



INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
E BIOTECNOLOGIA

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGÂNICA DE
SOLOS DE CLIMAS ÚMIDO E SEMIÁRIDO DE ALAGOAS: CONTRIBUIÇÃO NA
COMPLEXAÇÃO DINÂMICA DE Pb(II)

MARIA CÉLIA TAVARES

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

Campus A. C. Simões

Tabuleiro dos Martins

57072-970 - Maceió - AL

MARIA CÉLIA TAVARES

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGÂNICA DE SOLOS DE CLIMAS ÚMIDO E SEMIÁRIDO DE ALAGOAS: CONTRIBUIÇÃO NA COMPLEXAÇÃO DINÂMICA DE Pb(II)

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia (PPGQB) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), como requisito parcial para obtenção do grau de mestra em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Wander Gustavo Botero

Coorientador: Prof. Dr. Vinicius Del Colle

Maceió – AL

2018

Catálogo na fonte

Universidade Federal de Alagoas Biblioteca Central

Bibliotecária Responsável: Janis Christine Angelina Cavalcante

- T131e Tavares, Maria Célia.
Extração e caracterização de frações da matéria orgânica de solos de climas úmidos e semiáridos de Alagoas: contribuição na complexão dinâmica de Pb(II) / Maria Célia Tavares. – 2018.
70 f. : il. graf. tabs. color.
- Orientador: Wander Gustavo Botero.
Coorientador: Vinícius Del Colle.
Dissertação (mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2017.
- Bibliografia: f. 76-87.
Anexos: f. 89.
1. Solo. 2. Matéria orgânica - Caracterização. 3. Extração.
4. Complexação dinâmica – Pb(II). I. Título.

CDU: 546.817



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



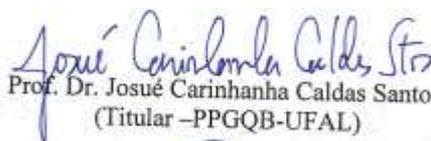
BR 104 Km14, Campus A, C. Sinões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone/Fax: (82) 3214-1144
email: ppgqb.ufal@gmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Dissertação de Mestrado de **Maria Celia Tavares**, intitulada: “EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGÂNICA DE SOLOS DE CLIMAS ÚMIDO E SEMIÁRIDO DE ALAGOAS: CONTRIBUIÇÃO NA COMPLEXAÇÃO DINÂMICA DE Pb(II)”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, em 27 de fevereiro de 2018, às 14h, na sala de aulas do PPGQB.

COMISSÃO JULGADORA


Prof. Dr. Wander Gustavo Botero
(Orientador)


Prof. Dr. Josué Carinhanha Caldas Santos
(Titular – PPGQB-UFAL)


Prof. Dr. Jackson Leite
(Titular externo – UFAL-Campus Arapiraca)

Dedico este trabalho a minha irmã Vanessa por sempre me motivar, sobretudo a ser feliz. Por segurar a barra em casa e por todo o cuidado. Por passar noites e fins de semana comigo na UFAL. À minha mãe, razão maior da minha luta, minha professora na escola da vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, Alfa e Ômega! Fortaleza e Refúgio!

Aos meus orientadores pela confiança e discussões para o desenvolvimento do projeto.

Aos meus familiares, principalmente à minha irmã Vanessa que sempre esteve ao meu lado, motivando, acreditando e suportando com sabedoria meus momentos de stress, desmotivação, isolamento e também descontração. Ao meu irmão Dione que sempre se mostrou orgulhoso de mim e se dispôs a ajudar no que fosse preciso.

À minha amiga Carol pela força em analítica avançada, pelas discussões construtivas, pelo amor, paciência e cuidado. Pela partilha recíproca e pela sabedoria ao ouvir, orientar, corrigir e suportar as minhas brincadeiras.

À minha amiga Larissa por todo acolhimento em sua casa várias e várias vezes. Pelas conversas, cafés, risadas e cuidado. Por liofilizar parte dos meus extratos.

À minha amiga Késia por me ajudar na entrega de amostras no LEMON - UFS e pelas conversas.

À minha amiga Bruna Soares pelas conversas e motivação

Ao professor Josué Carinhonha que me acolheu em analítica avançada e em seu laboratório. Pelos ensinamentos, pela compreensão e disponibilidade em ajudar com o desenvolvimento deste projeto.

Ao Walker pelas conversas motivadoras, pelos momentos de estudo e pela humildade.

À Angélica Feltrin pelo acolhimento em seu apartamento, pelas conversas e humildade

Ao Erismarck, à Amanda, à Alinne, à Tamyris e à Andresa pelas discussões.

À Bruna Kélvia pelo grande auxílio no LCAA e conversas mais que acadêmicas.

À Cícera e ao Ricardo pela companhia no LCAA, pelas discussões e positividade.

Ao Guimarães pelas conversas, ajuda com o inglês e todo apoio desde o início do mestrado.

Ao João Tiago por se fazer tão presente ao conversar comigo e proporcionar momentos de reflexão e também descontração. Pela preocupação e motivação.

Ao Elton por ajudar com parte das referências e pelos momentos de descontração.

Ao LEMON – UFS, em especial à Professora Luciane Romão e à Grazi, pelas análises de carbono orgânico total de 6 extratos.

Ao Professor Ginaldo IFAL -Marechal Deodoro (*in memoriam*) pelas análises de carbono orgânico total de 4 extratos, que possibilitou a andamento do meu trabalho.

Ao Professor José Roberto do LFNA – UFBA pela análise elementar das amostras de solo.

À professora Luciana Camargo – UFSCar Sorocaba pelas análises de MP AES.

Ao Laboratório de Química dos Solos – UFAL Arapiraca, em especial ao Técnico Sivaldo, ao Professor Cícero Gomes e aos alunos Léo e Caio.

Ao LPQRN – UFAL Maceió por disponibilizar o liofilizador.

Ao Adeildo pelas discussões sobre o meu trabalho, esclarecendo muitas dúvidas. Pela partilha de dificuldades vividas durante o mestrado. Pelos reagentes, vidrarias e equipamentos cedidos para a realização desse trabalho.

À Professora Silvia pelo apoio e disponibilidade do seu Laboratório.

Ao Professor Paulo Pinheiro pelas discussões e pelos ensinamentos na parte de eletroquímica.

Aos membros da banca da qualificação, Prof^a. Andrea e Prof. Josué, e da banca da defesa, Prof. Josué e Jakson Leite, pelas contribuições.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desse trabalho.

Muito obrigada!

Eu vos amo, Senhor, minha força!
O Senhor é o meu rochedo, minha fortaleza e meu libertador
Salmos 18, 2-3

RESUMO

O solo representa um dos maiores reservatórios de carbono com importante participação na regulação do clima e ciclos biogeoquímicos. A caracterização de compostos de carbono presentes no solo permite avaliar sua vulnerabilidade às mudanças climáticas, manejo e processo de biodisponibilidade de contaminantes. A extração é um importante passo para estudos envolvendo a matéria orgânica do solo e deve minimizar alterações estruturais nos compostos de origem. O Pb(II) é um metal potencialmente tóxico e sua disponibilidade para o ambiente depende da interação com os ligantes naturais. No presente estudo, foi realizada extração e caracterização de frações da matéria orgânica de solos para posteriormente avaliar a influência dessas frações na complexação dinâmica de Pb(II). As amostras de solos foram coletadas em duas cidades de Arapiraca-AL e Maceió-AL, localizadas em regiões de clima semiárido e úmido, respectivamente e caracterizadas físico-quimicamente. O solo de clima semiárido apresentou 4,5 % de matéria orgânica e valor 10 para a razão C/N por ser um solo utilizado na agricultura, enquanto o solo de clima úmido, apresentou 11,5 % de matéria orgânica e 16 para a razão C/N devido as condições hidromórficas da matriz, sendo mais humificado. A extração das frações foi realizada com: i) soluções de NaOH ii) solução de NaNO₃ e iii) chuva simulada. As frações foram caracterizadas por espectroscopia no UV-vis para obtenção dos parâmetros E₄/E₆, E₂/E₄ e E₂/E₃ e por fluorescência molecular para obtenção dos parâmetros de humificação A₄₆₅ e A₄/A₁; e volumetria ácido-base que é indicativo dos teores de grupos carboxílicos e fenólicos. As extrações levaram a obtenção de 10 frações, sendo cinco para cada solo, denominadas substâncias húmicas, ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, solução de solo e solução lixiviada do solo. Essas frações apresentaram diferentes valores de COT (entre 9,023 e 1177 mg L⁻¹) e características distintas. A análise quimiométrica, utilizando o software MINITAB 14, possibilitou a observação da similaridade das frações e a formação de três grupos distintos com base nos parâmetros de caracterização. O grupo de ácidos húmicos (79,40 % de similaridade), apresentando maior condensação aromática, tamanho molecular grau de humificação, teores de grupos carboxílicos e fenólicos. O grupo correspondente às soluções de solo, soluções lixiviadas e ácidos fúlvicos (62,24 % de similaridade) apresentaram menor condensação aromática, tamanho molecular, menor grau de humificação e teores de grupos carboxílicos e fenólicos. Esse grupo não apresentou similaridade com ácidos húmicos e 38,54 % de similaridade com o grupo das substâncias húmicas que, por sua vez, apresentou características intermediárias, formando um grupo com 86,16 % de similaridade. A capacidade de complexação e as constantes condições para os complexos formados foram determinadas via AGNES em pH 5 e 6. Os resultados mostraram que as diferentes frações possuem afinidade pelo chumbo formando complexos estáveis, com capacidade de complexação entre 0,81-61,8 mg de Pb(II) g⁻¹ de COT em pH 5 e 0,86-63,2 mg de Pb(II) g⁻¹ de COT em pH 6. Os ácidos húmicos apresentaram maiores capacidade de complexação e constantes de estabilidade do que as substâncias húmicas e do que as demais frações. Em pH 6 as capacidades de complexação e as constantes condicionais foram maiores, como resultado de alterações conformacionais e da maior dissociação de grupos carboxílicos e menor competição do íon H⁺ e do metal pelos sítios de complexação. Dessa forma, pode-se inferir que o procedimento de extração influencia nas características do material orgânico extraído, devido à seletividade do extrator empregado, e na complexação de Pb(II), o que é importante do ponto de vista ambiental, pois possibilita a obtenção de parâmetros mais realísticos para a fração mais reativa da MOS e sua contribuição na biodisponibilidade de Pb(II) no ambiente, para avaliações de risco e modelagem molecular.

Palavras-chave: Solo, Matéria Orgânica, Extração, Caracterização, Complexação dinâmica, Pb(II).

ABSTRACT

Soil represents one of the largest carbon reservoirs with important participation in climate regulation and biogeochemical cycles. The characterization of carbon compounds present in the soil allows measuring their vulnerability to climatic changes, handling and bioavailability process of contaminants. Extraction is an important step for studies involving soil organic matter and should minimize structural changes of the parent compounds. Pb(II) is a potentially toxic metal and its availability to the environment depends on the interaction with natural organic ligands. In the present study, extraction and characterization of soil organic matter fractions were carried out to evaluate the influence of these fractions on the dynamic complexation of Pb(II). Soil samples were collected in two cities of the state of Alagoas (Arapiraca and Maceió), located in semi-arid and humid climates; both samples were physical-chemically characterized. The soil with a semi-arid climate had 4.5% organic matter and a value of 10 for the C/N ratio because it is a soil used in agriculture, while humid climate soil had 11.5% organic matter and 16 for the C / N ratio due to the hydromorphic conditions of the sample, being more humidified. The extraction of the fractions was performed with: i) NaOH ii) NaNO₃ and iii) simulated rainfall. The characterization of the fractions was carried out by UV-vis spectroscopy to obtain E₄/E₆, E₂/E₄ and E₂/E₃ parameters and molecular fluorescence to obtain A₄₆₅ and A₄/A₁ humification parameters; and acid-base titration which is indicative of the contents of carboxylic and phenolic groups. The extractions led to the obtaining of 10 fractions, being five for each soil, denominated humic substances, humic acids, fulvic acids, soil solution and solution leached from the soil. These fractions presented different Total Organic Carbon (TOC) values (between 9,023 and 1177 mg L⁻¹) and different characteristics. The chemometric analysis, using the MINITAB 14, software made it possible to observe the similarity of the fractions and the formation of three distinct groups based on the parameters obtained in the characterization. The group of humic acids (79.40% of similarity), presenting higher aromatic condensation, molecular size, degree of humification, contents of carboxylic and phenolic groups. The group corresponding to soil solutions, leached solutions and fulvic acids (62.24% of similarity) presented lower aromatic condensation, molecular size, lower degree of humification and contents of carboxylic and phenolic groups. This group did not present similarity with humic acids and 38.54% of similarity with the group of humic substances, which presented intermediate characteristics, forming a group with 86.16% similarity. The complexing capacity and the constant conditions for the complexes formed were determined via AGNES and at pH 5 and 6. The results showed that the different fractions have Pb(II) affinity forming stable complexes, with complexing capacity between 0.81-61.8 mg of Pb (II) g⁻¹ COT at pH 5 and 0.86-63.2 mg of Pb (II) g⁻¹ COT at pH 6. Humic acids had higher complexing capacity and conditional constants than the humic substances and other fractions. At pH 6 complexation capabilities and conditional constants were higher as a result of conformational changes with increasing pH and of the greater dissociation of carboxyl groups and less competition of the H⁺ ion and the metal at the complexation sites. So, it can be supposed that the extraction procedure influences the characteristics of the extracted organic material, due to the selectivity of the extractor, and the interaction of this material with Pb (II), which is important from the environmental point of view, since it leads to obtaining of more realistic parameters for the most reactive fraction of Soil Organic Matter (SOM) and its contribution in the bioavailability of Pb(II) to the environment, for risk assessments and molecular modeling.

Key words: Soil, Organic matter, Extraction, Characterization, Dynamic complexation, Pb(II).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática de um hipotético perfil do solo.....	16
Figura 2 - Modelos estruturais propostos para a) ácido húmico e b) ácido fúlvico.....	18
Figura 3 - Resumo dos modelos conceituais para a matéria orgânica de solos.....	21
Figura 4 - a) Aplicação de potencial (E) durante um tempo de deposição (t_d) e corrente de oxidação (i_{ox}) para obtenção da b) curva E vs t em que o patamar corresponde ao tempo de transição (τ) e c) dt/dE vs E em que a área de pico é τ proporcional à concentração do metal.....	30
Figura 5 – a) Coleta dos solos nas cidades de a1) Arapiraca e a2) Maceió; b) Mapa dos tipos climáticos de Alagoas destacando as cidades de Arapiraca e Maceió.....	34
Figura 6 - Esquema da extração alcalina: I) Obtenção das SH (SHS, SHU); II) Fracionamento das SH em AHS, AHU, AFS e AFU; III) Purificação dos AH.....	37
Figura 7 - Esquema da extração com $NaNO_3$ para obtenção das soluções de solo (SSS e SSU).....	38
Figura 8 – I) Sistema utilizado na extração por chuva simulada; II) Extração das soluções lixiviadas do solo; III) Suspensão; IV) Extrato centrifugado e filtrado.....	39
Figura 9 – Representação do sistema utilizado para realização dos experimentos eletroquímicos: i) equipamento; ii) cela eletroquímica com três eletrodos.....	42
Figura 10 – Perfil i) verificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo; ii) deposição do filme de Hg(II) e iii) reoxidação do filme de Hg(II).....	43
Figura 11 - Espectros de absorção de radiação UV-vis para as frações a) SHS, SHU, AFS, AFU, AHS, AHU, a pH 8 e 10 mg L^{-1} em termos de COT; b) SSS e SSU c) SLS e SLU.....	55
Figura 12 - Espectros de emissão de fluorescência com excitação a) em 465 nm b) em 240 nm obtidos para SHS, SHU, AFS, AFU, AHS, AHU (10 mg L^{-1} de COT e pH 8), SSS, SSU, SLS e SLU (sem diluição a pH 8).....	59
Figura 13 - Curvas de carga total em função dos pH obtidas por titulação ácido-base ($n = 3$) para as diferentes frações da MOS.....	61
Figura 14 – Dendograma obtido por HCA em relação às características correspondentes aos parâmetros E_{465}/E_{665} , E_{270}/E_{407} , E_{250}/E_{365} , A_4/A_1 , A_{465} , Q_1 e Q_2	63
Figura 15 – Gráfico de PCA, PC1 e PC2, para os dados obtidos para a caracterização das diferentes frações da MOS e contribuição dos parâmetros (E_{465}/E_{665} , E_{270}/E_{407} , E_{250}/E_{365} , A_4/A_1 , A_{465} , Q_1 e Q_2) na distribuição dos grupos em PC1 e PC2.....	65

Figura 16 - a) Curva de SSCP (τ vs E_d) para Pb(II) com TMFE/carbono vítreo com $E_d = -0,78$ a $-0,41$ V; $t_d = 45$ s; $I_{ox} = 2\mu\text{A}$; $[\text{Pb}^{2+}] = 0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{NaNO}_3] = 0,01 \text{ mol L}^{-1}$	66
Figura 17 - a) Curva cronopotenciometria (τ vs t_d) construída para Pb(II) com TMFE em carbono vítreo com $E_d = -0,55$ V; $t_d = 120$ a 360 s; $I_{ox} = 2\mu\text{A}$; $[\text{Pb}^{2+}] = 0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{NaNO}_3] = 0,01 \text{ mol L}^{-1}$	67
Figura 18 – Curva para a determinação da capacidade de complexação da SLU com Pb(II) determinada via AGNES: $E_d = -0,55$ V; $t_d = 300$ s; $I_{ox} = 2 \mu\text{A}$; pH = 5; 25 mg L^{-1} COT em NaNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$	68
Figura 19 – Comportamento do metal complexado ($\log[\text{ML}]$ em função do metal livre ($\log[\text{Pb}^{2+}]_{\text{livre}}$) obtidos via AGNES: $E_d = -0,55$ V; $t_d = 300$ s; $I_{ox} = 2 \mu\text{A}$; NaNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ em a) pH 5 e b) pH 6.....	70
Figura 20 – Curvas K vs C, M total obtidas via AGNES para as diferentes frações da MOS, comparando as diferenças de complexação do Pb(II) em pH 5 e 6, $E_d = -0,55$ V; $t_d = 300$ s; $I_{ox} = 2 \mu\text{A}$; NaNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. a) Ácidos Húmicos, b) Substâncias húmicas, c) Ácidos fúlvicos, soluções de solo e soluções lixiviadas.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Técnicas empregadas na caracterização das frações da MOS, respectivos parâmetros, informações e principais referências.....	26
Tabela 3 – Parâmetros físico-químicos das amostras de solos de clima semiárido (SS) e clima úmido (SU): % MO (n = 3), C/N (n = 2), pH em H ₂ O, KCl 1 mol L ⁻¹ , Ca(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ em pH 7 (n = 3); CTC efetiva e total, %V e granulometria (n = 2).....	47
Tabela 3 – Concentrações de Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn associados às amostras de solos, determinados por MP AES (n = 3).....	50
Tabela 4 - Valores de carbono orgânico total (COT) determinados por combustão catalítica nas frações SHS, SHU, AFS, AFU, AHS, AHU (extraídas com NaOH 0,1 mol L ⁻¹), SSS, SSU (extraídas com NaNO ₃ 0,1 mol L ⁻¹) e SLS, SLU (obtidas por chuva simulada).....	51
Tabela 5 - Valores de íons Cl ⁻ (mmol L ⁻¹) presentes nas diferentes frações da MOS, obtidos a partir da titulação de Mohr.....	52
Tabela 6 - Metais coextraídos: Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn em mg L ⁻¹ obtidos por MP AES para todas as frações da MOS extraídas com NaOH, NaNO ₃ e chuva simulada.....	54
Tabela 7 - Valores dos parâmetros E ₄₆₅ /E ₆₆₅ , E ₂₅₀ /E ₃₆₅ e E ₂₇₀ /E ₄₀₇ obtidos por UV-vis para as diferentes frações da MOS.....	58
Tabela 8 - Índice de humificação, A ₄₆₅ e A ₄ /A ₁ obtidos para as diferentes frações de MOS a partir da metodologia de Milori et al. (2002) e Zsolnay et al. (1999).....	60
Tabela 9 - Valores médios (n = 3) correspondentes aos grupos carboxílicos (Q ₁) e fenólicos (Q ₂) obtidos para cada fração da MOS.....	62
Tabela 10 – Valores médios de capacidade de complexação (CC) para as frações da MOS com Pb(II) determinadas via AGNES: E _d = - 0,55 V; t _d = 300 s; I _{ox} = 2 μA; pH = 5 e 6; NaNO ₃ 0,01 mol L ⁻¹ ,(n =2).....	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A – Ampére

A_{465} – Área total da curva de emissão com excitação em 465 nm

A_4/A_1 – Área sobre o maior quarto de emissão (A_4)/Área sobre o menor quarto de emissão (A_1)

