: BROEKAERT, J. A. C.; GÜCER, S.; ADAMS, F. (Ed.). **Metal speciation in the environment**. Berlim: Springer, 1990. p. 57-69.

GRIFFITH, S. M.; SCHNITZER, M. Analytical characteristics of humic and fulvic acids extracted from tropical volcanic soils. **Soil Sci. Amer. Proc.**, v. 39, p. 861-867, 1975.

HAHN, E. L. Spin Echoes. **Phys. Rev.**, v. 80, p. 580, 1950.

HATCHER, P. G.; BREYER, L. N.; DENNIS, G. E. Solid-state <sup>13</sup>C NMR of sedimentary humic substances: new revelations on their composition. In: CHRISTMAN, R. F.; GJESSING, E.T. (Ed.). **Aquatic and terrestrial humic materials**. Ann Arbor: Ann Arbor Science, 1983. p. 37-82.

HAYES, M. H. B. Humic substances: progress towards more realistic concepts of structures. In: DAVIES, G.; GHABBOUR, E. A. (Ed.). **Humic substances: structures, properties and uses**. Cornwall: MPG Books, 1998. p. 259-267.

HO, Y. S.; WASE, D. A. J.; FORSTER, C. F. The adsorption of divalent copper ions from aqueous solution by sphagnum moss peat. **Process Saf. Environ. Prot.**, v. 72, p. 185-194, 1994.

IBARRA, J. V.; JUAN, R. Structural changes in humic acids during the coalification process. **Fuel**, v. 64, p. 650-656, 1985.

KANASHIRO, S. K. M.; JOCYS, T.; DIAS, C. T. S.; TAVARES, A. R. Substratos alternativos ao xaxim na produção de bromélia ornamental. **Pesq. Agrop. Bras.**, v. 43, n. 10, p. 1319-1324, 2008.

HOWELL, K. A.; ACHTERBERG, E. P.; BRAUNGARDT, C. B.; TAPPIN, A. D.; WORSFOLD, P. J.; TURNER, D. R. Voltammetric in situ measurements of trace metals in coastal waters. **Trends Anal. Chem.**, v. 22, p. 828-835, 2003.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1985. 492 p.

KILDUFF, J.; WEBER, W. J. Transport and separation of organic macromolecules in ultrafiltration processes. **Environ. Sci. Technol.**, v. 26, p. 569-577, 1992.

KLÖCKING, R. Humic substances as potential therapeutics. In: SENESI, N.; MIANO, T. (Ed.). **Humic substances in the global environmental and implications on human health**. Amsterdam: Elsevier, 1994, p. 1245-1257.

KONONOVA, M. M. **Soil organic matter: its nature, its role in soil formation and in soil fertility**. New York: Pergamon Press, 1966. 544 p.

LAMIM, A. P. B.; JORDÃO, C. P.; PEREIRA, J. L.; BELLATO, C. R. Caracterização química e física de turfa litorânea e avaliação da adsorção competitiva por cobre e zinco. **Quim. Nova**, v. 24, p. 18-23, 2001.

LEAD, J. R.; WILKINSON, K. J.; BALNOIS, E.; CUTAK, B. J.; LARIVE, C. K.; ASSEMI, S.; BECKETT, R. Diffusion coefficients and polydispersities of the Suwannee River fulvic acid: comparison of fluorescence correlation spectroscopy, pulsed-field gradient nuclear magnetic resonance, and flow field-flow fractionation. **Environ. Sci. Technol.**, v. 34, p. 3508-3513, 2000.

LEAL, R. M.; FRANCO, C. F.; BRAGHIROLI, L. F.; ARTUR, A. G.; SABONARO, D. A.; BETTINI, M.; PRADO, R. M. Efeito da aplicação de zinco em sementes sobre a nutrição e a produção de massa seca de plantas de milho. **Acta Sci. Agron.**, v. 29, p. 491-496, 2007.

LUA, X. Q.; HANNAB, J. V.; JHNSONC, W. D. Source indicators of humic substances: an elemental composition, solid state <sup>13</sup>C CP/MAS NMR and Py-GC/MS study. **Appl. Geochem.**, v. 15, p. 1019-1033, 2000.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola: adubos e adubação**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1981. 596 p.

MARTINS, C. R.; MIRANDA, J. C.; MIRANDA, L. N. Contribuição de fungos micorrizicos arbusculares nativos no estabelecimento de arístida setifolia kunth em áreas degradadas do cerrado. **Pesq. Agrop. Bras.**, v. 34, p. 665-674, 1999.

MATHUTHU, A. S.; EPHRAIM, J. H. Calcium binding by fulvic acids studies by an ion selective electrode and an ultrafiltration method. **Talanta**, v. 40, p. 521-526, 1993.

McKAY, G.; PORTER, J. F. Crystal size engineering in melt suspension crystallization. **Chem. Eng. Res. Des.**, v. 2, p. 171-175, 1997.

McKAY, G.; VONG, B.; PORTET, J.F. The removal of dye colours from aqueous solutions by adsorption on low-cost materials. **Adsorpt. Sci. Technol.**, v. 16, p. 51, 1998.

McLELLAN, J. K.; ROCK, C. A. Pretreating landfill leachate with peat to remove metals. **Water, Air, Soil Pollut.**, v. 37, p. 203-215, 1988.

MESSIAS, R. A. **Avaliação estrutural de ácidos húmicos de vermicomposto e turfa por diferentes técnicas de caracterização**. 2004. 138 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

MINDÉLLO NETO, U. R. Enraizamento de estacas de pessegueiro em função do uso de ácido indolbutírico e fertilizante orgânico. **Rev. Bras. Frut.**, v. 27, p. 92-94, 2005.

MOORE, P. D. The ecology of peat-forming processes: a review. **Int. J. Coal Geol.**, v. 12, p. 89-103, 1989.

MORRIS, K. F.; CUTAK, B. J.; DIXON, A. M.; LARIVE, C. K. Analysis of diffusion coefficient distributions in humic and fulvic acids by means of diffusion ordered NMR spectroscopy. **Anal. Chem.**, v. 71, p. 5315-5321, 1999.

NEUBECKER, T. A.; ALLEN, H. E. The measurement of complexation capacity and conditional stability constants for ligands in natural waters. **Water Res.**, v. 17, p. 1-14, 1983.

NIFANT'EVA, T. I.; SHKINEV, V. M.; SPIVAKOV, B. Y.; BURBA, P. Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: a concise overview. Part 2. Evaluation of conditional stability constants by using ultrafiltration. **Talanta**, v. 48, p. 257-267, 1999.

OLIVEIRA, A. P.; TAVARES SOBRINHO, J.; NASCIMENTO, J. T.; ALVES, A. U.; ALBUQUERQUE, I. C.; BRUNO, G. B. Avaliação de linhagens e cultivares de feijão caupi em Areia-PB. **Hortic. Bras.**, v.20, p. 180-182, 2002.

OLIVEIRA, L. C.; SERUDO, R. L.; BOTERO, W. G.; MENDONÇA, A. G. R.; SANTOS, A.; ROCHA, J. C.; CARVALHO NETO, F. S. Distribuição de mercúrio em diferentes solos da Bacia do médio Rio Negro-AM: influência da matéria orgânica no ciclo biogeoquímico do mercúrio. **Quim. Nova**, v. 30, p. 274-280, 2007.

ORIOLO JUNIOR, V.; COUTINHO, E. L. M.; OTSUBO, A. A.; COUTINHO NETO, A. M. Adubação fosfatada corretiva para a cultura do milho. **Nucleus**, v. 5, p. 307-318, 2008.

PARDO, R.; BARRADO, E.; VEJA, M.; DEBAN, L.; TASCÓN, M. L. Voltammetric complexation capacity of waters of the Pisuerga river. **Water Res.**, v. 28, p. 2139-2146, 1990.

PARISH, R. V. **NMR, NQR, EPR, and Mössbauer spectroscopy in inorganic chemistry**. London: Ellis Horwood, 1990. 26 p.