AF – Ácido fulvico

AFS – Ácido fúlvico do solo de clima semiárido

AFU – Ácido fúlvico de clima úmido

AGNES – Cronopotenciometria de redissolução nernstiana na ausência de gradientes

AH – Ácido húmico

AHS – Ácido húmico de solo de clima semiárido

AHU – Ácido húmico de clima úmido

$C_{L,T}$ – concentração total do ligante

$C_{M,T}$ – concentração total do metal

C_{ML} – concentração do complexo na solução

C/N – Razão Carbono/Nitrogênio

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

COT – Carbono Orgânico Total

CTC – Capacidade de troca catiônica

Da – Dalton

dt/dE – Derivada do tempo em função do potencial

E – Potencial

Ed – Potencial de deposição

E_2/E_3 – Razão entre as absorbâncias em 250 e 365 nm

E_2/E_4 – Razão entre as absorbâncias em 207 e 470 nm

E_4/E_6 – Razão entre as absorbâncias em 465 e 665 nm

h – constante de proporcionalidade

HCA – *Hierarchical cluster analysis*

IHSS – *International Humic Substance Society*

I_{ox} – Corrente de oxidação

K – Constante de estabilidade

kDa – Quilodalton

kPa – Quilopascal

LOD – Limite de detecção

LOQ – Limite de quantificação

M – Metal livre

MES – Ácido 2-N-morfolinoetanosulfônico

ML – Metal complexado

MO – Matéria orgânica

MOPS – Ácido 3-N-morfolinopropanosulfônico

MOS – Matéria orgânica de solos

MP AES – *Microwave Plasma-Atomic Emission Spectrometer*

NO_x – Óxidos de nitrogênio

PCA – *Principal components analysis*

Q₁ – teor de grupos carboxílicos

Q₂ – teor de grupos fenólicos

SCP – Cronopotenciometria de redissolução anódica

SH – Substâncias húmicas

SHS – Substâncias húmicas do solo de clima semiárido

SHU – Substâncias húmicas do solo de clima úmido

SLS – Solução lixiviada do solo de clima semiárido

SLU – Solução lixiviada do solo de clima úmido

SSS – Solução de solo de clima semiárido

SSCP – Cronopotenciometria de redissolução anódica com varredura de potencial

SSU – Solução de solo de clima úmido

τ – Tempo de transição

t_d – Tempo de deposição

UFAL – Universidade Federal de Alagoas

UFS – Universidade Federal de Sergipe

UFSCar – Universidade Federal de São Carlos

UV-Vis – Ultravioleta visível

W – Watts

%V – Saturação por bases

μS cm⁻¹ – Microsiemens por centímetro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Solo	16
1.2 Matéria Orgânica do solo.....	16
1.3 Modelos da matéria orgânica do solo.....	17
1.3.1 Humificação clássica.....	17
1.3.2 Preservação seletiva.....	19
1.3.3 Decomposição progressiva	19
1.3.4 Solo contínuo.....	20
1.4 Extração da matéria orgânica de solos.....	22
1.4.1 Extração alcalina.....	22
1.4.2 Extração moderada.....	23
1.4.3 Extração por chuva simulada.....	24
1.5 Caracterização estrutural das diferentes frações da MOS.....	25
1.6 Quimiometria.....	27
1.7 Interação da MOS com espécies metálicas.....	28
1.7.1 Modelo de complexação de espécies metálicas com frações da MOS.....	29
1.7.2 Cronopotenciometria de redissolução (SCP).....	30
1.7.3 Cronopotenciometria de redissolução no equilíbrio nernstiano e na ausência de gradientes (AGNES).....	30
1.8 Chumbo no ambiente.....	31
2. OBJETIVOS.....	33
2.1 Objetivo geral.....	33
2.2 Objetivos específicos.....	33
3. EXPERIMENTAL.....	34
3.1 Coleta e preparo das amostras de solo.....	34
3.2 Caracterização físico-química do solo.....	34
3.2.1 Determinação do teor de matéria orgânica.....	34
3.2.2 Determinação de carbono e nitrogênio.....	35
3.2.3 pH do solo.....	35
3.2.4 Granulometria, CTC e percentagem de saturação por bases (%V)	36
3.2.6 Metais associados à MOS.....	36
3.3 Extração das frações da MOS.....	36

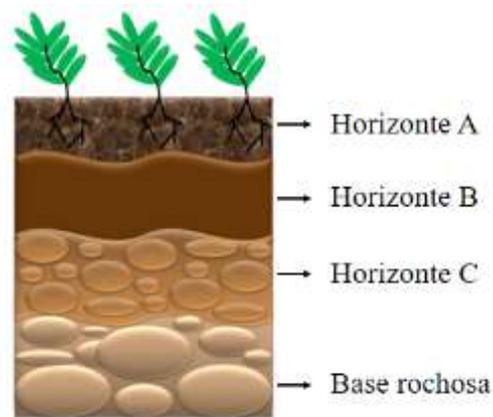
3.3.1 Extração com NaOH.....	36
3.3.2 Extração com NaNO ₃	37
3.3.3 Extração por chuva simulada.....	38
3.3.4 Liofilização das frações.....	39
3.4 Caracterização físico-químicas das frações.....	39
3.5 Caracterização estrutural dos extratos.....	40
3.5.1 Estudos por espectrometria de absorção por UV-vis.....	40
3.5.2 Estudos por espectrometria de fluorescência molecular.....	40
3.5.3 Determinação dos teores de grupos fenólicos e carboxílicos.....	41
3.6 Estudos de complexação de Pb(II) por frações da MOS.....	42
3.6.1 Preparo do eletrodo de trabalho.....	42
3.6.2 Otimização dos parâmetros para AGNES.....	43
3.6.3 Calibração.....	44
3.6.4 Condições para determinação das constantes de estabilidade dos complexos e capacidade de complexação de Pb(II) pelas frações da MOS.....	45
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	46
4.1 Caracterização físico-química das amostras de solos.....	46
4.1.1 Metais associados ao solo.....	49
4.2 Características físico-química das diferentes frações da MOS.....	51
4.3 Caracterização estrutural das diferentes frações da MOS.....	55
4.3.1 Características estruturais obtidas por UV-vis.....	55
4.3.2 Características estruturais obtidas por fluorescência molecular.....	59
4.3.3 Grupos carboxílicos e fenólicos presentes nas frações.....	61
4.4 Quimiometria.....	63
4.5 Contribuição das diferentes frações da MOS na complexação de Pb(II).....	66
4.5.1 Otimização dos parâmetros para AGNES.....	66
4.5.2 Calibração.....	67
4.5.3 Titulação das diferentes frações da MOS por íons Pb(II).....	68
5. CONCLUSÃO.....	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
ANEXO I.....	87

1. INTRODUÇÃO

1.1 Solo

O solo é um importante componente da geosfera que consiste em uma mistura variável de minerais, matéria orgânica e água, capaz de suportar a vida vegetal na superfície da terra, resultado da ação de intemperismo devido aos processos físicos, químicos e biológicos. Geralmente apresenta horizontes com profundidades distintas (Figura 1). O horizonte A com maior atividade biológica, enriquecida com matéria orgânica em vários estágios de decomposição e microrganismos, caracterizando a parte mais fértil do solo e também mais vulnerável à erosão por água e vento (HILLEL, 2003; MANAHAN, 2001).

Figura 1 - Representação esquemática de um hipotético perfil do solo



Fonte: Adaptado de MANAHAN, 2001

O horizonte B apresenta uma porosidade reduzida, maior espessura do que o horizonte A, podendo dificultar trocas gasosas e drenagem de água. O horizonte C é constituído pelo material rochoso fragmentado seguido da base rochosa (MANAHAN, 2001). O caráter do perfil depende principalmente do clima que prevaleceu durante o processo de formação do solo, do material original, da vegetação, da topografia e do tempo de formação (HILLEL, 2003).

1.2 Matéria Orgânica do solo

A matéria orgânica do solo (MOS) é o produto da decomposição de plantas e animais sob ação de microrganismos. Inclui todos os constituintes orgânicos do solo, desde tecidos de plantas e animais não decompostos ou em decomposição parcial e a biomassa do solo (STEVENSON, 1994). Representa a principal fonte de carbono orgânico do solo, que é fundamental no balanço de carbono, elementos do solo, sustentabilidade ambiental e condições climáticas (SANTOIEMMA, 2017).

Estima-se que a MOS contém mais carbono orgânico do que a vegetação global e a atmosfera combinadas. Além disso, participa de reações com nutrientes e contaminantes, o que melhora o crescimento das plantas e protege a qualidade da água, pois o solo é uma fonte importante de carbono orgânico aquático (por lixiviação por meio das chuvas), com implicações para processos biogeoquímicos em rios, lagos e sistemas estuarinos (LEHMANN & KLEBER, 2015; TOMAZONI, e GUIMARÃES, 2015.; LAL, 2004).

Apesar da importância reconhecida, há uma visão divergente da natureza da MOS, pois depende de processos biológicos, químicos e físicos na transformação de material vegetal e compostos orgânicos que são capazes de associar-se com os minerais do solo (LEHMANN & KLEBER, 2015). As divergências podem estar associadas à complexidade dos primeiros compostos extraídos a partir da MOS (substâncias húmicas) e variabilidade de resultados das diferentes origens e procedimentos de extração e purificação (PINHEIRO et al., 2017).

1.3 Modelos da matéria orgânica do solo

É possível destacar quatro modelos para o destino dos insumos orgânicos no solo: 1) Humificação clássica; 2) Preservação seletiva; 3) Decomposição progressiva e 4) Modelo de solo contínuo. Os fragmentos de plantas e animais são primeiro degradados por enzimas a um tamanho inferior a 600 Daltons antes de serem ativamente transportadas através de paredes celulares dos microrganismos. Assim, em um solo vivo, existe um contínuo de compostos orgânicos diferentes e em vários estágios de decomposição (LEHMANN & KLEBER, 2015).

1.3.1 Humificação clássica

Na década de 1990, a pesquisa sobre a MOS exigia que a fase orgânica fosse separada da fase mineral. A extração básica se mostrou mais eficiente, tornando-se amplamente adotada e aceita para procedimentos experimentais, levando ao modelo de humificação. As macromoléculas resultantes são consideradas ricas em estruturas de carbono específicas à humificação e resistentes à decomposição (LEHMANN & KLEBER, 2015).

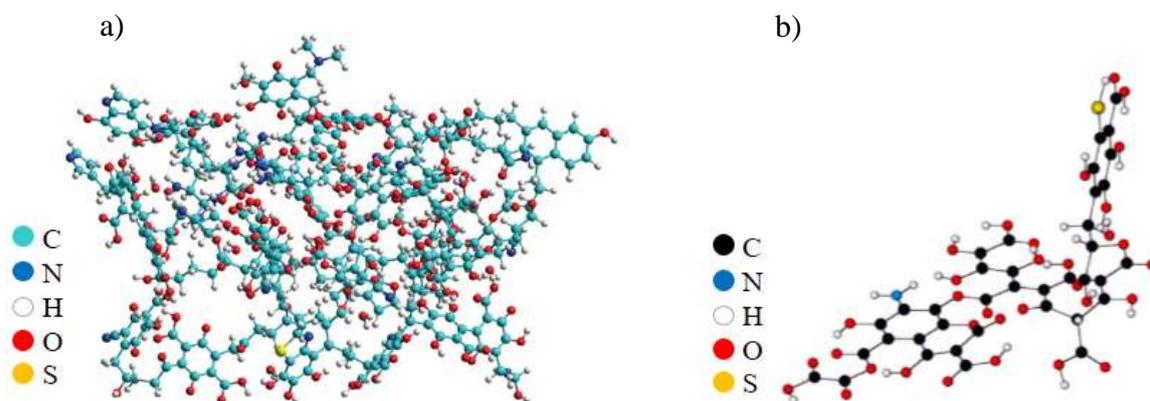
Nesse modelo, a MOS é 20% (m/m) de compostos orgânicos com estrutura química definida, como carboidratos, aminoácidos e hidrocarbonetos, e cerca de 80% (m/m) substâncias húmicas (SH) com estrutura química supramolecular indefinida com elevada massa molecular e resistência à degradação (BUFFLE, 1984). As SH podem ser originadas a partir da condensação de açúcares, ligninas, polifenóis ou quinonas e consideradas úteis para o ambiente participando da capacidade de troca catiônica (CTC), quimicamente reativas e relevantes para modelos biogeoquímicos (LEHMANN & KLEBER, 2015; STEVENSON, 1994).

As SH apresentam uma variedade de grupos funcionais, como ácidos carboxílicos, grupos fenólicos, enólicos e hidroxílicos, quinonas e compostos de nitrogênio presente como nitrilas e estruturas heterocíclicas (STEVENSON, 1994). Podem ser operacionalmente fracionadas, de acordo com a Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS, 2017), com base na diferença de solubilidade em meio aquoso em: ácido húmico (solúvel em extrato alcalino, que precipita após acidificação), ácido fúlvico (solúvel em toda faixa de pH) e humina (pouco solúvel em qualquer intervalo de pH).

Propostas estruturais para as SH são apresentadas desde 1960, pouco satisfatórias devido à complexidade e heterogeneidade estrutural, e falta de uma identidade estrutural influenciada pelo grau e mecanismo de decomposição. Em 1993, os primeiros modelos destacavam centros aromáticos com grupos alifáticos, carboxílicos, fenólicos, alcoólicos e nitrogenados (SCHAUMANN & THIELE-BRUHN, 2011). A estrutura do ácido húmico apresenta espaços que podem alojar outros compostos orgânicos, inorgânicos, hidrofílicos ou hidrofóbicos, como lipídios, carboidratos e pesticidas. Uma das primeiras estruturas para o ácido fúlvico proposta por Buffle (1970), destacava anéis aromáticos e componentes alifáticos.

O conceito de química supramolecular para SH destaca associação de pequenas moléculas unidas por interações não covalentes, explicando o tamanho molecular aparente. Os ácidos fúlvicos seriam pequenas micelas dispersas pela repulsão eletrostática das cargas negativas originadas da dissociação de grupos ácidos presentes. As micelas dos ácidos húmicos apresentam estruturas hidrofóbicas estabilizadas em pH 7 por forças dispersivas hidrofóbicas (π - π , CH- π e forças de Van der Waals), possibilitando a aproximação gradual com o decréscimo do pH até a precipitação (SANTOS et al., 2015). Na Figura 2 destacam-se os modelos estruturais para os ácidos húmicos e fúlvicos.

Figura 2 - Modelos estruturais propostos para a) ácido húmico e b) ácido fúlvico.



Fonte: SCHAUMANN & THIELE-BRUHN, 2011; ALVAREZ-PUEBLA et al., 2006

Segundo Piccolo (2001), o pH influencia na estrutura devido à protonação da molécula e aumento das ligações de hidrogênio. Os ácidos fúlvicos apresentam maior solubilidade, polaridade e menor tamanho molecular. Os ácidos húmicos apresentam baixa solubilidade em meio ácido, condição encontrada nos solos brasileiros, responsáveis pela CTC em camadas superficiais de solos que é mais afetada pelo aporte de resíduos orgânicos. A humina apresenta baixa reatividade e solubilidade em qualquer faixa de pH, água ou álcool e é responsável por mecanismos de agregação de partículas (ROCHA & ROSA, 2003).

1.3.2 Preservação seletiva

Esse modelo pressupõe que os insumos orgânicos são formados por compostos lábeis (de fácil decomposição) e resistentes à degradação (estáveis) usados por microrganismos quando os compostos lábeis são esgotados. Em condições adequadas, alguns microrganismos têm a capacidade de decompor compostos resistentes mais rapidamente do que o previsto, incluindo aromáticos policondensados, alcanos, petróleo bruto na água do mar, entre outros (LEHMANN & KLEBER, 2015; SOUCÉMARIANADIN et al., 2017).

A formação do solo afeta a estabilização e a desestabilização da MOS, bem como a idade dos materiais de origem, por meio de efeitos sobre mineralogia e macroestrutura. O destino do C orgânico no solo é determinado pela competição de processos químicos, físicos e microbianos. Define-se uma estrutura de interação entre as informações desses processos para minimizar as inconsistências da dinâmica da MOS, considerando interações moleculares como a complexação, sorção, atividade enzimática entre outras (SOLLINS et al., 1996).

A variação na composição da MOS afeta sua decomposição e mineralização, que são processos críticos para a formação de solo, liberação de nutrientes e balanço líquido de carbono. O modelo apresentado se concentra na desestabilização e estabilização da MOS com respeito à conversão para CO₂, mas pode ser útil com respeito à erosão, lixiviação, agricultura e mineralização, permitindo avaliação da resposta do ecossistema às mudanças climáticas e práticas de manejo do solo (SOUCÉMARIANADIN et al., 2017; SOLLINS et al., 1996).

1.3.3 Decomposição progressiva

A matéria orgânica, nesse modelo, consiste em uma série de fragmentos orgânicos e produtos microbianos de todos os tamanhos em vários estágios de decomposição. As substâncias húmicas extraídas por álcalis constituem uma mistura de compostos identificáveis tais como fragmentos de plantas ou microrganismos, que são distribuídos em diferentes microagregados (LEHMANN & KLEBER, 2015).

Ao longo do processo de degradação, esses materiais permanecem em uma trajetória de declínio energético, ao contrário da hipótese de substâncias húmicas, cuja síntese exigiria investimentos de energia para os quais ainda não há evidências termodinâmicas precisas (LEHMANN & KLEBER, 2015). A evidência atual sugere que essas substâncias húmicas são uma mistura complexa de polímeros microbianos e vegetais e seus produtos de degradação associados em superestruturas estabilizadas por ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas (COTRUFO et al., 2013).

1.3.4 Solo contínuo

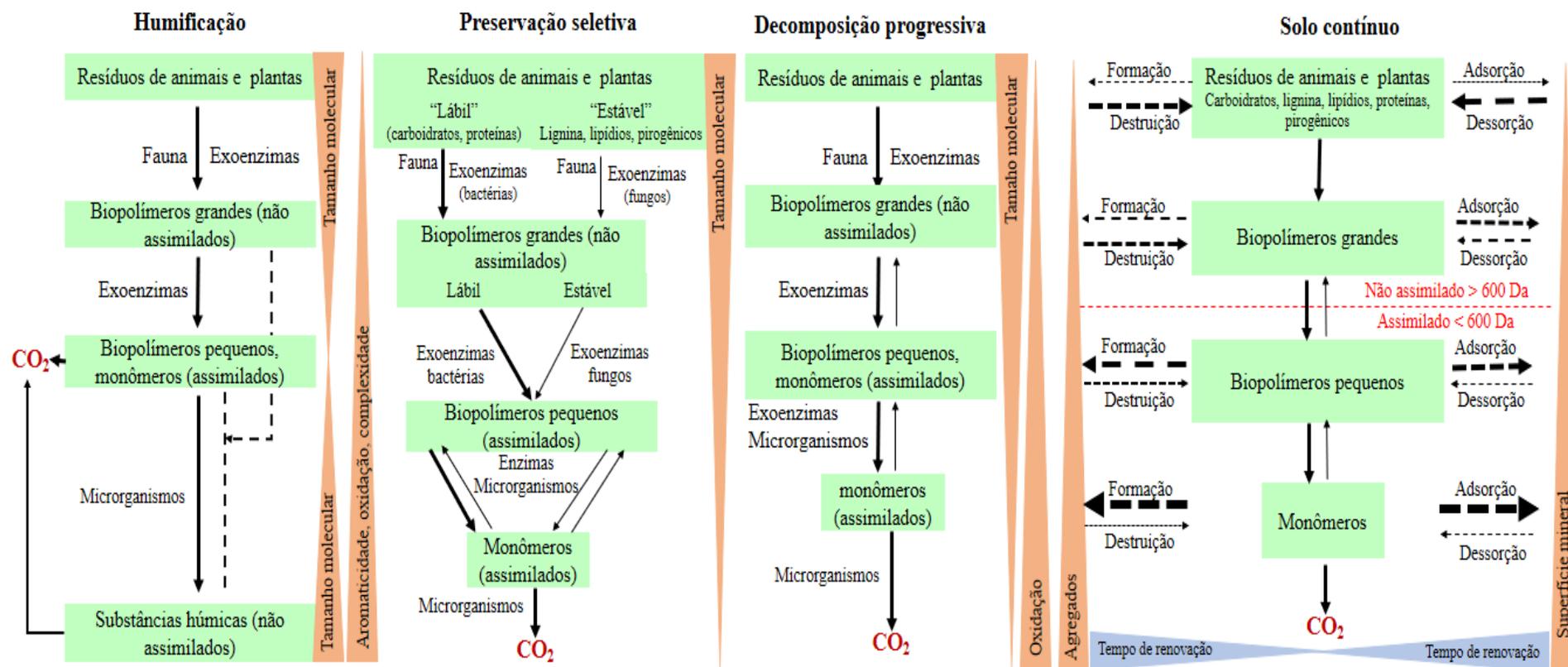
Nesse modelo a MOS existe como um *continuum* de fragmentos orgânicos que são processados pelos microrganismos em direção a um menor tamanho molecular. A decomposição de moléculas grandes leva a uma diminuição no tamanho do material vegetal primário com aumentos simultâneos em grupos polares e ionizáveis e a solubilidade em água. Ao mesmo tempo, aumenta a proteção contra decomposição adicional com maior reatividade para superfícies minerais e incorporação em agregados (LEHMANN & KLEBER, 2015).

Está de acordo com a necessidade na disposição espacial da MOS e no controle ambiental como temperatura, umidade ou mineralogia do solo (LEHMANN & KLEBER, 2015). Pode ocorrer adsorção seguida por dessorção, reações de troca e degradação biótica ou abiótica. Além disso, a organização espacial da MOS dentro da superfície mineral, a partir de grupos funcionais específicos responsáveis pela interação com a superfície mineral, é um ponto de controle de quantidade e qualidade da MOS, possibilitando a formação de carbono orgânico estável e que pode ser rapidamente utilizado no crescimento de plantas (LEHMANN, 2008).

Como a MOS é uma fonte de carbono orgânico em rios, lagos e sistemas estuarinos, sua retenção é de grande interesse para se ter um melhor equilíbrio nas taxas de carbono global uma vez que, nos sistemas aquáticos, grande proporção do carbono orgânico é emitida como CO₂ ou retido em sedimentos fluviais e oceânicos (LEHMANN & KLEBER, 2015). A influência da MOS às mudanças climáticas, no entanto, permanece incerta devido à complexidade da dinâmica que controla a sua formação e decomposição, que são dependentes do material de origem, interação com minerais ou processamento biogeoquímico (TFAILY et al., 2017).

Dessa forma, um estudo adequando da MOS disponível para interagir com elementos de origem antrópica bem como transportada para outros compartimentos ambientais deve considerar a contribuição total da matriz solo. A Figura 3 mostra um resumo dos modelos propostos para a origem da MOS, a fim de se obter conclusões mais realísticas das reações que ocorrem no ambiente.

Figura 3 - Resumo dos modelos conceituais para a matéria orgânica de solos.



Fonte: Adaptado de LEHMANN & KLEBER, 2015

1.4 Extração da matéria orgânica de solos

Para melhor compreender o comportamento da MOS no ambiente e sua interação com nutrientes e contaminantes, torna-se importante a etapa de extração. As futuras interpretações envolvendo a MOS dependerão das condições experimentais utilizadas no procedimento de extração. Assim, é importante o desenvolvimento de estratégias analíticas que permitam extrair MOS com mínimas alterações nas estruturas originais, em tempo relativamente curto, elevado rendimento e baixo teor de contaminantes (ROSA, ROCHA, FURLAN, 2000).