PAULA, M. B.; CARVALHO, J. G.; NOGUEIRA, F. D.; MESQUITA, H. A. Curva de resposta e avaliação de extratores para zinco disponível em solos hidromórficos e aluviais sob arroz inundado. **Rev. Bras. Cienc. Solo**, v. 15, p. 49-55, 1999.

PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 85, p. 3533-3539, 1963.

PERDUE, E. M. Chemical composition, structure, and metal binding properties. In: HESSEN, D. O.; TRANVIK, L. J. (Ed.). **Aquatic humic substances/ecology and biogeochemistry**. New York: Springer-Verlag, 1998. p. 41-61.

PETRONI, S. L. G.; PIRES, M. A. F.; MUNITA, C. S. Adsorção de zinco e cádmio em colunas de turfa. **Quim. Nova**, v. 23, p. 477-481, 2000.

PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances. A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. **Adv. Agron.**, v. 75, p. 57-134, 2002.

PICCOLO, A. Differences in high performance size exclusion chromatography between humic substances and macromolecular polymers. In: GHABBOUR, E. A.; DAVIES, G. (Ed.). **Humic substances versatile components of plants, soil and water**. Cornwall: Royal Society of Chemistry, 2000. p. 111-124.

PICCOLO, A.; SPITELLER, M. Electrospray ionization mass spectrometry of terrestrial humic substances and their size-fraction. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 377, p. 1047-1059, 2003.

PICCOLO, A.; CONTE, P.; COZZOLINO, A. Chromatographic and spectrophotometric properties of dissolved humic substances compared with macromolecular polymers. **Soil Sci.**, v. 166, p. 174-185, 2001.

POPPI, N. R.; TALAMONI, J. Estudo dos ácidos húmicos e fúlvicos, extraídos de solos, por espectroscopia de infravermelho. **Quim. Nova**, v. 4, p. 281-285, 1992.

“Turfa: interações com espécies metálicas e estudo de parâmetros que influenciam na utilização em setores agrícolas”

PRADO, R. M.; ROZANE, D. E.; ROMUALDO, L. M.; MOURO, M. C. Acúmulo de nutrientes na parte aérea do milho cv. P30K75 em função da aplicação de fontes de zinco via semente. **Rev. Agric.**, v. 82, p.127-133, 2007.

RAIJ, B.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 285 p.

RASHID, M. A. Absorption of metals on sedimentary and peat humic acids. **Chem. Geol.**, v. 13, p. 115-123, 1997.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. **Substâncias húmicas aquáticas**: interações com espécies metálicas. São Paulo: Ed. UNESP, 2003. 138 p.

ROCHA, J. C.; SARGENTINI JUNIOR, É.; TOSCANO, I. A. S.; ROSA, A. H.; BURBA, P. Multi-method study on aquatic humic substances from the “Rio Negro” - Amazonas State/Brazil. Emphasis on molecular-size classification of their metal contents. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 10, p. 169-175, 1999.

ROCHA, J. C.; SARGENTINI JUNIOR, É.; ZARA, L. F.; ROSA, A. H.; SANTOS, A.; BURBA, P. Reduction of mercury(II) by tropical river humic substances (Rio Negro) – a possible process of the mercury cycle in Brazil. **Talanta**, v. 53, p. 551-559, 2000.

ROMÃO, L. P. C.; ARAÚJO, A. B.; ROSA, A. H.; ROCHA, J. C. Redução de cromo hexavalente por substâncias húmicas aquáticas imobilizadas em aminopropil sílica. **Ecletica Quim.**, v. 27, p. 383-391, 2002.

ROMÃO, L. P. C.; CASTRO, G. R.; ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; PADILHA, P. M.; SILVA, H. C. Tangential-flow ultrafiltration: a versatile methodology for determination of complexation parameters in refractory organic matter from Brazilian water and soil samples. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 375, p. 1097-1100, 2003.