Devido à complexidade estrutural das SH, algumas dificuldades de comparação interlaboratorial dos resultados desde às primeiras extrações fizeram surgir a IHSS, em 1981 no sentido de estabelecimento de padrões certificados de SH. O objetivo principal era recomendar a padronização de procedimentos para coleta, extração e purificação de ácido húmicos e fúlvicos de solo, leonardita, turfa e águas naturais (PINHEIRO et al., 2017).

De acordo com Pinheiro et al. (2017) e Lehman & Kleber (2015) existem algumas interrogações acerca da representatividade ambiental, gênese e estrutura química das SH e suas frações (ácidos húmicos e fúlvicos) extraídas por álcalis. Dessa forma, uma diversidade de extratores como $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, agentes complexantes, ácido fórmico, misturas ácidas e solventes orgânicos são empregados buscando compreender o efeito do extrator nas características das frações (ROSA, ROCHA, FURLAN, 2000). Mesmo havendo riscos de alterações estruturais, há pesquisadores que preferem a extração das SH utilizando álcalis, pois apresenta rendimento superior (80%) à extração com $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (pH 9,8) (30%), por exemplo (PRIMO, MENEZES, SILVA, 2011; ROSA, ROCHA, FURLAN, 2000; TONELLI *et al.*, 1997).

De modo geral, pode-se considerar duas classes de extratores: os alcalinos e os moderados. O extrator é escolhido conforme o objetivo do trabalho, podendo-se utilizar até uma sequência de extratores, onde parte do material é extraído com extratores moderados e posteriormente com solventes alcalinos. (ROSA, ROCHA, FURLAN, 2000;). A seguir, algumas vantagens e desvantagens de alguns extratores dessas duas classes serão destacadas, e a importância de estudo da matéria orgânica com base em sua solubilidade em água.

1.4.1 Extração alcalina

As soluções de NaOH 0,1 e 0,5 mol L⁻¹ proporção 1:10 (m/v), como na metodologia proposta pela maioria dos pesquisadores associados a IHSS, ou 1:20 (m/v) têm sido mais utilizadas na extração da MOS. A IHSS recomenda um pré-tratamento do solo com HCl, visando potencializar ainda mais a extração pela remoção de cálcio e outros cátions polivalentes. Entretanto, nessa etapa cerca de 5% do material designado ácido fúlvico (AF) de

baixo peso molecular é perdido (ROSA, 1998). Outros pontos da metodologia são criticados, pois esse extrator traz alguns riscos, de acordo com Stevenson (1982):

- i) A possibilidade de sílica dissolvida contaminando as frações orgânicas extraídas;
- ii) Componentes estruturais de tecidos orgânicos frescos dissolvidos;
- iii) Autoxidação de alguns constituintes orgânicos em na ausência de atmosfera inerte;
- iv) Alterações químicas como a condensação de aminoácidos, quinonas ou aldeídos aromáticos formando espécies semelhantes aos húmicos, inclusive com o tratamento HCl/HF na purificação dos AH.

Levando em consideração esses riscos, a metodologia adota passos para diminuir problemas da utilização de NaOH, como a extração em atmosfera de $N_{2(g)}$, redissoluções em soluções contendo KOH, KCl, HCl, HF a fim de remover, por floculação, material inorgânico e favorecer a ruptura de ligações entre SH e argilas ou silicatos (STEVENSON, 1982).

Rosa et al. (2005) realizaram um trabalho para avaliar a influência da extração alcalina nas características das substâncias húmicas extraídas de sete amostras de solo utilizando análise termogravimétrica e indicaram que essa extração leva à alteração das características das SH durante o processo de extração, tais como autoxidação e quebra de macromoléculas.

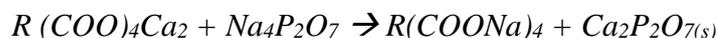
A extração do material orgânico ocorre preferencialmente pelo rompimento de ligações de hidrogênio entre as próprias moléculas orgânicas e com a superfície do mineral; e por reação de troca de ligantes entre as hidroxilas do meio e os grupos carboxílicos e fenólicos da molécula da MOS, pelos quais está coordenada na superfície hidroxilada do mineral (DICK et al., 1998).

1.4.2 Extração moderada

A extração moderada é frequentemente efetuada com uma classe de extratores mais seletivos, como $Na_4P_2O_7$, sais neutros, agentes complexantes ácido fórmico, misturas ácidas entre outros. Esses extratores diminuem a ocorrência de alterações estruturais e minimiza os passos de purificação, porém são menos efetivos quantitativamente (ROSA, 1998).

Em muitos solos, o Ca(II), o Fe(II), o Al(III) e outros cátions polivalentes são responsáveis pela forma pouco solúvel do material orgânico. Reagentes como $(NH_4)_2C_2O_4 \cdot H_2O$ e o $Na_4P_2O_7$ que inativam esses cátions, formando precipitados de baixa solubilidade, liberam o material orgânico para a forma solúvel (ROSA, 1998). O principal mecanismo de extração utilizando $Na_4P_2O_7$ consiste no rompimento das pontes catiônicas que unem as moléculas de MOS entre si e/ou com a superfície mineral, decorrente da complexação do ânion $P_2O_7^{4-}$ com cátions polivalentes participantes da interação (STEVENSON, 1994, DICK et al., 1998).

De acordo com Canellas & Santos (2005), o pirofosfato de sódio em pH 7 vem sendo usado como agente complexante de cátions polivalentes, como Ca(II), Fe(II) e Al(III) que, pela formação de complexos pouco solúveis, permite a solubilização das SH de acordo com a reação apresentada a seguir, onde R é o radical orgânico:



Esse mecanismo pode ser estendido para outros sais inertes. Os sais de sódio são considerados bons extratores de material orgânico por diminuir alterações estruturais, mas são poucos utilizados devido ao reduzido potencial extrator e pode elevar os teores de Ca(II), Fe(II) e Al(III), representando um problema de contaminação para o extrato orgânico (ROSA, 1998). O uso do Na₄P₂O₇, pode diminuir a autooxidação, mas extrai material húmico com maior teor de silício e ainda incorpora unidades de fosfato nas estruturas (CANELLAS & SANTOS, 2005)

1.4.3 Extração por chuva simulada

A chuva simulada é normalmente empregada para estudos de erosão do solo (OLIVEIRA et al., 2012; PANACHUKI et al., 2006), irrigação de diferentes culturas (SANTOS et al., 2012) e perdas de nutrientes por lixiviação (SCHAEFER et al., 2002). Sabe-se que a MO serve como um reservatório de nutrientes e água no solo que ajuda a reduzir a compactação e aumenta a infiltração de água no solo (LIU et al., 2009), entretanto são poucos os trabalhos que avaliam as características estruturais da matéria orgânica lixiviada do solo.

Embora a MO dissolvida compreenda uma pequena fração da MOS, ela desempenha um papel importante na biogeoquímica do carbono orgânico, nitrogênio e fósforo, e também no transporte de poluentes (LIU et al., 2009). Essa MO é extraída por mecanismo de interação com a água como ligações de hidrogênio e dipolo-dipolo. A água apresenta vantagens quando comparada com solventes orgânicos, pois estes são caros, com aspectos negativos à saúde e também são contaminantes do meio ambiente (LUONG, SEPHTON, WATSON, 2015).

Em se tratando de uma chuva ácida, normalmente de origem antropogênica por causa da presença de SO₂ e NO_x na atmosfera, uma série de problemas ambientais são desencadeados, como acidificação do solo, efeitos na vegetação, mudanças da composição química da MOS e mobilidade e disponibilidade de metais no solo. Além disso, a chuva ácida exerce um efeito significativo sobre o equilíbrio de adsorção-dessorção da MOS (LIU et al., 2009).

A lixiviação de solos pelas chuvas e as consequentes águas de rolamento superficial fluem para os cursos de água, transportando a MO, que aparece sob as formas dissolvida e particulada. A percolação de águas de chuva nas camadas de solo e subsolo produzem

transferência de parte dessa MO para as águas subterrâneas e pode agregar-se a materiais geológicos produzindo sedimentos (STEVENSON, 1982).

O carbono orgânico dissolvido, inclusive em água doce, é derivado da solubilização da MO e pode ser lixiviado do ambiente terrestre para os ecossistemas aquáticos. Ele desempenha um papel crucial no carbono orgânico das turfeiras, pois representa uma perda de carbono orgânico da própria turfa e quando chegam no sistema aquático pode sofrer degradação biológica ou fotoquímica, liberando CO₂, CH₄, e CO para a atmosfera (COOK et al., 2017)

A obtenção da MO dissolvida poderia ser feita em condições de campo e sob chuva natural, mas este método é oneroso e demorado, tornando a chuva simulada uma alternativa vantajosa. Entretanto, a utilização de chuva simulada possui limitações como a impossibilidade de reproduzir fielmente as características de chuvas naturais como intensidade, duração, energia e impacto das gotas e dificuldade de comparação dos resultados obtidos, devido às diversificações de simuladores de chuva e tipos de parcelas (PANACHUKI et al., 2006).

1.5 Caracterização estrutural das diferentes frações da MOS

Devido a heterogeneidade na composição química das MOS e suas frações, a caracterização estrutural é muito importante para melhor compreensão da atividade e dinâmica dessas substâncias no ambiente natural. Além disso, no estudo empregando diferentes extratores, a caracterização química apresenta-se como um mapeamento da seletividade do extrator quanto ao tipo de estruturas preferencialmente extraídas, tornando-se um diferencial quando se busca uma maior representatividade das substâncias existentes no ambiente.

A química da MOS e suas frações no ambiente é pouco compreendida, por isso a caracterização é importante para entender as alterações químicas da MOS em diferentes situações como manejo, eventos naturais, ciclo do carbono e desenvolver modelagem de mudanças climáticas globais (SANTOS et al., 2015).

As SH e a MOS como um todo desempenham uma função importante no ambiente como na estrutura do solo, formação de complexos com metais tóxicos, adsorção de contaminantes orgânicos e em processo de assimilação de nutrientes pelas plantas. A descrição desses fenômenos exige um detalhamento estrutural das substâncias que compõem a MOS, com indicativo de reatividade associada à diversidade de grupos funcionais e flexibilidade estrutural (CANELLAS & SANTOS, 2005; ROSA et al. 2005).

Diferentes técnicas e metodologias são aplicadas para a caracterização química de extratos da MOS, pois permitem um melhor mapeamento acerca das estruturas orgânicas

presentes e elementos inorgânicos coextraídos, tornando-se também um indicativo da necessidade de purificação do material extraído.

A espectroscopia de absorção ultravioleta-visível (UV-vis) e infravermelho, fluorescência molecular na região UV-vis, volumetria ácido-base, ressonância magnética nuclear (RMN ^{13}C e RMN ^1H) e espectrometria de massas permitem uma caracterização dos extratos e a obtenção de informações como grau de humificação (MILORI et al., 2002; ZSOLNAY et al., 1999) grau de aromaticidade, agregação molecular, fragmentos orgânicos com específica m/z e grupos funcionais presentes (CANELLAS & SANTOS, 2005).

Para informações acerca das estruturas orgânicas presentes nas frações da MOS, as técnicas utilizadas nesse trabalho e os principais parâmetros que podem ser obtidos estão apresentadas na Tabela 1. Os estudos referenciados empregaram essas técnicas em amostras de frações da MO tanto de solo como aquática ou de frações de referência da IHSS. A associação das diferentes técnicas e metodologias permite um conjunto de informações e uma melhor caracterização do material orgânico extraído evidenciando as particularidades de cada fração.

Tabela 1 – Técnicas empregadas na caracterização das frações da MOS, respectivos parâmetros, informações e principais referências.

Técnica	Parâmetros	Informação	Referências
Espectrometria de absorção UV-vis	<ul style="list-style-type: none"> • E_{465}/E_{665} • E_{250}/E_{365} • E_{270}/E_{407} 	<ul style="list-style-type: none"> • Inversamente proporcional à condensação aromática; Inversamente proporcional à agregação molecular; • Proporcional aos derivados da lignina (inversamente proporcional à humificação). 	CANELLAS & SANTOS, 2005; FUENTES et al, 2006 AZEVEDO & NOZAKI, 2008 SLOBODA et al., 2009 TADINI et al., 2014
Espectrometria de fluorescência molecular na região UV-vis	<ul style="list-style-type: none"> • A_{465} • A_4/A_1 	<ul style="list-style-type: none"> • Proporcional à humificação; • Proporcional à humificação. 	ZSOLNAY et al., 1999 MILORI et al., 2002 SANTOS et al., 2015
Volumetria ácido-base	<ul style="list-style-type: none"> • Q_1 e Q_2 	<ul style="list-style-type: none"> • Número de mols de grupos carboxílicos e fenólicos 	RITCHIE e PERDUE, 2003 LOPÉZ et al., 2012 BAIDOO et al., 2014. FLEURY, 2016.

Fonte: Elaborado pela autora, 2018

1.6 Quimiometria

A quimiometria é a área da química que trata da análise multivariada de dados químicos que considera a relação entre muitas variáveis analisadas simultaneamente e permite a extração de informações mais relevantes (SENA et al., 2000). Os métodos mais empregados são análise de componentes principais (PCA do inglês *Principal Component Analysis*) e análise de agrupamentos hierárquicos (HCA do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*).

PCA e HCA são análises importantes quando se trata de estudos envolvendo matrizes ambientais, devido ao grande número de pontos amostrais ou variáveis necessárias para estudos como determinação de elementos no solo (DEMATTE et al., 2017; MATOS et al., 2017), qualidade do solo (ZUBER et al., 2017) estudos envolvendo a MOS; (GUIGUE et al., 2014; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2017; GOULAS et al., 2017) e influência das substâncias húmicas na biodisponibilidade de metais (BOTERO et al., 2014).

A PCA tem por finalidade básica a redução de dados a partir de combinações lineares das variáveis originais. A PCA decompõe uma matriz de dados brutos representado em duas matrizes, uma “scores” e a outra “loadings”, cujos eixos são componentes principais nos quais os dados são projetados. Os “scores” são as projeções das amostras na direção das componentes principais, à medida que “loadings” são os cossenos dos ângulos formados entre a componente principal e cada variável original (SENA et al., 2000; SANTOS et al., 2013).

As combinações lineares são as componentes principais. A PC1 e PC2 correspondem à máxima variância (máxima informação), sendo PC2 ortogonal a PC1 e a terceira componente também é de máxima variância, porém ortogonal às duas primeiras PCs. Como esses eixos são calculados em ordem decrescente de importância, muitas vezes a informação relevante fica concentrada nas duas ou três primeiras PCs (BARROS NETO et al., 2006).

A HCA possibilita a visualização gráfica de todo o conjunto de dados, mesmo com elevado número de amostras e variáveis, agrupando as amostras que são semelhantes entre si, baseando-se na similaridade dos participantes de um mesmo grupo e nas diferenças entre os participantes de grupos diferentes. Essa representação gráfica é chamada dendograma que é um gráfico bidimensional independente do número de variáveis do conjunto de dados, permitindo a visualização das distâncias entre as amostras ou variáveis (MOITA & MOITA, 1998).

A principal informação obtida a partir da HCA é a similaridade de cada amostra com base na distância euclidiana. Quanto maior a distância, menor será a similaridade das amostras. Já a PCA permite a simplificação das informações gerando um novo conjunto de variáveis, que são as componentes principais, que gera um gráfico das duas principais componentes com maior

correlação apresentando os grupos formados pelas amostras e quais as variáveis que mais influenciam na formação desses grupos.

Neste trabalho, as interações entre as variáveis foram tratadas matematicamente a partir das análises HCA e PCA, que considera simultaneamente todas as variáveis e permite uma visão mais ampla dos resultados. Essas análises fornecem informações úteis para uma melhor comparação do comportamento das diferentes frações de MOS extraídas, ou seja, quais são mais semelhantes ou diferentes, baseando-se em todos os parâmetros obtidos nas caracterizações.

1.7 Interação da MOS com espécies metálicas

Tem sido cada vez mais comum a presença de metais potencialmente tóxicos em ambientes naturais como resultado da mineração, indústria, agricultura e crescente urbanização. Ao mesmo tempo, surge uma preocupação com a biodisponibilidade desses metais, uma vez que podem trazer diferentes prejuízos à saúde humana e ao ambiente do ponto de vista da ecotoxicologia. Assim, é importante compreender a contribuição da MOS na biodisponibilidade, mobilidade e toxicidade de metais potencialmente tóxicos em ambientes naturais (DOMINGOS et al., 2014; CHITO et al., 2012).

A toxicidade de muitos elementos depende do estado de oxidação e da sua tendência a formar complexos com ligantes inorgânicos ou orgânicos como a MOS. A interação dos íons metálicos com os diferentes ligantes naturais, como macromoléculas e partículas tem sido cada vez mais reconhecida como característica fundamental do ambiente (DOMINGOS et al., 2008). As diferentes frações da MOS apresentam-se como ligantes naturais polifuncionais, que afetam a biodisponibilidade de contaminantes pela formação de complexos de diferentes solubilidades e estabilidade química e bioquímica (LEITA et al., 2009).

As frações da MOS influenciam a absorção, biodisponibilidade, transporte, fixação e toxicidade de espécies metálicas nos sistemas ambientais. Essa interação pode ocorrer por interações covalentes, eletrostáticas ou hidrofóbicas com grupos como ácidos carboxílicos, fenólicos, alcóolicos mas também outros sítios ionizáveis de grupos contendo nitrogênio e enxofre. No entanto, além das frações da MOS serem heterogêneas na composição química, tamanho e polifuncionidade são polieletrólitos porosos e hidratados que apresentam mudanças conformacionais dependentes do pH e da força iônica, o que influencia no processo de complexação de espécies metálicas (DOMINGOS et al., 2014; ROCHA & ROSA, 2003).

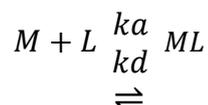
Uma compreensão quantitativa dessas relações requer a caracterização dinâmica da especiação de metais traço, permitindo a obtenção de parâmetros de complexação como

constantes de estabilidade e capacidade de complexação, labilidade e concentrações do metal livre mesmo em sistemas heterogêneos e em baixa concentração do metal. A obtenção desses parâmetros contribui para o entendimento dos mecanismos dos ciclos biogeoquímicos e destino dos poluentes no ambiente (DOMINGOS et al., 2008; MONTEIRO et al., 2016).

1.7.1 Modelo de complexação de espécies metálicas com frações da MOS

Alguns modelos matemáticos são utilizados para descrever os processos dessas reações de complexação, os quais consideram a concentração do material orgânico, o pH, a força iônica entre outros parâmetros (ROMÃO et al., 2003).

considerando um sistema em equilíbrio para um íon metálico (M), que pode i) associar-se reversivelmente ao sítio de um ligante (L) para formar um complexo ML eletroativo e ii) ser reduzido (M⁰) em um eletrodo, tem-se a seguinte expressão:



Onde k_a e k_d são, respectivamente, constantes de velocidade de formação e dissociação do complexo. O equilíbrio termodinâmico em solução entre o metal e o ligante é descrito pela constante de estabilidade, K , dada pela equação (1):

$$K = \frac{k_d}{k_a} = \frac{C_{ML}}{C_M C_L} \quad \text{Equação (1)}$$

Onde C_{ML} corresponde à concentração do complexo formado, C_M e C_L correspondem às concentrações do metal livre e do ligante, respectivamente. Como em sistemas ambientais geralmente há um excesso de ligante e o metal em nível de traço, pode-se considerar a aproximação de que $C_{L,t} \gg C_{M,t}$, levando a $C_L \gg C_{ML}$ e $C_L \approx C_{L,t}$ e definir uma nova constante de ligação dada pela equação (2):

$$K' = K C_{L,t} = \frac{C_{ML}}{C_{M,L}} \quad \text{Equação (2)}$$

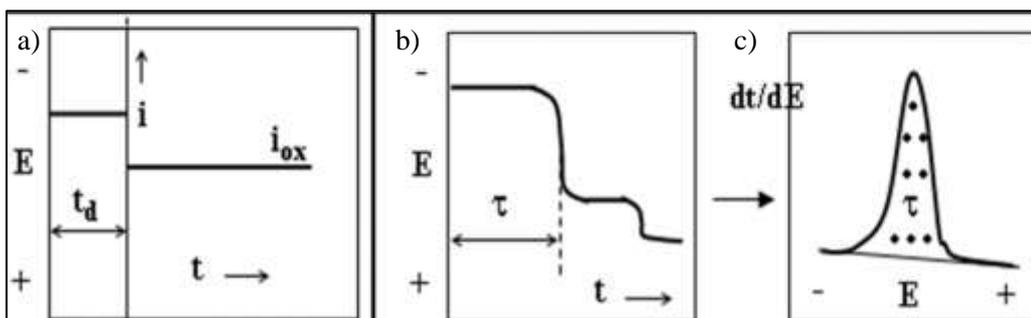
Onde $C_{L,t}$ é a concentração total do ligante e C_{ML} e $C_{M,L}$ são, respectivamente, as concentrações do complexo e do metal livre em solução.

Além da importância de modelos matemáticos para a descrição da complexação, é importante a utilização de técnicas que possibilitam a obtenção de parâmetros dinâmicos de espécies de interesse em baixos limites de detecção, tempo de análise reduzido, reprodutibilidade entre outras características. Nesse sentido, as técnicas de redissolução anódica são promissoras (DOMINGOS et al., 2008; CHITO et al., 2012) e serão destacadas a seguir considerando os princípios e vantagens.

1.7.2 Cronopotenciometria de redissolução (SCP)

A Cronopotenciometria de redissolução (SCP, do inglês *stripping chronopotentiometry*) é uma técnica que consiste na i) deposição (acumulação), onde os íons metálicos são reduzidos a um potencial de deposição constante (E_d) e tempo fixo (geralmente 45 s), e ii) redissolução, onde o metal acumulado é reoxidado pela aplicação de uma corrente constante (i_{ox} , geralmente 10^{-6} A) acompanhada por uma varredura de potencial em intervalo definido. O sinal analítico é o tempo necessário para a reoxidação (τ) do metal amalgamado apresentado na Figura 4 (MOTA et al., 2012; ROCHA, 2009; PINHEIRO & van LEWEEUS, 2004).