ROSA, A. H. **Substâncias húmicas**: extração, caracterização, novas perspectivas e aplicações. 2001. 87 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.

ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; FURLAN, M. Substâncias húmicas de turfa: estudo dos parâmetros que influenciam no processo de extração alcalina. **Quim. Nova**, v. 23, n. 4, p. 472-476, 2000.

ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; FURLAN, M.; ZARA, L. F.; SANTOS, A. Oxidação das substâncias húmicas de turfa durante o processo de extração alcalina. Estudo espectroscópico na região do infravermelho e do visível. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE QUÍMICA, 37., 1998, Natal. **Anais...** Natal: ABQ, 1998. v. 47, p. 25-28.

- ROSA, A. H.; SIMÕES, M. L.; OLIVEIRA, L. C.; ROCHA, J. C.; MARTIN NETO, L.; MILORI, D. M. B. P. Multimethod study of the degree of humification of humic substances extracted from different tropical soils profiles in Brazil's Amazonian region. **Geoderma**, v. 127, p. 1-10, 2005.
- ROSOLEM, C. A.; FRANCO, G. R. Translocação de zinco e crescimento radicular em milho. **Rev. Bras. Cienc. Solo**, v. 24, p. 807-814, 2000.
- SALAU, J. S. I.; TAULER, R.; BAYONA, J. M.; TOLOSA, I. Input characterization of sedimentary organic contaminants and molecular markers in the northwestern Mediterranean sea by exploratory data analysis. **Environ. Sci. Technol.**, v. 31, p. 3482-3490, 1997.
- SANTOS, A.; BOTERO, W. G.; OLIVEIRA, L. C.; BELLIN, I. C.; ROCHA, J. C.; MENDONÇA, A. G. R. Interaction between humic substances and metallic ions: a study of the selectivity of humic substances and their possible therapeutic application. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 18, p. 824-830, 2007.
- SANTOS, A.; BELLIN, I. C.; CORBI, P. P.; CUIN, A.; ROSA, A. H.; REZENDE, M. O. O.; ROCHA, J. C.; MELNIKOV, P. Competition between humic substances and alpha-amino acids by metal species. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 15, p. 437-440, 2004.
- SARGENTINI JUNIOR, É.; ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; ZARA, L. F.; SANTOS, A. Substâncias húmicas aquáticas: fracionamento molecular e caracterização de rearranjos internos após complexação com íons metálicos. **Quim. Nova**, v. 24, p. 339-344, 2001.
- SCHMITZ, J. A. K.; SOUZA, P. V. D.; KAMPF, A. N. Propriedades químicas e físicas de substratos de origem mineral e orgânica para o cultivo de mudas em recipientes. **Cienc. Rural**, v. 32, p. 937-944, 2002.
- SCHNITZER, M.; KHAN, S. U. **Soil organic matter**. Amsterdam: Elsevier, 1978. 319 p.
- SCHULZE, E.D.; PROKUSCHKIN, A.; ARNETH, A.; KNORRE, N.; VAGANOV, A. Net ecosystem productivity and peat accumulation in a Siberian Aapa mire. **Chem. Phys. Meteorol.**, v. 54, p. 531-536, 2002.
- SEIN, L. C.; VARNUM, J. M.; JANSEN, S. A. Conformational modeling of a new building block of humic acid: approaches to the lowest energy conformer. **Environ. Sci. Technol.**, v. 33, p. 546-552, 1999.
- SERUDO, R. L.; OLIVEIRA, L. C.; ROCHA, J. C.; PATERLINI, W. C.; ROSA, A. H.; SILVA, H. C.; BOTERO, W. G. Reduction capability of soil humic substances from the Rio Negro basin, Brazil, towards Hg(II) studied by a multimethod approach and principal component analysis (PCA). **Geoderma**, v. 138, p. 229-236, 2007.

“Turfa: interações com espécies metálicas e estudo de parâmetros que influenciam na utilização em setores agrícolas”

SILVA, F.C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p. 77-149.