Figura 4 - a) Aplicação de potencial (E) durante um tempo de deposição (t_d) e corrente de oxidação (i_{ox}) para obtenção da b) curva E vs t em que o patamar corresponde ao tempo de transição (τ) e c) dt/dE vs E em que a área de pico é τ proporcional à concentração do metal.



Fonte: MOTA et al., 2012.

Como o sinal E vs tempo (t) obtido no passo de reoxidação produz uma curva em forma de onda, para uma determinação mais precisa do tempo de transição, esse sinal analítico é convertido em dt/dE vs E , em que a área do pico corresponde diretamente ao τ e à concentração do metal amalgamado em eletrodo com filme ou gota de mercúrio (MOTA et al., 2012; TOWN van LEEUWEN, 2001).

1.7.3 Cronopotenciometria de redissolução no equilíbrio nernstiano e na ausência de gradientes (AGNES)

Assim como a SCP, a AGNES (do inglês *Absence of gradients and Nernstian equilibrium stripping*) é uma técnica de redissolução em dois passos, porém tem o objetivo de determinar diretamente a concentração do metal livre (CHITO et al., 2012; PARAT et al., 2011; DOMINGOS et al., 2008; GALCERAN et al., 2004).

No passo de deposição aplica-se um potencial próximo ao potencial de redução padrão do metal e espera-se até atingir o equilíbrio termodinâmico entre o metal amalgamado e o

interior da solução em que não há gradiente de concentração e garante que a concentração do metal amalgamado seja proporcional à quantidade de metal livre, dependente apenas de C_M^* (concentração do íon metálico no interior da solução). No fim da etapa de deposição, a reoxidação pode ser feita via SCP, que não é afetada por outras espécies inorgânicas (PARAT et al., 2011; DOMINGOS et al., 2008; GALCERAN et al., 2004).

A AGNES tem sido empregada em estudos de especiação envolvendo frações da matéria orgânica com o intuito de compreender a dinâmica da interação metal-ligante pois possibilita a obtenção da constante de estabilidade dos complexos (K), concentração do metal livre, capacidade de complexação entre outros com a vantagem do baixo limite de detecção (na ordem de nmol L^{-1}) e por ser indiferente à adsorção de matéria orgânica na superfície do eletrodo. Entretanto, poucos metais formam amálgama com mercúrio (Cd, Cu, Pb, Zn, In, Tl, Bi, Sn) sendo uma limitação da técnica utilizando filme fino de mercúrio (GALCERAN et al., 2004; AGUILAR et al., 2013; GALCERAN et al., 2014; MONTEIRO et al., 2015).

A utilização do filme fino de mercúrio tanto em SCP como em AGNES permite a reprodutibilidade das análises e um transporte rápido do metal dentro do filme durante a etapa de reoxidação o que significa que as medidas são realizadas em condições de depleção completa. Essa depleção completa também é uma característica alcançada ao utilizar uma corrente de reoxidação suficientemente baixa e, além disso, evita problemas de adsorção de matéria orgânica à superfície do eletrodo (TOWN e van LEEWEN, 2002; ROCHA et al., 2007).

1.8 Chumbo no ambiente

O chumbo (Pb) é considerado um metal potencialmente tóxico (MPT), pois, diferentemente dos metais considerados essenciais à vida, os MPT são prejudiciais mesmo em níveis traço, pois não são biodegradáveis e tendem a acumular-se nos organismos vivos, causando anormalidades (LIMA e SANTOS, 2012; NASCIMENTO et al., 2015; KUSHWAHA et al., 2018).

O chumbo elementar é inodoro, de cor prata-azulada, macio, altamente maleável, dúctil e não é um bom condutor de eletricidade. É utilizado em processos industriais e as principais fontes antropogênicas incluem mineração, fundição de minérios, queima de carvão, efluentes de indústrias de bateria de armazenamento, exaustão de automóveis, chapeamento de metais, curtimento de couro, operações de acabamento, fertilizantes, pesticidas e aditivos em pigmentos e gasolina (KUSHWAHA et al., 2018).

A forma química iônica, Pb(II) , é considerada responsável pela característica de metal potencialmente tóxico, pois encontra-se mais disponível para assimilação pela biota, mesmo

em baixas concentrações (de ppb a ppm). Uma vez disponível no ambiente pode causar estresse oxidativo às plantas e, até mesmo, ser acumulado em diferentes partes das plantas e entrar na cadeia alimentar. O chumbo pode afetar qualquer órgão no corpo como os sistemas nervoso, hematológico, cardiovascular e reprodutivo. A acumulação em humanos pode causar doenças graves que incluem dor de cabeça, perda de memória a curto prazo, confusão mental, sensação de irrealidade, percepção distorcida, dor nos músculos e articulações e distúrbios gastrointestinais, intolerâncias alimentares, alergias, problemas de visão, fadiga crônica e infecções (KUSHWAHA et al., 2018; TAMANO et al., 2015).

A escolha do chumbo para o estudo de interação com as frações da matéria orgânica está relacionada com as características supracitadas em relação a este metal e também por formar amálgama com o mercúrio presente no eletrodo de filme de mercúrio, possibilitando sua detecção por AGNES e SCP e consequente obtenção dos parâmetros de complexação.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a influência do procedimento de extração nas características estruturais das frações da MOS e na complexação dinâmica de Pb(II).

2.2 Objetivos específicos

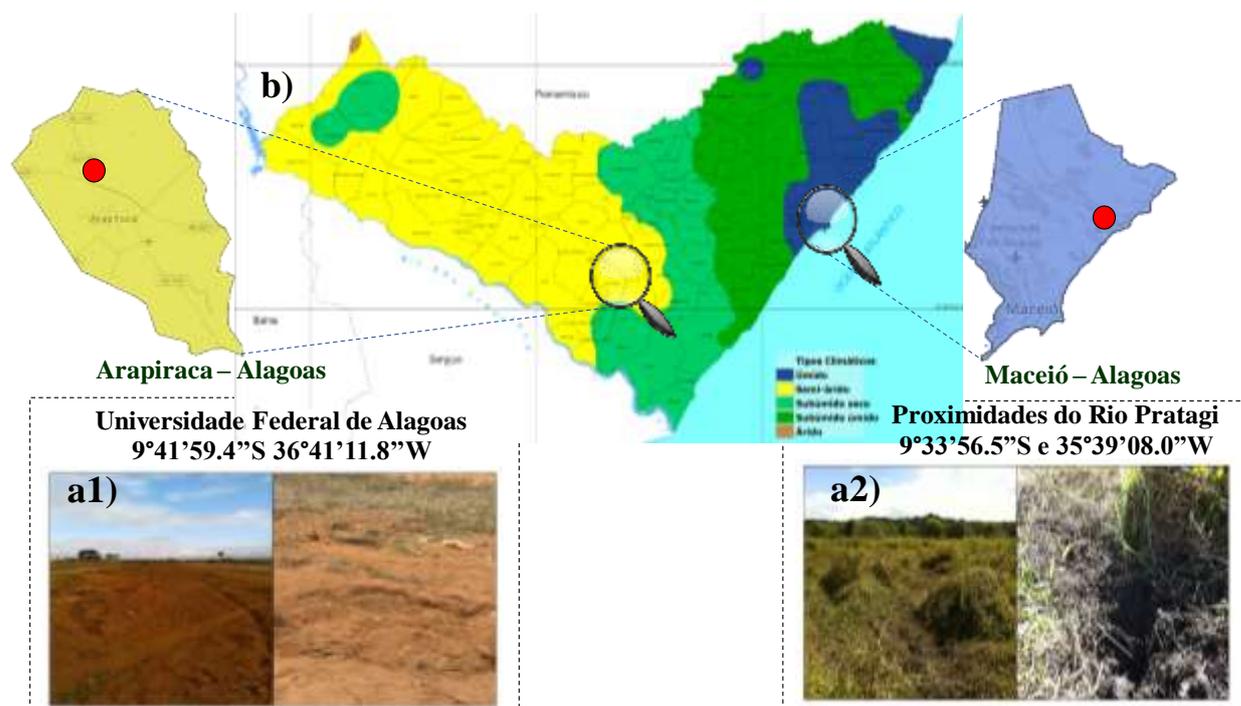
- Coletar e caracterizar amostras de solos de clima úmido e semiárido de Alagoas;
- Extrair substâncias húmicas e suas frações (ácidos húmicos e fúlvicos), solução de solo e solução lixiviada do solo utilizando diferentes procedimentos de extração;
- Caracterizar as diferentes frações da MOS por espectroscopia de absorção no UV-vis, fluorescência molecular e volumetria ácido-base;
- Estudar a complexação dinâmica de frações da MOS com Pb(II) em pH 5 e 6 utilizando técnicas de cronopotenciometria de redissolução anódica.

3. EXPERIMENTAL

3.1 Coleta e preparo das amostras de solo

As coletas foram realizadas em fevereiro de 2017, entre 0-20 cm de profundidade do solo no ponto destacado na Figura 7, nas cidades: Arapiraca – AL, com latitude 9°41'59.4''S e longitude 36°41'11.8''W em uma área de cultivo de hortaliças e clima semiárido, apresentando longos períodos de estiagem e altas temperaturas; e Maceió – AL nas proximidades do Rio Pratagi com latitude 9°33'56.5''S e longitude 35°39'08.0''W sem manejo, com cobertura vegetal e clima úmido, apresentando longos períodos de chuva e baixa amplitude térmica. O preparo de aproximadamente 30 kg de cada amostra de solo consistiu na secagem ao ar e peneiramento em 2 mm.

Figura 5 - a) Coleta dos solos nas cidades de a1) Arapiraca e a2) Maceió; b) Mapa dos tipos climáticos de Alagoas destacando as cidades de Arapiraca e Maceió.



Fonte: Disponível em: <<<http://dados.al.gov.br/dataset/mapas-de-caracterizacao-territorial/resource/751f58cf-8429-4289-89ae-854ecc05e473>>> acessado em 17/11/2017

3.2 Caracterização físico-química do solo

3.2.1 Determinação do teor de matéria orgânica

As amostras foram calcinadas em forno mufla digital microprocessado Zezimaq (modelo 2000G – 2RP) utilizando 1 g de solo a 750 °C por 4 horas em cadinhos de porcelana previamente tarados. O teor de matéria orgânica foi calculado pela diferença de massa após a

calcinação, conforme a Equação 3, considerando a média entre as três determinações. O resíduo final é considerado matéria inorgânica (ROSA, ROCHA, FURLAN, 2000).

$$\%MO = \left(\frac{mi-mf}{mi} \right) 100 \quad \text{Equação (3)}$$

Onde % MO é a percentagem de matéria orgânica;

mi – massa inicial (antes da calcinação);

mf – massa final (matéria inorgânica).

3.2.2 Determinação de carbono e nitrogênio

A determinação de carbono e nitrogênio foi feita em duplicata, utilizando-se aproximadamente 10 mg de solo, por combustão a 1020 °C e um analisador elementar Costech (ECS 4010 CHNSO analyzer), pertencente ao Laboratório de Física Nuclear Aplicada (LFNA – UFBA) do Departamento de Física, Terra e Meio Ambiente da Universidade Federal da Bahia – *Campus* Salvador. As amostras de solos foram previamente trituradas, passadas em peneira de 0,212 mm e pesadas diretamente em cápsula de estanho, que foi fechada e colocada no amostrador automático do equipamento (Adaptado de SANTOS et al., 2015). Os produtos da queima são transportados pelo gás de arraste (hélio) até o espectrômetro de massa que avalia a razão isotópica de C e N (Delta V Advantage, Thermo Scientific).

3.2.3 pH do solo

A determinação do pH foi feita utilizando 10 g de cada amostra de solo em 25 mL de água desionizada e 25 mL de KCl 1 mol L⁻¹. As suspensões foram agitadas durante 15 min e repouso de 30 min para atingir o equilíbrio (EBELING et al., 2008). As determinações foram feitas em triplicata para cada solo utilizando pHmetro Gehaka PG1800 previamente calibrado.

O pH correspondente à contribuição de H⁺ + Al³⁺ foi determinado utilizando 5 g de cada solo em 100 mL de solução de acetato de cálcio 1 mol L⁻¹ a pH 7, agitação mecânica durante 10 min e repouso de 30 min. Adicionou-se 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína à amostra filtrada que, em seguida, foi titulada com NaOH 0,1 mol L⁻¹ até obter a coloração rosa (Adaptado de CAMARGO et al., 2009). O pH foi calculado a partir da relação estequiometria entre o volume do titulante e do titulado, considerando as equações seguir:

$$n \text{ mol HA} = n \text{ mol NaOH} \quad \text{Equação (4)}$$

$$C_{HA} \cdot V_{HA} = C_{NaOH} \cdot V_{NaOH} \quad \text{Equação (5)}$$

Onde C é concentração e V o volume.

3.2.4 Granulometria, CTC e percentagem de saturação por bases (%V)

Essas duas determinações foram realizadas no Laboratório de Solo, Água e Planta do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas, de acordo com a metodologia proposta por Embrapa Solos, 1997.

3.2.5 Metais associados ao solo

Foram adicionados 20 mL de HNO₃ 65 % (v/v) a 1 g de solo seco e deixado em repouso por 2 h. Elevou-se a temperatura até 120 °C/4 h em chapa aquecedora (2008/D NOVA ÉTICA). Foram adicionados 20 mL de H₂O₂ 35 % (v/v) e deixou-se a 120 °C/30 min. Após resfriamento, as soluções foram transferidas para balões de 100 mL, completando-se o volume com água desionizada. Esse procedimento foi feito em triplicata (Adaptado SANTOS et al., 2015).

Os metais Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn foram determinados por espectroscopia de emissão atômica com plasma gerado por micro-ondas (MP AES) com limites de detecção e quantificação na ordem de µg L⁻¹, no Laboratório de Química da Universidade de São Carlos – *Campus* Sorocaba. As linhas de emissão iônica (em nm) para cada metal são 396,152 (Al), 649,690 (Ba), 616,217 (Ca), 228,802 (Cd), 340,512 (Co), 357,868 (Cr), 324,754 (Cu), 372,993 (Fe), 766,491 (K), 383,829 (Mg), 403,076 (Mn), 379,825 (Mo), 352,454 (Ni), 405,781 (Pb) e 213,857 (Zn).

3.3 Extração das frações da MOS

3.3.1 Extração com NaOH

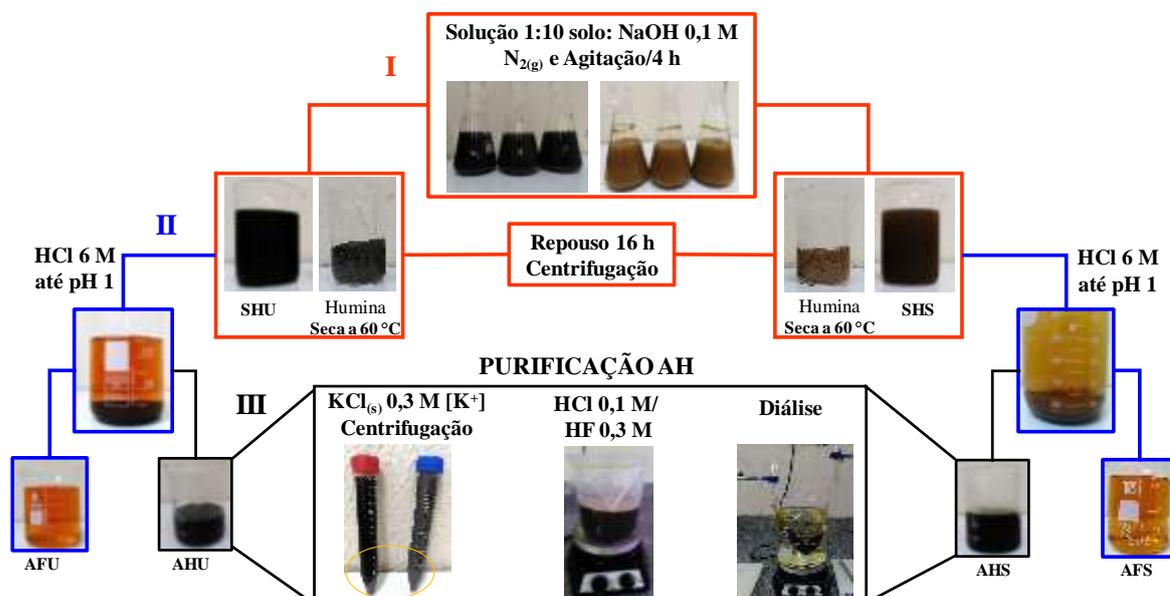
As substâncias húmicas dos solos de clima semiárido (SHS) e úmido (SHU) e as respectivas frações: ácidos fúlvicos (AFS, AFU) e ácidos húmicos (AHS, AHU) foram extraídos e purificados de acordo com o procedimento da IHSS (IHSS, 2017). De cada amostra de solo foram pesados cerca de 1,5 kg em diferentes erlenmeyers e adicionado NaOH 0,1 mol L⁻¹ na proporção 1:10 solo:extrator e em atmosfera inerte N_{2(g)} (99,99% de pureza). Os erlenmeyers foram fechados adequadamente e submetidos a agitação de 20 rpm em mesa agitadora (shaker 0 - 250 rpm, SP-180/A – SPLABOR) durante 4 h ininterruptas.

A suspensão foi deixada em repouso por aproximadamente 16 h. Após o repouso, separou-se o sobrenadante do solo residual por centrifugação utilizando centrífuga de bancada (3400 rpm, COLE-PARMER). Cerca de 7,5 L foram armazenados sob refrigeração, e aproximadamente 7,5 L foram acidificados com HCl 6 mol L⁻¹ até pH 1 para a precipitação do ácido húmico. Após repouso de 16 h, separou-se o sobrenadante (ácido fúlvico) do precipitado (ácido húmico) por pipetagem. Os ácidos fúlvicos foram armazenados sob refrigeração.

Os AH foram dissolvidos em KOH 0,1 mol L⁻¹ e adicionado KCl_(s) para atingir uma concentração de 0,3 mol L⁻¹ [K⁺] seguindo com centrifugação para remover sólidos suspensos. O precipitado foi descartado e o sobrenadante (AH) reprecipitado em HCl 0,1 mol L⁻¹/HF 0,3 mol L⁻¹ em recipiente de plástico e agitação constante durante 16 h. A suspensão foi deixada em repouso por 24 h. O sobrenadante foi removido por pipetagem e descartado. Esse procedimento foi repetido três vezes para garantir a diminuição de silicato dissolvido.

Os ácidos húmicos foram transferidos para um tubo de diálise (*Visking Dialysis Tube* MWCO = 7000 Daltons; Medical International Ltd; London; UK) e dialisados com água desionizada até se obter uma condutividade próxima a 50 μS cm⁻¹. Os tubos de diálise foram previamente tratados com solução de Na₂EDTA 10 mmol L⁻¹/NaHCO₃ 2 % (m/v), de acordo com Town et al. (1992). Todo o processo de extração alcalina e purificação das frações de MOS pode ser observado no esquema da Figura 6 para as duas amostras de solo em estudo.

Figura 6 - Esquema da extração alcalina: I) Obtenção das SH (SHS, SHU); II) Fracionamento das SH em AHS, AHU, AFS e AFU; III) Purificação dos AH.



Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

3.3.2 Extração com NaNO₃

As soluções de solo correspondentes aos solos de clima semiárido e úmido (SSS e SSU) foram obtidas utilizando NaNO₃ 0,1 mol L⁻¹, proporção 1:10 solo: extrator, agitação por 4 h, seguida de decantação durante 2-16 h e centrifugação para separar o sobrenadante e o resíduo de solo, como mostrado na Figura 7. Os extratos obtidos (SSS e SSU) foram filtrados e armazenados sob refrigeração (adaptado de CHITO et al., 2012, PONTHEIU et al., 2016).

Figura 7 - Esquema da extração com NaNO_3 para obtenção das soluções de solo (SSS e SSU).



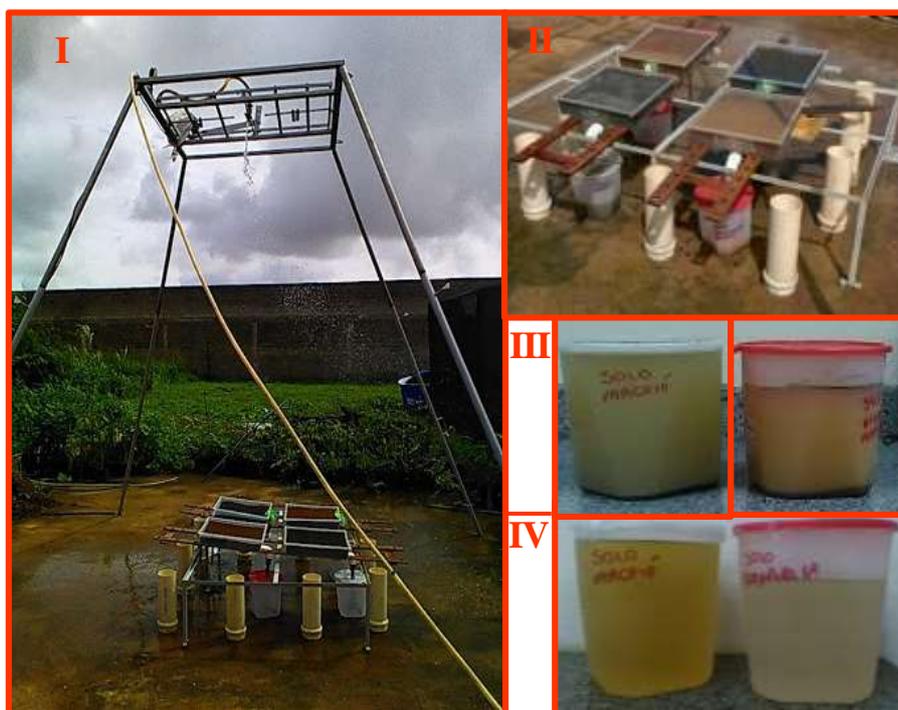
Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

3.3.3 Extração por chuva simulada

A extração foi realizada no período da manhã durante um intervalo de tempo sem chuva natural, no mês de junho de 2017, utilizando-se um simulador de chuva pertencente ao Laboratório de Química dos Solos do Curso de Agronomia da UFAL – *Campus Arapiraca* (Figura 8). O simulador de chuva foi construído de acordo com as especificações citadas por Oliveira et al., 2012, equipado com um bico aspersor tipo Veejet 80-150, com diâmetro interno de 12,7 mm, o qual produz uma distribuição de tamanhos de gotas e níveis de energia cinética próximas às das chuvas naturais.

O simulador de chuva ficou a 2,7 m acima da superfície do solo, após sua instalação, operando a uma pressão constante de 41 kPa, verificada com auxílio de um manômetro, sendo abastecido por um reservatório de polietileno de capacidade de 1000 L utilizando sistema de bomba submersa. A chuva simulada ocorreu durante 30 min com uma intensidade média de $96,66 \text{ mm h}^{-1}$ aferida através de um conjunto de 10 pluviômetros distribuídos ao lado das bandejas de solo (área experimental).

Figura 8 – I) Sistema utilizado na extração por chuva simulada; II) Extração das soluções lixiviadas do solo; III) Suspensão; IV) Extrato centrifugado e filtrado.



Fonte: elaborado pela autora, 2018.

3.3.4 Liofilização das frações

As SHS e SHU e suas respectivas frações AFS, AHS, AFU e AHU, bem como as SSS e SSU e SLS, SLU foram liofilizadas utilizando tubos falcon de 50 mL com metade de sua capacidade, congeladas em freezer e transferidas para o liofilizador micromodulyo (VPOF110, THERMOSAVANT) pertencente ao Laboratório de Pesquisa Química em Recursos Naturais (LPQRN) da UFAL – *Campus* Maceió, até remoção de toda água.

3.4 Caracterização físico-químicas das frações

O carbono orgânico total (COT) nas frações foi determinado por combustão catalítica com detecção em infravermelho e atmosfera de oxigênio, utilizando Analisador COT Shimadzu – TOC/VCSH pertencente ao Laboratório de Estudos da Matéria Orgânica Natural (LEMON) da UFS – São Cristóvão. Cada amostra foi introduzida automaticamente através de um capilar. O valor de COT é obtido pela subtração do valor de carbono inorgânico em relação ao valor de carbono total, com limite de detecção de 0,1 mg L⁻¹.

A fim de se obter uma melhor interpretação dos resultados dos estudos de complexação dinâmica e também para uma melhor comparação dos métodos de extração foram determinados

íons cloretos (Cl^-) e metais coextraídos nas frações. A concentração de íons cloretos foi determinada em triplicata seguindo o método de Mohr, que consiste em uma titulação de precipitação com AgNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando como indicador K_2CrO_4 $0,25 \text{ mol L}^{-1}$. Os íons Cl^- são precipitados na forma de $\text{AgCl}_{(s)}$ até o ponto de equivalência e a concentração de Cl^- calculada a partir da relação estequiométrica (1:1) entre o volume do titulante (AgNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e o volume do titulado (CRUZ & CLAIN, 2010) considerando as equações a seguir:

$$n \text{ mol Cl}^- = n \text{ mol Ag}^+ \quad \text{Equação (6)}$$

$$C_{\text{Cl}^-} \cdot V_{\text{Cl}^-} = C_{\text{Ag}^+} \cdot V_{\text{Ag}^+} \quad \text{Equação (7)}$$

Onde C e V são concentração e volume, respectivamente.

A determinação dos metais coextraídos foi feita por espectrometria de emissão atômica com plasma gerado por micro-ondas (MP AES) no Laboratório de Química da Universidade Federal de São Carlos – *Campus* Sorocaba. Previamente fez-se uma digestão em triplicata utilizando chapa aquecedora (2008/D NOVA ÉTICA), 5 mL da fração extraída, 20 mL de HNO_3 65 % (v/v). e H_2O_2 35 % (v/v) até a solução ficar límpida e avolumando para 50 mL com água desionizada. Os metais determinados foram Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn com as mesmas linhas de emissão apresentadas na metodologia para as amostras de solos (item 3.2.6).

3.5 Caracterização estrutural dos extratos

3.5.1 Estudos por espectrometria de absorção por UV-vis

Os espectros de absorção por UV-vis das diferentes frações da MOS (substâncias húmicas, ácido húmico, ácido fúlvico, solução de solo, solução lixiviável do solo) de 700 a 200 nm foram obtidos em espectrofotômetro UV-vis 1650 PC Shimadzu de duplo feixe equipado com cubetas de quartzo de 1,0 cm (caminho óptico) na Central Analítica Multiusuário da UFAL – *Campus* Arapiraca. As frações SHS, SHU, AFS, AFU, AHS e AHU foram diluídas em NaHCO_3 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ a fim de se obter uma concentração igual a 10 mg L^{-1} de COT e as frações SSS, SSU, SLS e SLU foram analisadas sem diluição (adição de $50 \mu\text{L NaHCO}_3$ 1 mol L^{-1}). Todas as amostras foram analisadas em pH 8 (SANTOS et al., 2015). A partir dos valores de absorbâncias foram obtidos os parâmetros E_{465}/E_{665} , E_{250}/E_{365} E_{270}/E_{407} para cada fração.

3.5.2 Estudos por espectrometria de fluorescência molecular

Os espectros de fluorescência molecular foram obtidos utilizando um espectrofluorímetro Shimadzu (modelo RF – 5301PC, Japão) equipado com uma lâmpada de

xenônio de 150 W pertencente à Central Analítica Multiusuário do Instituto de Química e Biotecnologia da UFAL – *Campus* Maceió. Todas as medidas foram realizadas utilizando uma cubeta de quartzo de 1,0 cm (caminho óptico) com janela (*slit*) de excitação e emissão ajustados em 5 nm e velocidade de varredura de 500 nm m⁻¹. A concentração das frações foi a mesma utilizada na análise por UV-vis e em pH 8. Os espectros de fluorescência no modo de emissão foram obtidos segundo as metodologias propostas por Zsolnay et al. (1999), Milori et al. (2002).

Na metodologia proposta por Zsolnay et al. (1999), o espectro de fluorescência molecular corresponde a emissão com excitação em 240 nm com intervalo de varredura entre 700 e 300 nm. A área sobre o maior quarto de emissão (entre 641 e 570 nm, A₄) foi dividida pela área sobre o menor quarto de emissão (entre 432 e 356 nm, A₁). O parâmetro A₄/A₁ é utilizado como indicativo do índice de humificação. O espectro de emissão com excitação em 465 nm com intervalo de varredura entre 700 e 480 nm consiste na metodologia proposta por Milori et al. (2002), utilizada para determinação do índice de humificação, que é baseado na área sob a curva de emissão com excitação em 465 nm (A₄₆₅).

3.5.3 Determinação dos teores de grupos fenólicos e carboxílicos

A determinação dos teores de grupos funcionais carboxílicos e fenólicos nas frações extraídas foi realizada por titulação ácido-base direta, seguindo uma adaptação do sistema proposto por Ritchie e Perdue (2003), utilizando um sistema com agitação e purga de N_{2(g)} controlados. Utilizou-se 10 mL de cada amostra e adição de 2,5 mL de KCl 0,1 mol L⁻¹ e o pH ajustado para 3 e titulado até 11 com NaOH 0,02 mol L⁻¹. A adição de base foi controlada utilizando micropipeta e o pH anotado após a estabilização de cada adição. Os valores de pH medidos foram considerados diretamente representativos da atividade do íon hidrogênio em solução. Três repetições foram realizadas para cada amostra.

Os dados experimentais foram processados de acordo com o procedimento descrito por Ritchie e Perdue (2003), em que os dados da titulação foram considerados em termos de densidade de carga (Q_{tot}, definida como a carga total em solução, em mmol L⁻¹). O número de mols dos grupos funcionais carboxílicos e fenólicos (Q₁ e Q₂) foram obtidos a partir das equações (8) e (9).

$$n \text{ mol COOH ou PhOH} = n \text{ mol NaOH} \quad \text{Equação (8)}$$

$$C_{\text{COOH ou PhOH}} \cdot V_{\text{COOH ou PhOH}} = C_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}} \quad \text{Equação (9)}$$

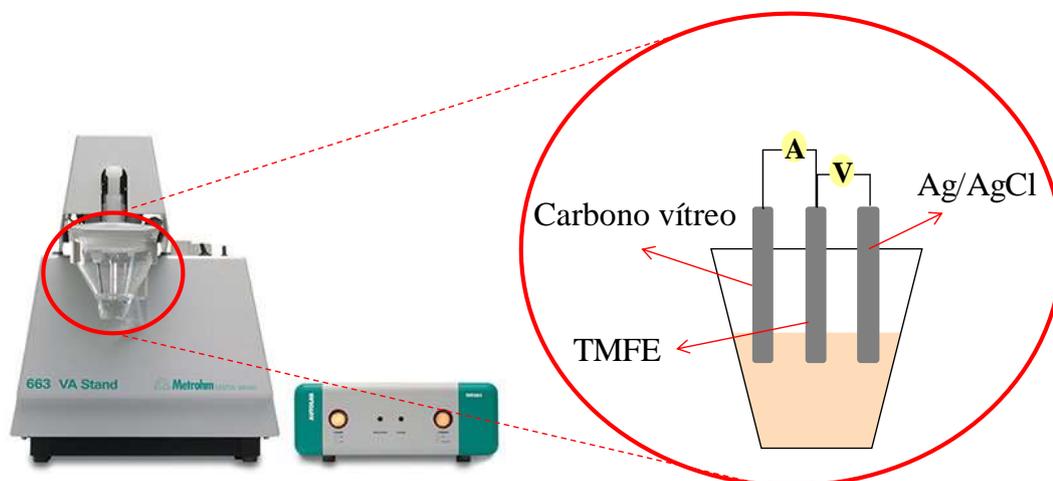
Em que C é a concentração e V o volume de NaOH (que para os grupos carboxílicos corresponde ao volume gasto até atingir pH 8 e para os grupos carboxílicos duas vezes o valor da diferença (V_{pH 10} – V_{pH 8})).

3.6 Estudos de complexação de Pb(II) por frações da MOS

As soluções foram preparadas com água ultrapura (resistividade 18,2 M Ω cm) e os reagentes de grau analítico. Os experimentos foram realizados em atmosfera inerte utilizando N_{2(g)} (99,99% de pureza). Para a verificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo e a deposição do filme fino de mercúrio (TMFE) utilizou-se celas de vidro, enquanto que para as soluções de trabalho optou-se por cela de poliestireno de 40 mL, que facilitam a limpeza e minimiza a aderência de metal. Todas as medidas de SCP e AGNES foram realizadas em duplicata e os experimentos repetidos duas vezes.

Os experimentos foram realizados utilizando um equipamento, ilustrado na Figura 9, composto de um posto 663 VA (Metrohm) controlado por um potenciostato/galvanostato μ -autolab tipo III (Metrohm) juntamente com uma interface (IME 663 Metrohm) com uma configuração de três eletrodos: i) eletrodo de trabalho, que consiste em filme fino de mercúrio depositado no eletrodo de carbono vítreo; ii) eletrodo auxiliar de carbono vítreo iii) eletrodo de referência (Ag/AgCl) com ponte salina de NaNO₃ 1 mol L⁻¹.

Figura 9 – Representação do sistema utilizado para realização dos experimentos eletroquímicos: i) equipamento; ii) cela eletroquímica com três eletrodos.



Fonte: Elaborado pela autora, 2018

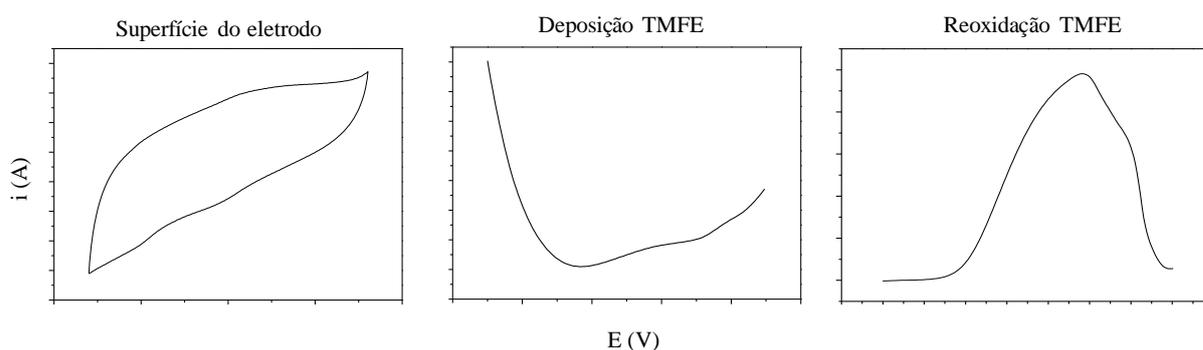
3.6.1 Preparo do eletrodo de trabalho

O preparo do eletrodo de trabalho consistiu em polimento em Al₂O₃, lavando com água ultrapura e seguindo com a verificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo utilizando solução NH₄CH₃COO (1 mol L⁻¹)/HCl (0,5 mol L⁻¹) e voltametria cíclica (50 ciclos) entre os potenciais -0,8 e + 0,8 V e velocidade de varredura de 0,1 V s⁻¹ (ROCHA et al., 2007; MONTEIRO et al., 2016).

Em seguida fez-se a deposição do filme fino de mercúrio utilizando uma solução de Hg(II) $1,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,9) e as seguintes condições: 300 s de purga de $\text{N}_{2(g)}$; voltametria de onda quadrada, potencial de deposição igual a $-1,3 \text{ V}$; 700 s de deposição; velocidade de rotação do eletrodo de carbono vítreo igual a 1000 rpm (MONTERROSO et al., 2004; ROCHA et al., 2007; ROCHA et al., 2010). Após a deposição seguiu-se automaticamente com uma varredura entre $-1,3$ e $+0,3 \text{ V}$ para verificar o perfil da formação do filme.

Ao final de cada experimento, o filme era removido por varredura linear de redissolução utilizando velocidade de varredura $0,005 \text{ V s}^{-1}$ entre $-0,15$ e $+0,4 \text{ V}$ em 5 mmol L^{-1} de NH_4SCN (pH 3,4) e determinada a carga associada com o Hg depositado (Q_{Hg}) por integração do pico (MONTEIRO et al., 2016; ROCHA et al., 2010). O perfil obtido para cada uma das principais etapas supracitadas está apresentado na Figura 10.

Figura 10 – Perfil i) verificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo; ii) deposição do filme de Hg(II) e iii) reoxidação do filme de Hg(II).



Fonte: Elaborado pela autora, 2018

3.6.2 Otimização dos parâmetros para AGNES

A otimização da AGNES é em duas etapas: i) determinação do potencial em que o equilíbrio nernstiano ocorre; ii) determinação do tempo de deposição em que o equilíbrio nernstiano será alcançado na ausência de gradientes de concentração, ou seja, a concentração do metal livre na superfície do eletrodo é igual à concentração de metal livre em solução, ambos representados por $[M^{2+}]$, enquanto $[M^0]$ representa a concentração de metal reduzido em qualquer lugar do amálgama. A equação de Nernst pode ser escrita como:

$$Y = \frac{[M^{2+}]}{[M^0]} = \exp - \frac{2F}{RT} (E_1 - E^{0'}) \quad \text{Equação (10)}$$

onde F é a constante de Faraday, R a constante dos gases, T a temperatura, E_1 é o potencial de deposição aplicado e $E^{0'}$ o potencial formal do par redox. Y é o ganho na concentração de metal

na superfície devido à sua pré-concentração na amálgama após a aplicação de E_1 (GALCERAN et al., 2004; AGUILAR et al., 2013; GALCERAN et al., 2014).

Para a determinação do E_d ótimo foram utilizadas várias medidas de SCP em diferentes valores de potencial e tempo de deposição, t_d , de 45 s e aplicação da corrente de oxidação, o que resulta em uma SSCP (do inglês *scanning stripping chronopotentiometry*) e uma curva representada pelo tempo de transição em função do potencial de deposição (pseudopolarograma). O E_d consiste no potencial de meia onda do pseudopolarograma (DOMINGOS et al., 2008; ROTUREAU, 2014).

A solução de trabalho consistiu $2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de Pb(II) (preparada a partir de um padrão de 1000 mg L^{-1}) em NaNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e tampão ácido 2-N- morfolinoetanosulfônico (MES) $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. O intervalo de potencial para Pb(II) foi de $-0,72$ a $-0,41 \text{ V}$ (PINHEIRO & van LEEUWEN, 2004; van LEEUWEN & TOWN, 2002) variando $0,1 \text{ V}$. A determinação do tempo ótimo, que consistiu em várias medidas cronopotenciométricas com o E_d ótimo e variando o tempo de deposição até que se atinja a ausência de gradientes, ou seja, a concentração do metal permaneceu constante com o tempo e o equilíbrio termodinâmico foi atingido (patamar da curva tempo de reoxidação vs tempo) (PARAT et al., 2011).

3.6.3 Calibração

Para cada experimento foi feito uma curva de calibração com duplicatas de no mínimo 4 pontos e concentrações conhecidas de metal ($0,01$ a $0,8 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) após a medida do branco (20 mL de NaNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e pH fixo utilizando tampão MES ou MOPS (ácido 3-N-morfolinopropanosulfônico) $0,2 \text{ mol L}^{-1}$). Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) da AGNES foram estimados para Pb(II), para cada experimento de interação com as diferentes frações da MOS, de acordo com as equações (11) e (12) a seguir:

$$LOD = \frac{3SD}{m} \quad \text{Equação (11)}$$

$$LOQ = \frac{10SD}{m} \quad \text{Equação (12)}$$

Onde SD é o desvio padrão das medidas e m o coeficiente angular obtido para a curva de calibração (SKOOG et al., 2006; MONTEIRO et al., 2016).

3.6.4 Condições para determinação das constantes de estabilidade dos complexos e capacidade de complexação de Pb(II) pelas frações da MOS

Os parâmetros i) constante de estabilidade e ii) capacidade de complexação foram determinados via AGNES com força iônica constante (NaNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$) pH 5 e 6 ($200 \mu\text{L}$ de tampão MES e MOPS $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente), e condições eletroquímicas para Pb(II) $E_d -0,55 \text{ V}$, t_d 300 s otimizados e corrente de oxidação $2 \mu\text{A}$ para obtenção da constante de proporcionalidade obtida a partir da curva de calibração e dos valores de metal livre após as adições da fração da MOS (ROCHA et al., 2015; PINHEIRO & van LEEUWEN, 2004).

Após a adição de cada alíquota de metal e também da fração da MOS foi ajustado o pH com HNO_3 ou NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Após a curva de calibração para o experimento com cada fração da MOS em pH definido foi adicionado uma alíquota de material orgânico para redução de aproximadamente 80% do sinal de Pb(II) livre (saturação por material orgânico) e seguiu-se com adições de metais até obtenção do excesso de metal. Para as frações AFS, AFU, SSS, SSU, SLS, SLU foram preparadas soluções concentradas a partir do material liofilizado.

As constantes de estabilidade condicional, K' , foram obtidas a partir da equação (2) em que C_{ML} (concentração do complexo) é calculada pela diferença entre as concentrações $C_{M,t}$ e $C_{M,L}$ (metal total e livre, respectivamente), em que a $C_{M,L}$ é calculada a partir da equação (13).

$$K' = K_{C_{L,t}} = \frac{C_{ML}}{C_{M,L}} \quad \text{Equação (2)}$$

Onde $C_{L,t}$ é a concentração total do ligante e C_{ML} e $C_{M,L}$ são, respectivamente, as concentrações do complexo e do metal livre em solução.

$$C_{M,L} = \frac{\tau}{h} \quad \text{Equação (13)}$$

Onde $C_{M,L}$ é a concentração do metal livre, τ o sinal analítico obtido a partir da AGNES e h é a constante de proporcionalidade obtida a partir da curva de calibração.

A capacidade de complexação (CC) foi obtida a partir da relação gráfica da concentração do metal livre vs metal total, em que se obtém duas seções lineares e a intersecção das duas corresponde à capacidade de complexação do material orgânico para aquele metal (ROMÃO et al., 2003; BOTERO et al., 2014) sendo que o valor determinado é dividido pelo carbono orgânico total da amostra obtido a partir da equação (14):

$$CC = \frac{C_M}{C_{MOS}} \quad \text{Equação (14)}$$

Onde CC é a capacidade de complexação, C_M é a concentração do metal total adicionado e C_{MOS} é a concentração da matéria orgânica em termos de COT (ROMÃO et al., 2003).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterização físico-química das amostras de solos

O solo apresenta um papel fundamental no equilíbrio do ambiente, uma vez que participa do ciclo do carbono e atua como um dos maiores reservatórios de carbono através da MOS. As características de cada matriz podem influenciar na lixiviação, quantidade e composição do material orgânico (CANELLAS & SANTOS, 2005).

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados referentes às características físico-químicas das amostras de solos em estudo, no que diz respeito a:

- teor de matéria orgânica (% MO) obtido por calcinação permite inferir sobre a fertilidade do solo, o tipo do solo e, em especial, a possibilidade e viabilidade de extração das diferentes frações da MOS;
- teores de C e N obtidos por análise elementar e razão C/N que é um parâmetro indicativo do grau de decomposição da matéria orgânica presente no solo;
- pH em H₂O (correspondente aos íons H⁺ livres ou ativos no solo), em KCl 1 M (correspondente à quantidade de H⁺ trocável com Al³⁺) e em Ca(C₂H₃O₂)₂ a pH 7 (que corresponde à contribuição dos íons H⁺ da troca com Al³⁺ e àqueles adsorvidos aos colóides do solo);
- CTC efetiva, que corresponde a capacidade do solo de reter cátions (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺ e Al³⁺) em pH natural e CTC total (inclui H⁺ + Al³⁺), que corresponde ao máximo de cátions adsorvidos em pH 7.
- saturação por bases (% V) que indica a proporção de bases com relação à CTC;
- granulometria ou partículas unitárias do solo (areia, silte e argila).

Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos das amostras de solos de clima semiárido (SS) e clima úmido (SU): % MO (n = 3), C/N (n = 2), pH em H₂O, KCl 1 mol L⁻¹, Ca(C₂H₃O₂)₂ em pH 7 (n = 3); CTC efetiva e total, % V e granulometria.

Parâmetros		Solo de clima semiárido (SS)	Solo de clima úmido (SU)
% MO		4,58 ± 0,13	11,6 ± 0,45
C/N		10,3 ± 0,32	16,5 ± 0,28
pH	H ₂ O	6,43 ± 0,11	6,10 ± 0,01
	KCl	5,76 ± 0,01	5,58 ± 0,01
	Ca(C ₂ H ₃ O ₂) ₂	3,15 ± 0,01	2,74 ± 0,01
CTC	efetiva (cmol dm ⁻³)	3,73	8,58
	total (cmol dm ⁻³)	4,86	11,97
% V		77,0	72,0
Granulometria	areia grossa (%)	50,0	50,0
	areia fina (%)	24,0	14,0
	silte (%)	16,0	13,0
	argila (%)	10,0	23,0

Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

A partir do test-t para duas amostras em estudo, é possível afirmar que as mesmas apresentam diferenças estatisticamente significativas com 95% de confiança em todos os parâmetros, exceto para % de areia grossa.

Os valores de % MO estão de acordo com as condições intrínsecas de cada matriz, visto que a amostra coletada em Arapiraca (SS) pertence a um solo utilizado para cultivo de milho, alface, coentro entre outros e o teor de matéria orgânica para solo submetido ao manejo é de até 5 %, enquanto que a amostra coletada em Maceió (SU) não é utilizada para agricultura e por ser de origem hidromórfica (devido à localização) e com cobertura de vegetação, o teor de matéria orgânica é superior a 5 % (MANAHAN, 2001).

Como corroboração desses resultados, a razão C/N permite inferir acerca do grau de decomposição da matéria orgânica, uma vez que a maior razão C/N indica uma diminuição na quantidade de nitrogênio e, conseqüentemente, aumento na degradação do material de origem (SANTOS et al., 2015). Dessa forma, a amostra SS apresenta um menor grau de decomposição, o que está de acordo com o solo utilizado na agricultura, pois há uma renovação da MOS com maior frequência do que em SU, que tem a possibilidade de maior decomposição devido às condições intrínsecas da matriz.

Como a solução salina de KCl desloca os íons Al^{3+} do solo para a solução, os quais são hidrolisados liberando íons H^+ , é esperado que os valores de pH em KCl sejam menores do que em H_2O (EBELING et al., 2008). O pH em $Ca(C_2H_3O_2)_2$ tem grande contribuição de íons H^+ ativos, trocáveis e não trocáveis representados pela quantidade de H^+ de ligação covalente, associado aos coloides com carga negativa variável e aos compostos de alumínio, por isso os valores de pH são muito menores do que aqueles em KCl e H_2O (LOPES et al., 1990).

Para ambas amostras, o caráter ácido manteve-se nas determinações de pH, sendo SU ligeiramente mais ácido do que o SS. Esses valores, de um modo geral, são influenciados pela maior quantidade de matéria orgânica presente em SU, da qual se deriva os íons hidrogênios de ligação covalente.

A CTC depende, sobretudo, da quantidade de cargas negativas presentes no solo, que são derivadas da MOS e dependentes do pH. Quanto maior o número de cargas negativas no solo, maior será a sua CTC e menor será a perda de nutrientes por lixiviação (ROQUIM, 2010). Os valores de CTC para SU foram superiores aos valores de CTC para SS, uma vez que a SU apresenta % MO superior a SS, indicando um maior número de sítios com cargas negativas tanto a pH natural como em pH 7.

O aumento da CTC no horizonte superficial do solo é considerado como um indicativo do grau de humificação da MOS. Os grupos oxidados responsáveis pela CTC são

principalmente do tipo húmicos e fúlvicos, sendo que, o aumento da oxidação e decomposição da MOS leva ao aumento da CTC (KWEON, LUND, MAXTON, 2013). Dessa forma, os dados de CTC corroboram com os valores da razão C/N, indicando uma maior decomposição da MOS do SU em relação ao SS.

A saturação por bases indica a proporção de bases com relação à CTC. Entretanto, a ligeira diferença no valor de %V do solo de clima úmido se deve a maior quantidade de H^+ e Al^{3+} (maior acidez) que essa amostra apresenta, corroborando com os valores de pH em KCl e a pH 7, que são valores também influenciados pela maior quantidade de MOS da amostra.

As partículas unitárias do solo agem juntamente com a MOS no processo de agregação do solo e são considerados como agentes cimentante. Diferentes estudos (JORGE e LEPSCH, 1982; LEPSCH et al., 1981; CARRIZO et al., 2015) destacam que maiores teores de argila favorecem a formação de agregados estáveis. Por outro lado, horizontes mais arenosos dificultam a proteção física da MOS e a formação de agregados. Dessa forma, há uma maior possibilidade de desagregação do solo de clima semiárido no horizonte superficial em que as amostras foram coletadas.

4.1.1 Metais associados ao solo

As concentrações das espécies metálicas (Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn) determinadas nas amostras de solos em estudo mostraram que, de maneira geral, há abundância de Al, Ca, Fe, K e Mg para ambos os solos. Os metais Co, Mo e Ni estavam abaixo do limite de quantificação (<LOQ), como apresentado na Tabela 3. Os metais Al, Ba, Ca, K e Mg são mais abundantes no solo de clima úmido por este solo não ser submetido ao manejo. Além disso, a característica hidromórfica pode reduzir as reações na interface solo/atmosfera, que favorece rearranjos intramoleculares das espécies metálicas com os complexantes naturais presentes no solo como relatado por Cordovil et al., 2014.

Os valores obtidos para Ba, Cd, Cr, Pb, Cu, Mn, e Zn são inferiores aos estabelecidos pela Resolução CONAMA 420 de dezembro de 2009 (CONAMA, 2009) que estabelece valores de prevenção para estes metais. Os valores de K, Mn e Cr podem estar relacionados aos fertilizantes utilizados no manejo no solo de clima semiárido e no solo de clima úmido pode ser resultado de lixiviação.

Tabela 3 – Concentrações dos metais Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn associados às amostras de solos e determinados por MP AES (n = 3).

Metal	Solo de clima semiárido (mg kg⁻¹ de solo)	Solo de clima úmido (mg kg⁻¹ de solo)
Al	2288 ± 125	5262 ± 189
Ba	3,84 ± 0,20	5,32 ± 0,31
Ca	853,6 ± 99,7	1564 ± 27
Cd	0,40 ± 0,08	0,10 ± 0,01
Co	<LOQ	<LOQ
Cr	14,02 ± 1,47	6,21 ± 1,12
Cu	4,89 ± 0,38	3,33 ± 0,55
Fe	8849 ± 431	5963 ± 524
K	346,6 ± 5,7	405,2 ± 23,2
Mg	240,1 ± 10,8	433,1 ± 0,09
Mn	76,36 ± 0,59	25,66 ± 0,31
Mo	<LOQ	<LOQ
Ni	<LOQ	<LOQ
Pb	17,24 ± 3,21	10,56 ± 1,87
Zn	63,8 ± 5,3	18,18 ± 2,28

LOQ em µg L⁻¹: Al = 8,09; Ba = 6,50; Ca = 8,20; Cd = 10,9; Co = 0,25; Cr = 2,20; Cu = 9,30; Fe = 28,6; K = 2,70; Mg = 2,70; Mn = 10,4; Mo = 0,11; Ni = 52,0; Pb = 343; Zn = 100.

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

4.2 Características físico-química das diferentes frações da MOS

A extração das diferentes frações da matéria orgânica é de grande importância para a obtenção de resultados relevantes na caracterização, principalmente quando se busca uma extração que represente os componentes que estão no ambiente, pois nesta etapa podem ocorrer alterações estruturais do material orgânico de origem.

A determinação do carbono orgânico total (COT) tem sido utilizada para estimar quantitativamente a fração orgânica do solo, uma vez que a MOS contém cerca de 58 % de C, em relação à massa total, o que auxilia no entendimento de suas várias propriedades químicas, físicas e biológicas (RHEINHEIMER et al, 2008). A Tabela 4 mostra as quantidades de COT nas diferentes frações da MOS extraídas com NaOH, NaNO₃ e chuva simulada.

Tabela 4 - Valores de carbono orgânico total (COT) determinados por combustão catalítica nas frações SHS, SHU, AFS, AFU, AHS, AHU (extraídas com NaOH 0,1 mol L⁻¹), SSS, SSU (extraídas com NaNO₃ 0,1 mol L⁻¹) e SLS, SLU (obtidas por chuva simulada).

Extrator	Fração	COT (mg L ⁻¹)
NaOH	SHS	246,9 ± 6,22
	SHU	438,3 ± 17,1
	AFS	172,9 ± 2,91
	AFU	291,9 ± 2,50
	AHS	803,8 ± 0,97
	AHU	1177 ± 1,06
NaNO ₃	SSS	19,03 ± 0,88
	SSU	22,70 ± 0,03
Chuva simulada	SLS	9,023 ± 0,08
	SLU	34,91 ± 0,09

Fonte: elaborada pela autora, 2018.

A quantidade de MOS extraída considerando o teor de COT determinado nas respectivas frações diferem significativamente, com base no teste-t com 95% de confiança, em relação ao extrator empregado e com origem do solo. Dessa forma, as frações da extração com NaOH apresentaram maiores valores de COT sendo indicada quando se pretende obter um maior rendimento de material orgânico. As diferenças de COT extraído estão relacionadas ao mecanismo de cada extrator, uma vez que NaNO₃ e a chuva simulada reagem de forma mais branda com o solo e com a matéria orgânica presente.

Os valores de COT obtidos para a extração com NaNO_3 corroboram com os trabalhos de Chito et al. (2012) e Ponthieu et al. (2016), que utilizaram CaCl_2 e KNO_3 para a extração de metais e determinaram o carbono orgânico em extratos de diferentes solos e profundidades e também amostras de argila de rio, uma vez que os valores variaram entre 17,8 e 21,4 mg L^{-1} e 23 e 101 mg L^{-1} , respectivamente.

A caracterização das frações quanto aos íons Cl^- e elementos coextraídos é importante para fins comparativos das extrações do ponto de vista de contaminantes inorgânicos coextraídos. Além disso, é um indicativo da necessidade de purificação e possibilidade de interferentes nos estudos eletroquímicos, uma vez que as técnicas são bastante sensíveis. Os valores de cloretos apresentados pelas diferentes frações após a extração estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Valores de íons Cl^- (mmol L^{-1}) presentes nas diferentes frações da MOS, obtidos a partir da titulação de Mohr.

Extrator	Fração	Cl^- (mmol L^{-1})
NaOH	SHS	$30,0 \pm 1,52$
	SHU	$30,0 \pm 1,00$
	AFS	$139 \pm 2,60$
	AFU	$66,6 \pm 1,70$
	AHS	$10,0 \pm 0,06$
	AHU	$10,0 \pm 0,10$
NaNO ₃	SSS	$0,600 \pm 0,20$
	SSU	$1,06 \pm 0,23$
Chuva simulada	SLS	$6,46 \pm 0,20$
	SLU	$13,4 \pm 0,30$

Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

Os pares das frações SHS e SHU, bem como AHS e AHU, e SSS e SSU não diferem significativamente entre si, de acordo com o teste-t com 95% de confiança, mas diferem em relação a qualquer outra que não seja fração correspondente. De modo geral, os valores de íons Cl^- reduzem a possibilidade de interferência nos estudos eletroquímicos, com exceção para a fração AFS cujo valor é superior a 0,1 mol L^{-1} . Os íons cloretos adicionados na extração alcalina no processo de precipitação do AH foram removidos pela diálise e uma parte ficou solubilizada nos respectivos AF que apresentaram os maiores valores.

Os metais coextraídos determinados em cada fração estão apresentados na Tabela 6, em que, Co, Mo e Ni os valores foram abaixo do limite de quantificação (<LOQ). Todas as frações da MOS apresentaram quantidades diferentes para cada metal, pois isso depende da associação da MOS com cada metal e também metais livres no extrato. Porém as diferenças observadas para as frações obtidas pela extração com NaOH de acordo com Santos et al. (2015), podem estar relacionadas com a hidrólise que a solução alcalina pode causar aos metais (precipitação) e até mesmo quebra de cristais (aumento da disponibilidade de metais em solução).

Os metais Ca e Mg, apresentaram-se mais abundantes nas frações da extração com NaNO₃ e com chuva simulada. Essa diferença pode ser justificada pela seletividade do extrator pelo material orgânico com grupos funcionais que apresentam maior afinidade por Ca e Mg quando comparadas com as frações extraídas com NaOH. De acordo com a teoria de Pearson (1963) *apud* Cordovil et al., (2011), as espécies químicas podem ser classificadas como ácidos duros e moles, sendo a tendência dos mesmos ligarem-se às bases duras e moles, respectivamente. Os cátions duros como Ca e Mg possuem maior afinidade por bases contendo oxigênio, que podem estar presentes nos grupos funcionais do material orgânico extraído.

É possível verificar que os íons metálicos presentes nos solos também estão presentes nos extratos correspondentes, embora estejam em uma menor proporção. De acordo com Botero et al. (2014), isso ocorre pelo fato de que as diferentes frações da MOS possuem grupos funcionais complexantes em suas estruturas e, conseqüentemente, influenciam o transporte e biodisponibilidade de metais para o ambiente.

Tabela 6 - Metais coextraídos: Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn em mg L⁻¹ obtidos por MP AES para todas as frações da MOS extraídas com NaOH, NaNO₃ e chuva simulada.

Metal (mg L ⁻¹)	NaOH						NaNO ₃		Chuva simulada	
	SHS	SHU	AFS	AFU	AHS	AHU	SSS	SSU	SLS	SLU
Al	57,9	156	23,9	50,6	50,7	80,7	2,38	2,82	1,73	1,36
Ba	0,118	0,120	0,0630	0,0595	0,373	0,363	0,0480	0,0230	0,0290	0,0320
Ca	2,45	8,59	1,09	1,45	0,196	0,356	2,42	4,98	5,15	7,38
Cd	0,0100	0,0140	0,0190	0,0240	0,145	0,170	0,0330	0,0380	0,0450	0,0410
Co	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ						
Cr	0,440	0,480	0,167	0,168	2,40	2,30	0,150	0,142	0,163	0,161
Cu	0,386	0,183	0,122	0,109	0,738	0,837	0,0380	0,0370	0,0140	0,0310
Fe	6,38	8,82	0,515	0,603	10,5	9,95	0,324	0,233	0,278	0,106
K	22,3	29,8	22,4	28,7	23,4	19,8	21,9	31,0	25,3	88,6
Mg	0,557	1,01	0,172	0,205	0,0880	0,0600	1,03	2,12	2,64	5,33
Mn	0,313	0,185	0,271	0,120	0,158	0,159	0,123	0,0980	0,0130	0,115
Mo	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ						
Ni	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ						
Pb	0,346	0,272	0,476	0,474	0,501	0,258	0,193	0,248	0,162	0,549
Zn	2,37	5,74	0,405	0,0840	0,575	5,32	0,0810	0,171	1,49	2,49

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

4.3 Caracterização estrutural das diferentes frações da MOS

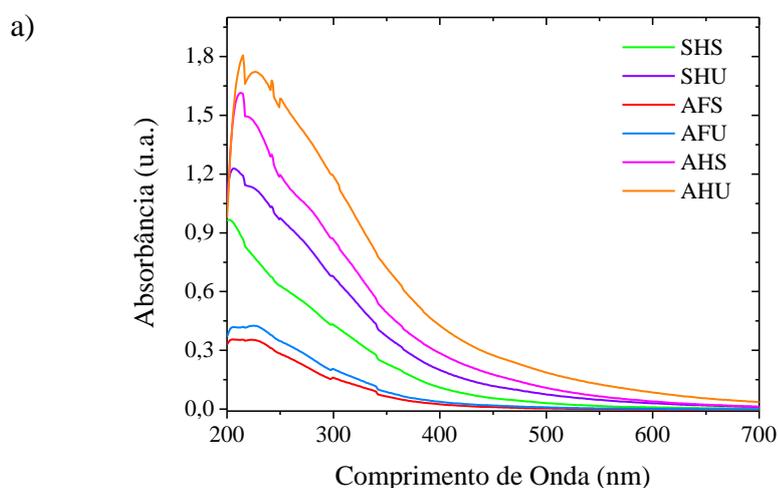
A representatividade ambiental dos resultados obtidos em laboratório é muito importante em estudos envolvendo a química ambiental e, nesse caso, o procedimento de extração das frações da MOS deve ser de forma que minimize ao máximo as possíveis alterações estruturais (ROSA et al., 2005). Nesse sentido, estudos comparando diferentes procedimentos de extração devem ser avaliados a fim de se obter uma melhor representatividade ambiental e interpretações mais realísticas quanto às mudanças climáticas, interação com nutrientes e contaminantes e modelagem molecular.

4.3.1 Características estruturais obtidas por UV-vis

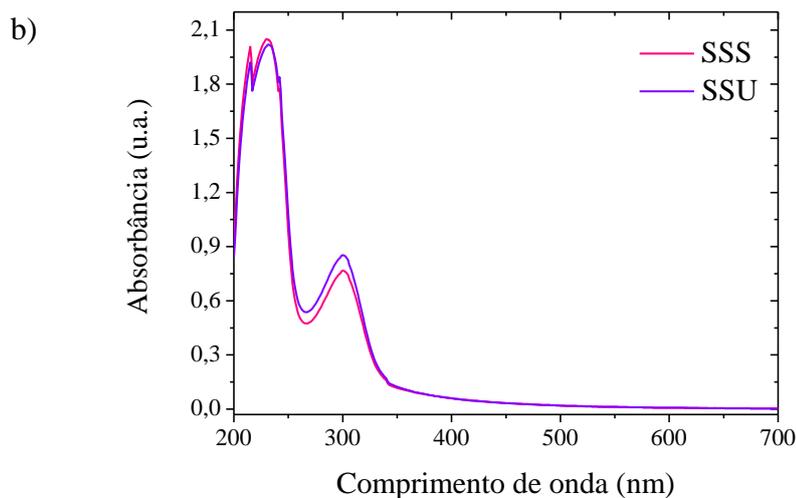
A espectroscopia por absorção na região UV-vis é uma técnica útil para discriminar diferenças na reatividade, origem, tamanho molecular e efeitos do manejo na MOS (CANELLAS & SANTOS, 2005). Nesse trabalho em específico, o espectro de UV-vis traz também informação acerca do efeito do extrator na composição das frações MOS.

Os espectros de varredura das frações obtidos pela extração alcalina já são descritos na literatura e apresentam pouca informação estrutural, mas, em geral, decrescem com o aumento do comprimento de onda. Analogamente às frações da extração alcalina, as frações lixiviadas apresentaram decréscimo da absorbância com o aumento do comprimento de onda, enquanto que as frações da extração salina apresentaram uma banda em 300 nm que não foi observada nos espectros das demais frações. Os espectros estão apresentados na Figura 11 a) - c).

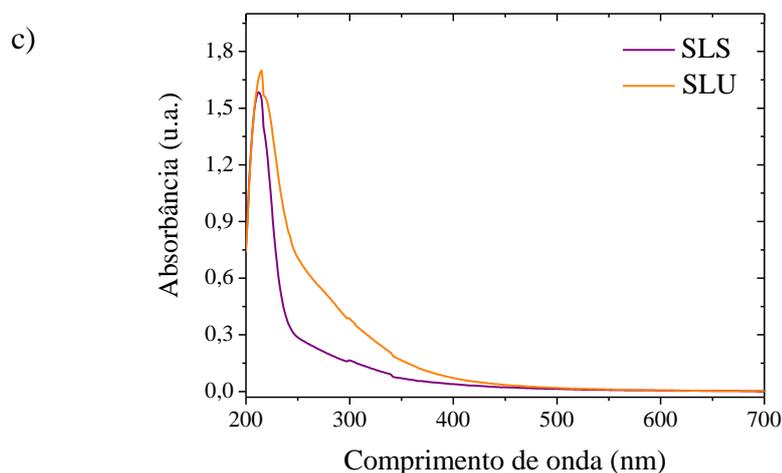
Figura 11 - Espectros de absorção de radiação UV-vis para as frações a) SHS, SHU, AFS, AFU, AHS, AHU, a pH 8 e 10 mg L⁻¹ em termos de COT; b) SSS e SSU c) SLS e SLU.



Fonte: Elaborada pela autora, 2018



Fonte: Elaborada pela autora, 2018.



Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

Os espectros da Figura 11 a) - c) apresentam banda mais evidente em 205 nm que é característica de carbonilas (SANTOS et al., 2015). As frações AHU e AHS apresentaram espectros mais acentuados e, de modo geral, as frações correspondentes ao solo de clima úmido apresentam maior absorvância em comparação às frações do solo de clima semiárido na extração com NaOH e chuva simulada.

Para as frações extraídas com NaNO₃ observa-se que os espectros apresentam o mesmo perfil com uma intensidade semelhante para ambas frações, destacando-se, além da banda entre 205-230 nm característica de carbonilas, uma outra banda em torno de 300 nm que pode ser um indicativo de grupos cromóforos com estruturas insaturadas como aromáticos simples (SANTOS et al., 2015) e, mais especificamente, entre 230-300 nm são transições eletrônicas π -

π^* correspondentes a aminoácidos aromáticos, como o triptofano e tirosina (NIENHAUS & NIENHAUS, 2005; ANTOSIEWICZ & SHUGAR, 2016).

Para a obtenção de informações mais precisas, no que diz respeito às estruturas das substâncias que compõem cada fração, alguns parâmetros são utilizados na análise por UV-vis como razões entre as absorvâncias em determinados comprimentos de onda. A razão E_{465}/E_{665} é independente da concentração de substâncias em solução e está relacionada com o grau de condensação dos constituintes aromáticos. Uma razão E_{465}/E_{665} inferior a 4 indica a presença de grupos aromáticos condensados e uma razão superior a 4 reflete baixo grau de condensação aromática e a presença de grandes proporções de estruturas alifáticas (ROSA, et al. 2000).