SIMPSON, A. J. Determining the molecular weight, aggregation, structures and interactions of natural organic matter using diffusion ordered spectroscopy. **Magn. Reson. Chem.**, v. 40, p. S72-S82, 2002.

ŠMEJKALOVÁ, D.; PICCOLO, A. Aggregation and disaggregation of humic supramolecular assemblies by NMR Diffusion Ordered Spectroscopy (DOSY-NMR). **Environm. Sci. Technol.**, v. 42, p. 699-706, 2008.

STATSOFT. *Statistica*. 6th ed. Tulsa: [s.n.], 2001.

STENSON, A. C.; MARSHALL, A. G.; COOPER, W. T. Exact masses and chemical formulas of individual Suwannee River fulvic acids from ultrahigh resolution electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectra. **Anal. Chem.**, v. 75, p. 1275-1284, 2003.

STEVENSON, F. J. **Cycles of soil**. Carbon, nitrogen, phosphorus, sulphur, micronutrients. New York: John Wiley, 1985. 380 p.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry**: genesis, composition and reaction. 2nd ed. New York: John Wiley, 1994. 496 p.

SUGUIO, K. **Introdução à sedimentologia**. São Paulo: Ed. EDUSP, 1973. 317 p.

SWIFT, R. S. Organic matter characterization. In: SPARKS, D. L. (Ed.). **Methods of soil analysis**: chemical methods. Maddison: SSSA, 1996. p. 1011-1069.

TANI, Y.; SOMA, M.; HARSANYI, E. G.; UMEZAWA, Y. Effect of dissolved oxygen on the response of Cu(II) ion-selective electrodes in metal buffer solutions. **Anal. Chim. Acta**, v. 395, p. 53-63, 1999.

THURMAN, E. M. Humic substances in groundwater. In: AIKEN, G. R.; McKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L.; MacCARTHY, P. (Ed.). **Humic substances in soil, sediment and water**: geochemistry, isolation and characterization. New York: John Wiley & Sons, 1985. p. 87-104.

TIPPING, E. **Cation binding by humic substances**. Cambridge: Cambridge University Press, 2002. 434 p.

TOWN, R. M.; POWELL, H. K. J. Ion-selective electrode potentiometric studies on the complexation of copper(II) by soil-derived humic and fulvic acids. **Anal. Chim. Acta**, v. 279, p. 221-233, 1993.

TSCHÖPEL, P.; KOTZ, L.; SHULZ, W.; VEBER, M.; TÖLG, G. Zur Ursache und Vermeidung systematischer fehler bei elementbestimmungen in wäßrigen lösungen im ng/ml - und pg/ml. **J. Anal. Chem.**, v. 302, p. 1-14, 1980.

TUSCHALL Jr., J. R.; BREZONIK, P. L. Application of continuous-flow ultrafiltration and competing ligand/differential spectrophotometry for measurement of heavy metal complexation by dissolved organic matter. **Anal. Chim. Acta**, v. 149, p. 47-58, 1983.

VAN den BERGH, J.; JAKUBOWSKI, B.; BURBA, P. Investigations on the conditional kinetic and thermodynamic stability of aquatic humic substance-metal complexes by means of EDTA exchange, ultrafiltration and atomic spectrometry. **Talanta**, v. 55, p. 587-593, 2001.

VANLOON, G. W.; DUFFY, S. J. **Environmental chemistry a global perspective**. New York: Oxford University, 2000. p. 258-281.

WERSHAW, R. L. Model for humus in soil and sediments. **Environ. Technol.**, v. 27, p. 814-816, 1993.

YAU, W. W.; KIRKLAND, J. J.; BLY, D. D. **Modern size exclusion chromatography**. New York: Wiley-Interscience, 1979. p. 318-326.

ZHANG, Y. J.; BRYAN, N. D.; LIVENS, F. R.; JONES, M. N. Complexing of metal ions by humic substances. In: GAFFNEY, J. S.; MARLEY, N. A. (Ed.). **Humic and fulvic: isolation, structure and environmental role**. Washington: American Chemical Society, 1996. p. 194-206.