Em corroboração com o parâmetro anterior, a razão E_{250}/E_{365} é inversamente proporcional ao tamanho ou agregação molecular (SLOBODA et al., 2009), e a razão E_{270}/E_{407} está relacionada com a presença de derivados da lignina com maior contribuição de estruturas porfirínicas. Como a lignina é um precursor para a formação de substâncias húmicas e da MOS como um todo, esse parâmetro pode ser um indicativo da humificação do material orgânico (OLIVEIRA et al., 2008). Os parâmetros obtidos para as diferentes frações da MOS estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Valores dos parâmetros E_{465}/E_{665} , E_{250}/E_{365} e E_{270}/E_{407} obtidos por UV-vis para as diferentes frações da MOS.

Extrator	Fração	E_{465}/E_{665}	E_{250}/E_{365}	E_{270}/E_{407}
NaOH	SHS	9,60	3,28	5,50
	SHU	6,50	3,14	4,72
	AFS	nd	5,89	10,4
	AFU	nd	5,27	8,82
	AHS	7,70	2,88	4,01
	AHU	5,40	2,16	2,99
NaNO ₃	SSS	nd	10,5	8,76
	SSU	nd	11,3	10,1
Chuva simulada	SLS	nd	5,03	6,22
	SLU	nd	5,59	8,75

nd = não determinado

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

O parâmetro E_{465}/E_{665} foi calculado apenas para as frações SHS, SHU, AHS e AHU, cujos valores foram superiores a 4. Os resultados indicam um menor grau de condensação aromática na ordem SHS<AHS<SHU<AHU. As demais frações apresentaram absorvância zero em comprimentos de onda superiores a 518 nm, impossibilitando o cálculo desse parâmetro.

Vale ressaltar que, como esse parâmetro se relaciona com a condensação aromática, para absorção na região de 465 nm e 665 nm são necessários pelo menos 4 anéis aromáticos condensados (CANELLAS & SANTOS, 2005). Além disso, Sanches et al. (2007) apresentaram um estudo de substâncias húmicas por tamanho molecular (em kDa) e relatou que quanto menor o tamanho molecular, maior a razão E_{465}/E_{665} . Dessa forma, uma possível justificativa para os valores altos do parâmetro para SHS, SHU, AHS e AHU, e a absorvância zero em maiores comprimentos de onda das frações AFS, AFU, SSS, SSU, SLS e SLU é a diminuição no tamanho molecular das estruturas que as compõem e, conseqüentemente, uma menor condensação aromática.

Os resultados apresentados na Tabela 7 para a razão E_{465}/E_{665} podem ser justificados pela interpretação apresentada por Dobbs et al. (2009) que realizaram um estudo com ácidos húmicos e fúlvicos extraídos de diferentes tipos de solos. Os valores médios da razão E_{465}/E_{665} foram 6,5 para ácidos húmicos e 10,5 para ácidos fúlvicos dos latossolos estudados, indicando uma menor complexidade estrutural para os ácidos fúlvicos. Além disso, para solos naturalmente férteis, de clima temperado, os valores dessa razão são menores do que 5 para ácidos húmicos e entre 5 e 8,5 para AF.

O parâmetro E_{250}/E_{365} é inversamente proporcional ao tamanho molecular. Como observado na Tabela 8 as frações SSS e SSU apresentaram valores maiores, seguidas pelas SLS, SLU, AFS e AFU. Já as frações SHS, SHU, AHS e AHU apresentaram valores relativamente baixos indicando um aumento no tamanho molecular das estruturas que compõem essas frações. A presença de estruturas derivadas da lignina com participação de estruturas porfirínicas também segue a mesma ordem do tamanho molecular.

Em resumo, as frações obtidas pela extração básica apresentaram compostos de maior tamanho molecular, com condensação aromática superior às demais frações (com exceção dos ácidos fúlvicos), menor composição de estruturas simples como derivadas da lignina, indicando uma menor humificação do material orgânico. As frações da extração salina aproximam-se das frações lixiviadas por chuva simulada e dos ácidos fúlvicos com estruturas mais simples como derivadas da lignina e menor tamanho molecular.

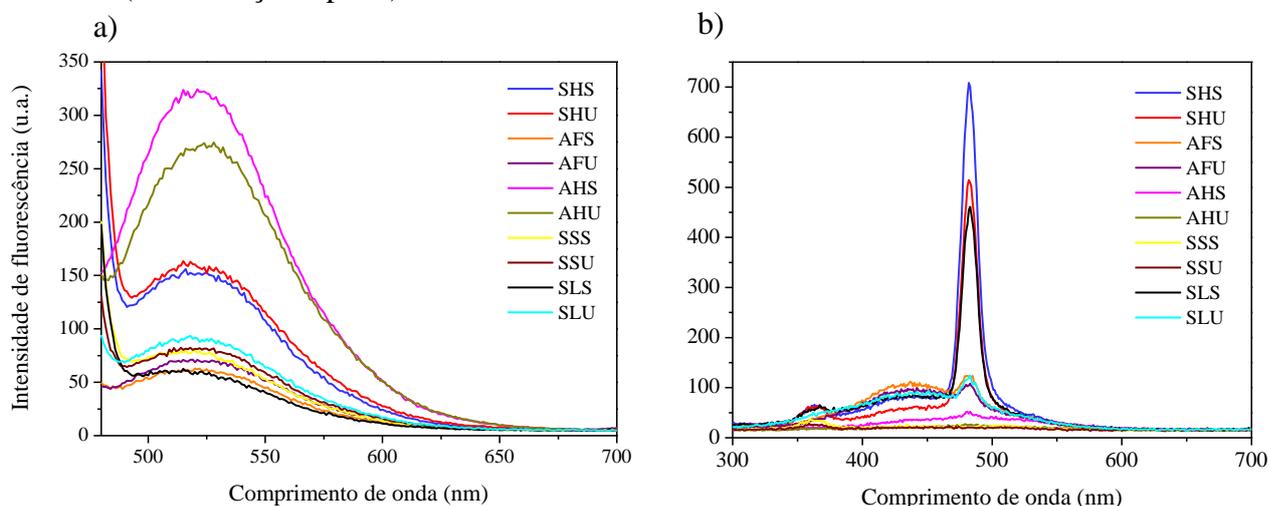
4.3.2 Características estruturais obtidas por fluorescência molecular

A espectroscopia de fluorescência molecular fornece informações que podem ser usadas para diferenciar e classificar as frações da matéria orgânica, permitindo estudar estruturas moleculares e funcionalidades das mesmas. A depender da metodologia empregada, é possível inferir acerca do grau de humificação do material orgânico em estudo (CANELLAS & SANTOS, 2005; CUNHA et al., 2009). As metodologias baseiam-se no fato de que estruturas mais complexas têm seus espectros de absorção e emissão deslocados para o vermelho (MILORI et al., 2002; ZSOLNAY et al. 1999).

No estudo de frações da matéria orgânica, os espectros de fluorescência são constituídos pela soma dos espectros dos diferentes fluoróforos que compõem as amostras, uma consequência da complexidade e heterogeneidade dessas substâncias. Dessa forma, as informações obtidas são baseadas de acordo com intensidade e posição nos espectros (CUNHA et al., 2009).

Os espectros de emissão com excitação em 465 nm foram semelhantes entre si e aos encontrados por Santos et al. (2015) e Cunha et al., (2009) que isolaram ácidos húmicos e fúlvicos de diferentes solos e profundidades ou manejos. Os espectros de emissão com excitação em 240 nm obtidos de acordo com a metodologia de Zsolnay et al. (1999) apresentaram espalhamento da luz em 480 nm (difusão Rayleigh) provocado pela presença de partículas de tamanho muito inferior ao comprimento de onda da luz incidente (CANELLAS e SANTOS, 2005). Os espectros estão apresentados na Figura 12 a) e b).

Figura 12 - Espectros de emissão de fluorescência com excitação a) em 465 nm b) em 240 nm obtidos para SHS, SHU, AFS, AFU, AHS, AHU (10 mg L⁻¹ de COT e pH 8), SSS, SSU, SLS e SLU (sem diluição a pH 8).



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

A partir das intensidades de fluorescências foi possível calcular o índice de humificação proposto de Milori et al. (2002), que consiste na área total (A_{465}) do espectro de emissão com excitação em 465 nm, e o índice de humificação proposto por Zsolnay et al. (1999) que consiste na razão entre a área do último quarto de emissão (de 570 a 641 nm) pelo primeiro quarto (de 356 a 432 nm), denominada A_4/A_1 . Quanto maior A_{465} ou A_4/A_1 , maior o índice de humificação. A Tabela 8 mostra os valores de A_{465} e A_4/A_1 obtidos para as diferentes frações em estudo.

Tabela 8 - Índice de humificação, A_{465} e A_4/A_1 obtidos para as diferentes frações de MOS a partir da metodologia de Milori et al. (2002) e Zsolnay et al. (1999).

Extrator	Fração	A_{465} (10^3)	A_4/A_1 (10^{-3})
NaOH	SHS	12,9	97,4
	SHU	14,2	123
	AFS	4,64	44,5
	AFU	5,38	57,9
	AHS	25,4	285
	AHU	22,3	325
NaNO ₃	SSS	6,49	80,5
	SSU	6,58	65,5
Chuva simulada	SLS	5,29	77,9
	SLU	7,19	71,0

Fonte: elaborado pela autora, 2018.

Em 465 nm são excitados os fluoróforos de estruturas mais complexas, cuja concentração aumenta durante o processo de humificação e, conseqüentemente, a área sob a curva de emissão é proporcional ao grau de humificação (MILORI et al., 2002). Dessa forma, a ordem crescente de humificação baseado na emissão com excitação em 465 nm para as amostras em estudo é: SLS<SLU<AFS<AFU<SSS<SSU<SHS<SHU<AHU<AHS. Uma possível justificativa para a diminuição da intensidade de fluorescência do AHU em relação ao AHS seria uma maior proporção de ligações intra e intermoleculares e a aproximação dos grupos cromóforos aromáticos presentes em maior quantidade nessa fração (AZEVEDO e NOZAKI, 2008).

Ao excitar em 240 nm os fluoróforos de estruturas simples são favorecidos, mas como o parâmetro consiste na razão A_4/A_1 , ou seja, correspondente à área de estruturas mais complexas por estruturas mais simples, é diretamente proporcional ao índice de humificação. Quanto maior a razão A_4/A_1 maior o grau de humificação. As frações da extração com NaOH do solo de clima úmido apresentaram um índice maior do que as amostras do solo de clima semiárido, enquanto nas extrações salina e por chuva simulada o comportamento foi inverso.

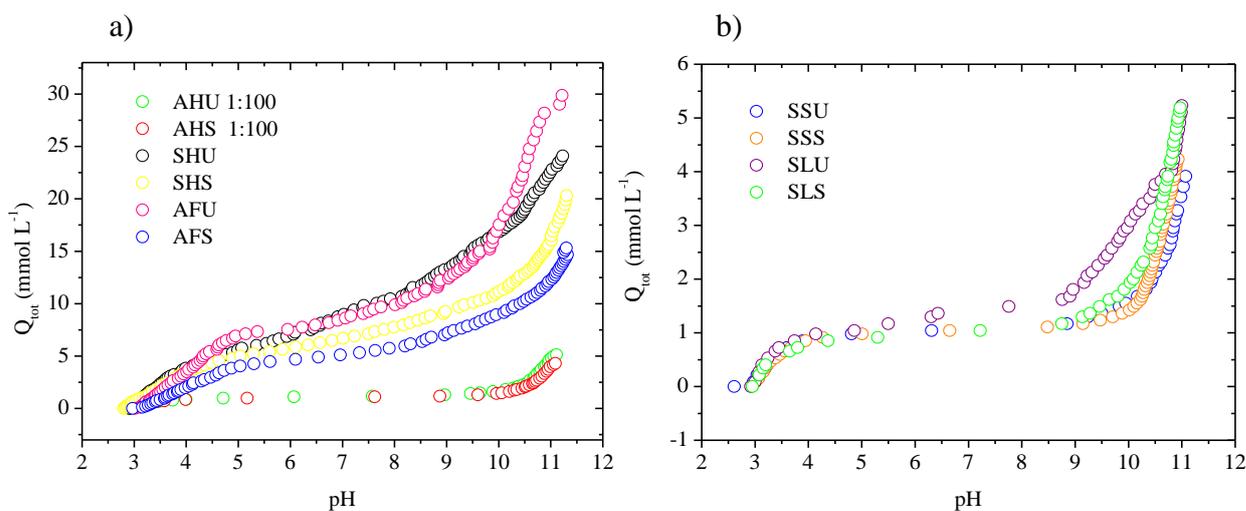
Os ácidos húmicos apresentaram maior valor para o índice A_4/A_1 , logo são as frações mais humificadas e os ácidos fúlvicos apresentaram os menores valores, apresentando-se menos humificados. O grau de humificação em ordem crescente para todas as frações é: $AFS < AFU < SLU < SLS < SSU < SSS < SHS < SHU < AHS < AHU$. Apesar da ordem de humificação não ser idêntica àquela obtida por A_{465} , de modo geral, os valores para A_{465} , A_4/A_1 corroboram entre si e com a razão E_{270}/E_{407} obtida por UV-vis indicando que as frações obtidas pela extração com NaOH apresentam-se mais humificadas.

4.3.3 Grupos carboxílicos e fenólicos presentes nas frações

A informação sobre os grupos funcionais ácidos presentes na MOS são, geralmente, obtidos a partir de titulações de soluções de ácido húmico padrão, o que nem sempre reflete às características da MOS no ambiente (LÓPEZ et al., 2011). Nesse sentido, titulações de frações da MOS obtidas sob condições mais realísticas são importantes para compreensão das propriedades ácido-base da MOS no ambiente e também das reações de ligação catiônica, interação e transporte com nutrientes e contaminantes.

As curvas médias de carga (Q_{tot}) *versus* pH para as diferentes frações da MOS estão apresentadas na Figura 13 foram obtidas a partir da relação do número de mols de base utilizado na titulação em função do pH para cada fração. As 10 curvas apresentam um perfil similar, variando somente a posição de Q_{total} com o pH para algumas delas.

Figura 13 - Curvas de carga total em função dos pH obtidas por titulação ácido-base ($n = 3$) para as diferentes frações da MOS.



Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

As frações SSS, SSU, SLS e SLS apresentam valores de densidade de carga semelhantes entre si. As frações AFS e AFU, SHS e SHU apresentam valores maiores de densidade de carga, mas próximo entre estas frações. Os ácidos húmicos foram titulados na forma diluída, justificando curvas tão inferiores às demais frações. Porém, considerando a diluição, os valores são muito superiores, tornando essas frações com a maior densidade de carga total (carboxílica e fenólica) em relação as demais.

Para uma melhor interpretação das curvas, os valores correspondentes aos grupos carboxílicos foram calculados com base no Q_{total} em pH 8 e denominado (Q_1) e os valores correspondentes aos grupos fenólicos com base no dobro da diferença (Q_{total} em pH 10 – Q_{total} em pH 8) e denominado Q_2 . Na Tabela 9 estão apresentados os valores de Q_1 e Q_2 obtidos para cada fração da MOS.

Tabela 9 - Valores médios correspondentes aos grupos carboxílicos (Q_1) e fenólicos (Q_2) obtidos para cada fração da MOS.

Extrator	Fração	Q_1 (mmol L ⁻¹)	Q_2 (mmol L ⁻¹)
NaOH	SHS	7,76	6,80
	SHU	10,7	12,3
	AFS	5,74	6,80
	AFU	9,89	15,3
	AHS	110	76,4
	AHU	117	115
NaNO ₃	SSS	1,10	0,636
	SSU	1,17	1,02
Chuva simulada	SLS	1,17	1,53
	SLU	1,62	2,93

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

As frações ácidos húmicos, AHS e AHU apresentam uma maior proporção de grupos carboxílicos e fenólicos, enquanto que as frações SSS, SSU, SLS e SLU apresentam a menor proporção, seguidas por ácidos fúlvicos, AFS, AFU e substâncias húmicas, SHS e SHU. Uma possível justificativa para os maiores teores de Q_1 e Q_2 nas frações da extração alcalina é a interação intermolecular entre o extrator e as frações da MOS, uma vez que as forças predominantes na extração com NaOH são: i) rompimento de ligações de hidrogênio entre as próprias moléculas orgânicas e com a superfície do mineral; e ii) reação de troca de ligantes entre as hidroxilas do meio e os grupos carboxílicos e fenólicos da molécula da MOS, pelos quais está coordenada na superfície hidroxilada do mineral (DICK et al., 1998).

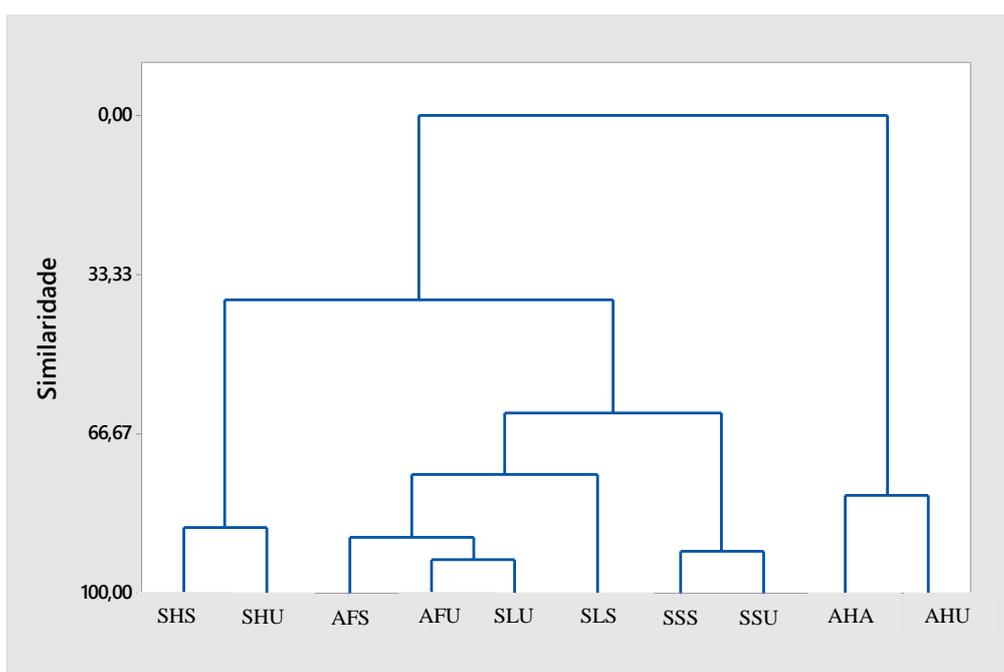
Os ácidos fúlvicos, AFS e AFU apresentaram maior teor de grupos fenólicos do que carboxílicos. Esse resultado corrobora com àqueles obtidos por Dobbs et al. (2009), que obtiveram resultados por RMN ^1H para ácidos fúlvicos de diferentes amostras de latossolos. Esse comportamento foi semelhante para SLU, SLS e SHU. As demais frações apresentaram maior teor de grupos carboxílicos, especialmente AHS. Esses resultados são muito importantes para a predição da interação dessas frações com metais e podem variar conforme o material de origem, o tempo de degradação e procedimento empregado na obtenção desses compostos.

4.4 Quimiometria

Para avaliar a relação entre todas as características das frações da MOS, os resultados obtidos por UV-vis, fluorescência molecular e volumetria ácido-base foram tratados por análise de agrupamento hierárquico (HCA) e análise de componentes principais (PCA) utilizando o software MINITAB 14 e normalização dos dados a partir da distância euclidiana e autoescalonamento.

A partir da HCA é possível observar a formação de agrupamentos em uma estrutura hierárquica em que as amostras são colocadas em um grupos e subgrupos dependendo da similaridade entre elas. O dendograma na Figura 14 mostra os grupos formados pelas diferentes frações da MOS a partir da similaridade de suas características químicas.

Figura 14 – Dendograma obtido por HCA para as frações da MOS em relação às características correspondentes aos parâmetros E_{465}/E_{665} , E_{207}/E_{470} , E_{250}/E_{365} , A_4/A_1 , A_{465} , Q_1 e Q_2 .



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

Na Figura 14 é possível observar a formação de um grupo que relaciona as características de SHS e SHU com similaridade de 86,16 %. Essas frações foram resultado de um mesmo tipo de extração e não foram submetidas ao tratamento de purificação, o que justifica essa similaridade. O segundo grupo considerado, resultado de três agrupamentos, relaciona AFS, AFU, SLS, SLU, SSS e SSU com 62,24 % de similaridade. O terceiro grupo relaciona com 79,40 % as frações AHS e AHU, que são amostras fracionadas a partir das respectivas SH e que foram submetidas ao procedimento de purificação, levando às características tão distintas.

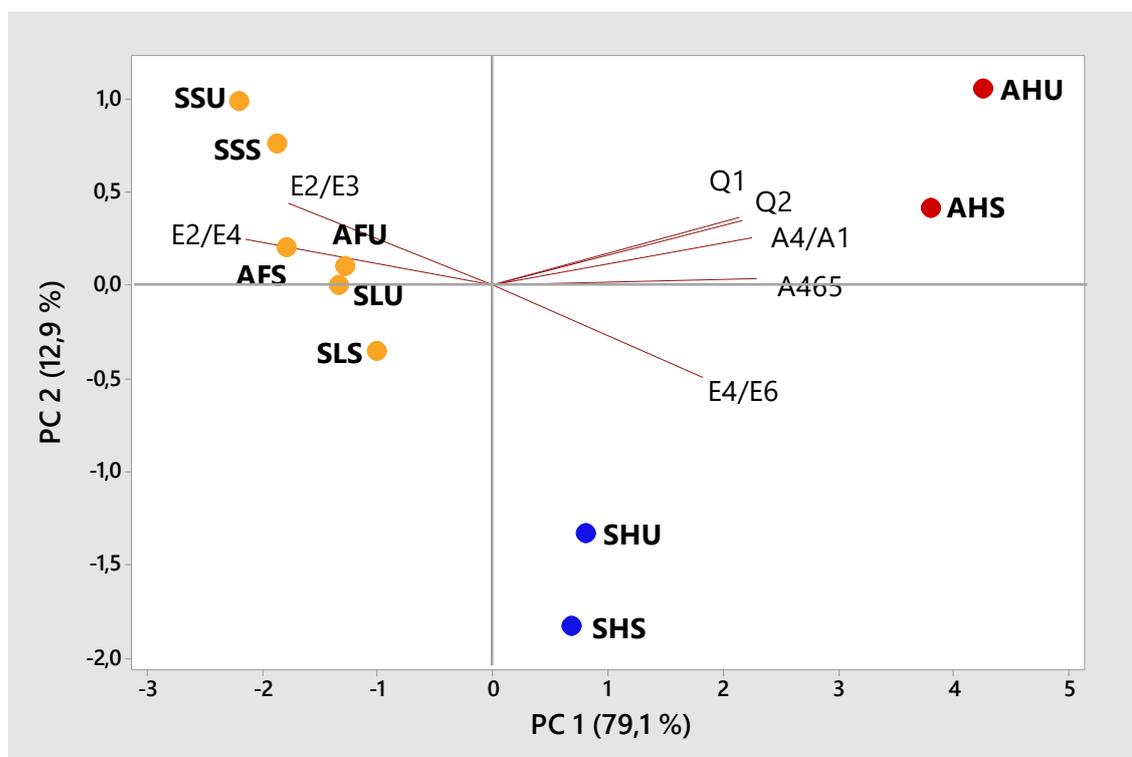
A similaridade das frações lixiviadas do solo (SLS e SLU) com as frações ácidos fúlvicos (AFS e AFU) corrobora com os resultados obtidos por Schaefer et al. (2002), que realizaram um trabalho com chuva simulada e avaliou a perda de matéria orgânica e outros parâmetros. Nesse trabalho, o material resultante da erosão do solo foi submetido ao fracionamento químico proposto pela IHSS e revelou uma perda seletiva de formas mais solúveis (ácidos fúlvico) com a enxurrada.

REN et al. (2015) realizaram experimento utilizando membrana de solo Donnan (SC-DMT) e $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 2 mmol L⁻¹ para obtenção da solução de solo e seus resultados mostraram que para os 26,2% do material orgânico na solução de solo, a maior abundância é de ácidos fúlvicos. De acordo com López et al. (2011) e Cooke et al. (2007) os ácidos fúlvicos correspondem à fração móvel da matéria orgânica e àquela principalmente encontrada na forma dissolvida e em ambientes aquático, o que justifica a similaridade das frações lixividas (SLS e SLU) e das soluções de solo (SSS e SSU) com os ácidos fúlvicos em estudo (AFS e AFU).

Pode-se observar ainda que o grupo das SH e o grupo das demais frações com exceção dos AH apresentam uma relação de 38,54 %, enquanto que esse novo grupo não apresenta similaridade com o grupo dos AH. Isso pode ser justificado pelo fato de que os AH foram purificados utilizando um tratamento com HCl/HF que pode levar a alterações estruturais dos compostos de origem (CANELLAS & SANTOS, 2005; TAMBACH et al., 2009).

O gráfico das duas componentes principais está apresentado na Figura 15, em que a primeira componente principal (PC1) representa 79,1 % da variância total dos dados e é produzida principalmente pelos parâmetros de E_{270}/E_{407} e E_{250}/E_{365} positivamente em PC 2 e negativamente em PC 1. A segunda componente principal (PC2) explica 12,9 % da variância total dos dados. O grupo das SH é influenciado pelo parâmetro E_{465}/E_{665} , enquanto que os parâmetros Q1, Q2 e A_4/A_1 têm maior influência na formação do grupo dos AH. Já o grupo das demais frações é influenciado pelos parâmetros E_{270}/E_{407} e E_{250}/E_{365} enquanto A_{465} não tem nenhuma influência na distribuição dos grupos.

Figura 15 – Gráfico de PCA, PC1 e PC2, para os dados obtidos para a caracterização das diferentes frações da MOS e contribuição dos parâmetros (E_{465}/E_{665} , E_{270}/E_{407} , E_{250}/E_{365} , A_4/A_1 , A_{465} , Q_1 e Q_2) na distribuição dos grupos em PC1 e PC2.



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Através da análise do gráfico da Figura 15 pode-se observar a formação de 3 grupos em que estão distribuídas as 10 frações da MOS. Essa distribuição das amostras é explicada por 92 % da variância total dos dados que é a soma das duas componentes principais. Os resultados corroboram com a discriminação observada em HCA e indica que ácidos húmicos, AHS e AHU apresentam uma maior quantidade de estruturas aromáticas condensadas, maior tamanho molecular e poucos derivados da lignina, logo são mais humificados e com maior teor de grupos carboxílicos e fenólicos.

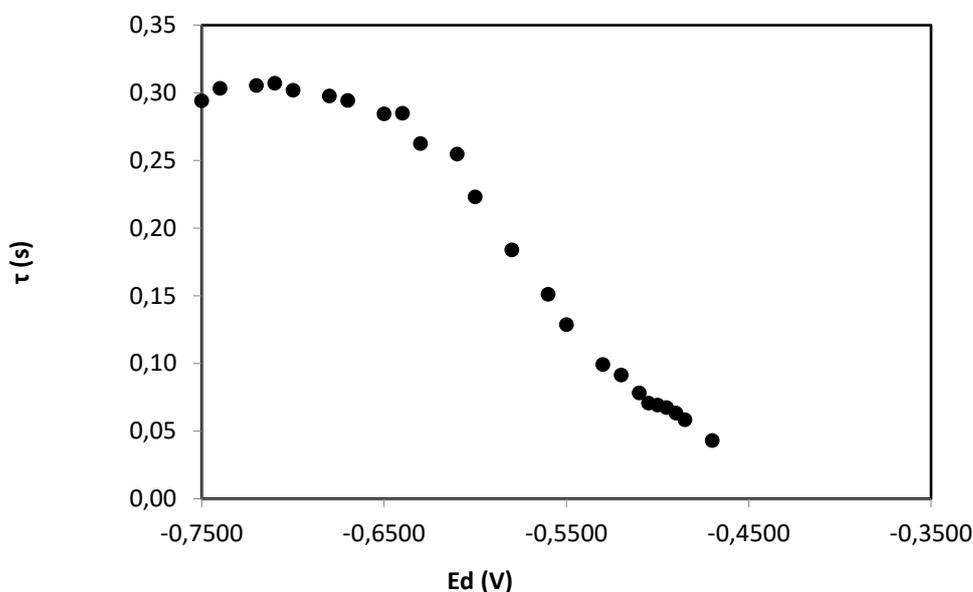
As frações AFS, AFU, SSS, SSU, SLS, SLU apresentam menor composição em estruturas aromáticas condensadas, menor tamanho molecular, maior contribuição de derivados da lignina, menos humificadas e com menor teor de grupos fenólicos e carboxílicos em relação aos ácidos húmicos. As substâncias húmicas (SHS e SHU) apresentam, portanto, características intermediárias.

4.5 Contribuição das diferentes frações da MOS na complexação de Pb(II)

4.5.1 Otimização dos parâmetros para AGNES

Para realização dos estudos de interação das diferentes frações da MOS com Pb(II) via AGNES é necessária a otimização do potencial de deposição E_d e do tempo de equilíbrio, t_d . O E_d foi otimizado a partir de várias medidas de SCP, que leva à SSCP e dá origem a uma curva sigmoidal do sinal analítico em função do potencial como apresentada na Figura 16, a partir da qual se escolhe o potencial de meia onda, $E_{1/2}$, que corresponde ao potencial de equilíbrio (PARAT et al., 2011; DOMINGOS et al., 2008).

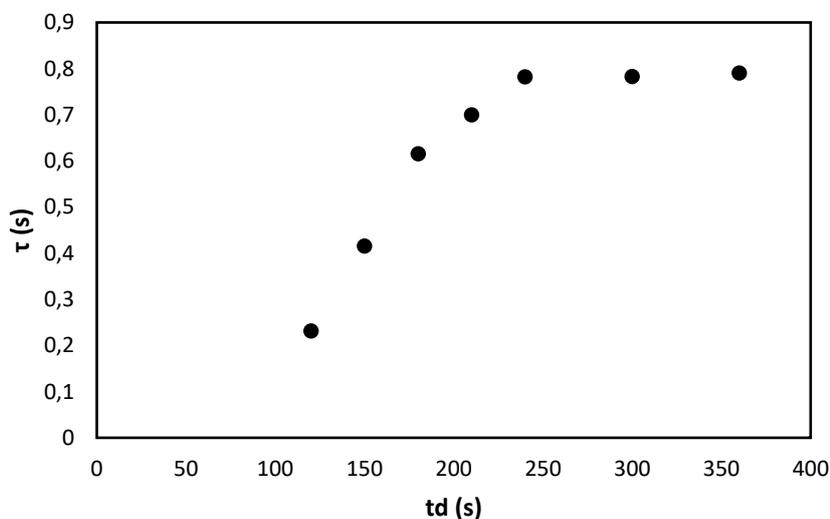
Figura 16 - a) Curva de SSCP (τ vs E_d) para Pb(II) com TMFE/carbono vítreo com $E_d = -0,78$ a $-0,41$ V; $t_d = 45$ s; $I_{ox} = 2\mu\text{A}$; $[\text{Pb}^{2+}] = 0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{NaNO}_3] = 0,01 \text{ mol L}^{-1}$.



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

O tempo de equilíbrio (t_d) foi otimizado a partir de várias medidas via AGNES utilizando o E_d e variando o tempo de deposição até atingir um ponto onde o sinal analítico é praticamente constante, denominado patamar do gráfico, como observado na Figura 17. Nesse sentido, o tempo escolhido está dentro do patamar, que corresponde ao tempo de equilíbrio nernstiano com ausência de gradientes.

Figura 17 - a) Curva cronopotenciométrica (τ vs t_d) para Pb(II) com TMFE em carbono vítreo com $E_d = -0,55$ V; $t_d = 120$ a 360 s; $I_{ox} = 2\mu\text{A}$; $[\text{Pb}^{2+}] = 0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{NaNO}_3] = 0,01 \text{ mol L}^{-1}$.



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

Com base na análise dos dados apresentados nas Figuras 16 e 17 foi possível escolher o potencial e o tempo de deposição para Pb(II), que foram $-0,55$ V e 300 s e seguiu-se com os experimentos de interação com as diferentes frações da matéria orgânica.

4.5.2 Calibração

Antes de cada titulação foi feito uma curva de calibração com duplicatas de 4 pontos e concentrações conhecidas de Pb(II) ($0,01$ a, $0,8 \mu\text{mol L}^{-1}$) após a medida do branco (20 mL de NaNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e 200 μL de tampão MES para pH 5 ou MOPS para pH 6 ambos $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando $E_d = -0,55$ V; $t_d = 300$ s; $I_{ox} = 2 \mu\text{A}$) a partir da qual foi possível obter os LOD de 5,6 e 5,5 nmol L^{-1} em pH 5 e 6, respectivamente e os LOQ 0,032 e 0,035 $\mu\text{mol L}^{-1}$ da AGNES para Pb(II) de acordo com as equações (11) e (12).

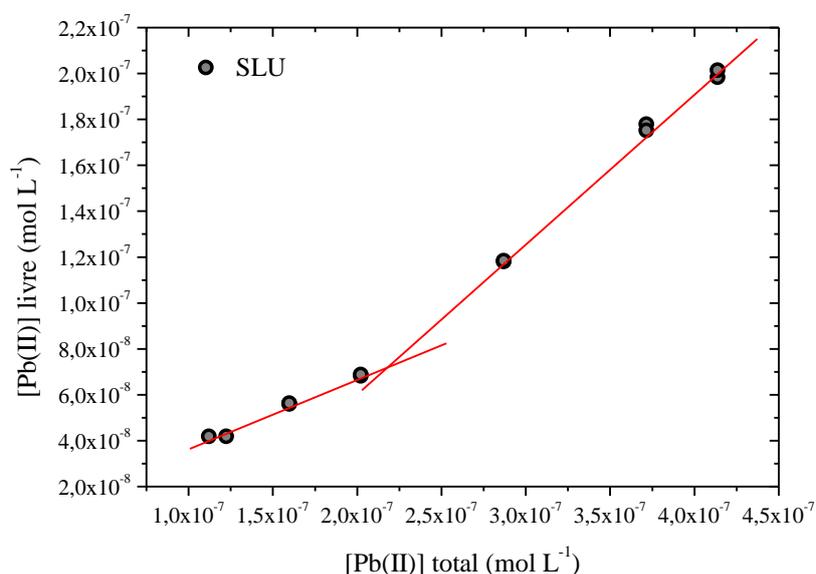
Os valores obtidos para os LOD e LOQ apresentam variações justificadas pela característica de nanogotas de mercúrio depositadas na superfície de carbono vítreo e, principalmente devido às condições experimentais como corrente elétrica, limpeza da superfície do eletrodo de carbono vítreo, medida do sinal entre outros (ROCHA et al., 2007; ROCHA, 2009; PARAT et al., 2011; MOTERROSO et al., 2004; MONTEIRO et al., 2016).

4.5.3 Titulação das diferentes frações da MOS por íons Pb(II)

A matéria orgânica representa um conjunto de ligantes naturais que exercem um papel importante na biodisponibilidade de metais para o ambiente e para os organismos. Nesse sentido, para compreender qual a contribuição das frações da MOS extraídas a partir de diferentes procedimentos, é importante o estudo de complexação entre essas frações e metais potencialmente tóxicos como o chumbo e a determinação dos parâmetros como capacidade de complexação e constante condicional de estabilidade dos complexos formados.

A capacidade de complexação foi determinada a partir do gráfico da concentração do metal livre *versus* a concentração do metal total, que apresenta duas seções lineares com mudança de coeficiente angular e a intersecção das duas curvas corresponde a capacidade de complexação, como apresentado na Figura 18 para a fração SLU.

Figura 18 – Curva para a determinação da capacidade de complexação da SLU com Pb(II) determinada via AGNES: $E_d = -0,55$ V; $t_d = 300$ s; $I_{ox} = 2$ μ A; pH = 5; 25 mg L⁻¹ COT em NaNO₃ 0,01 mol L⁻¹.



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

Essa relação gráfica foi feita para todas as frações em pH 5 e 6 e após obtenção da intersecção, o valor foi dividido pela concentração de COT na célula eletroquímica para determinação do valor de capacidade de complexação em mg de Pb(II) por g de COT. Os valores estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Valores médios de capacidade de complexação (CC) para as frações da MOS com Pb(II) determinadas via AGNES: $E_d = -0,55$ V; $t_d = 300$ s; $I_{ox} = 2$ μ A; pH = 5 e 6; NaNO₃ 0,01 mol L⁻¹, (n =2).

Extrator/Fração		CC (mg Pb(II)/ g COT) pH 5	CC (mg Pb(II)/ g COT) pH 6
NaOH	SHS	7,99	8,46
	SHU	11,9	12,7
	AHS	61,8	63,2
	AHU	41,9	43,0
	AFS	2,06	1,92
	AFU	1,11	1,28
NaNO ₃	SSS	0,960	1,02
	SSU	0,940	0,970
Chuva simulada	SLS	0,810	0,860
	SLU	1,79	1,93

Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

A CC dá informações da quantidade de metal complexado por cada fração, bem como a afinidades das mesmas por este metal (Botero et al. 2014). Os valores em pH 5 são em relação aos obtidos em pH 6 são devido às alterações conformacionais que favoreçam a interação de sítios complexantes com o metal em solução e também a desprotonação dos sítios complexantes, os quais estarão mais disponíveis para interação (DOMINGOS et al., 2008).

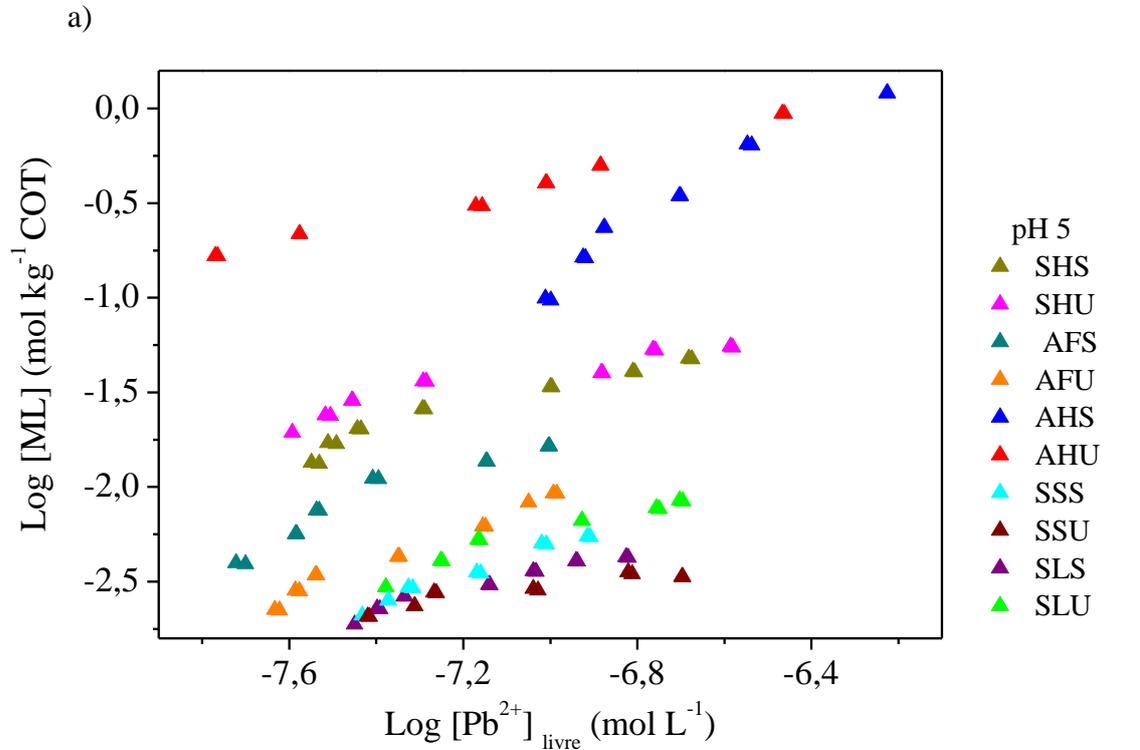
A partir dos valores apresentados na Tabela 10 pode-se estabelecer a seguinte ordem crescente de afinidade entre o chumbo e as frações estudadas em pH 5 e 6:

$$SLS < SSU \leq SSS < AFU < SLU < AFS < SHS < SHU < AHU < AHS$$

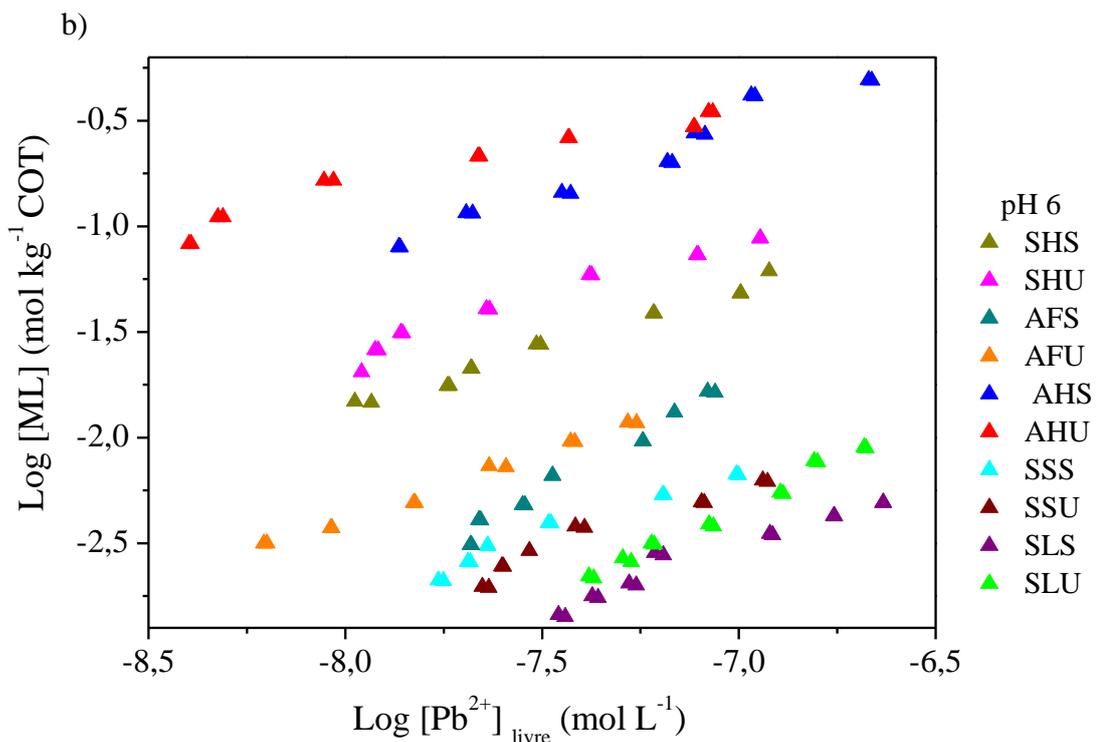
Essa observação corrobora com os resultados obtidos nas caracterizações, em que não se faz distinção significativa em relação ao solo de origem, mas sim da natureza dos grupos funcionais presentes devido a seletividade do extrator empregado. Dessa forma, pode-se inferir que as frações denominadas solução de solo e solução lixiviada apresentam valores de CC semelhante aos ácidos fúlvicos, que é muito diferente daquela apresentada pelos ácidos húmicos.

A ligação de íons metálicos com a fração orgânica se dá através de interações específicas entre os cátions e os grupos funcionais e por ligação não específica a qualquer carga residual negativa (MONTEIRO, 2017). Os gráficos apresentados na Figura 19 mostram o comportamento do chumbo frente as diferentes frações da MOS em pH 5 e pH 6.

Figura 19 – Comportamento do metal complexado ($\log[ML]$) em função do metal livre ($\log[Pb^{2+}]_{livre}$) obtidos via AGNES: $E_d = -0,55$ V; $t_d = 300$ s; $I_{ox} = 2 \mu A$; $NaNO_3$ $0,01$ mol L^{-1} em a) pH 5 e b) pH 6.



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

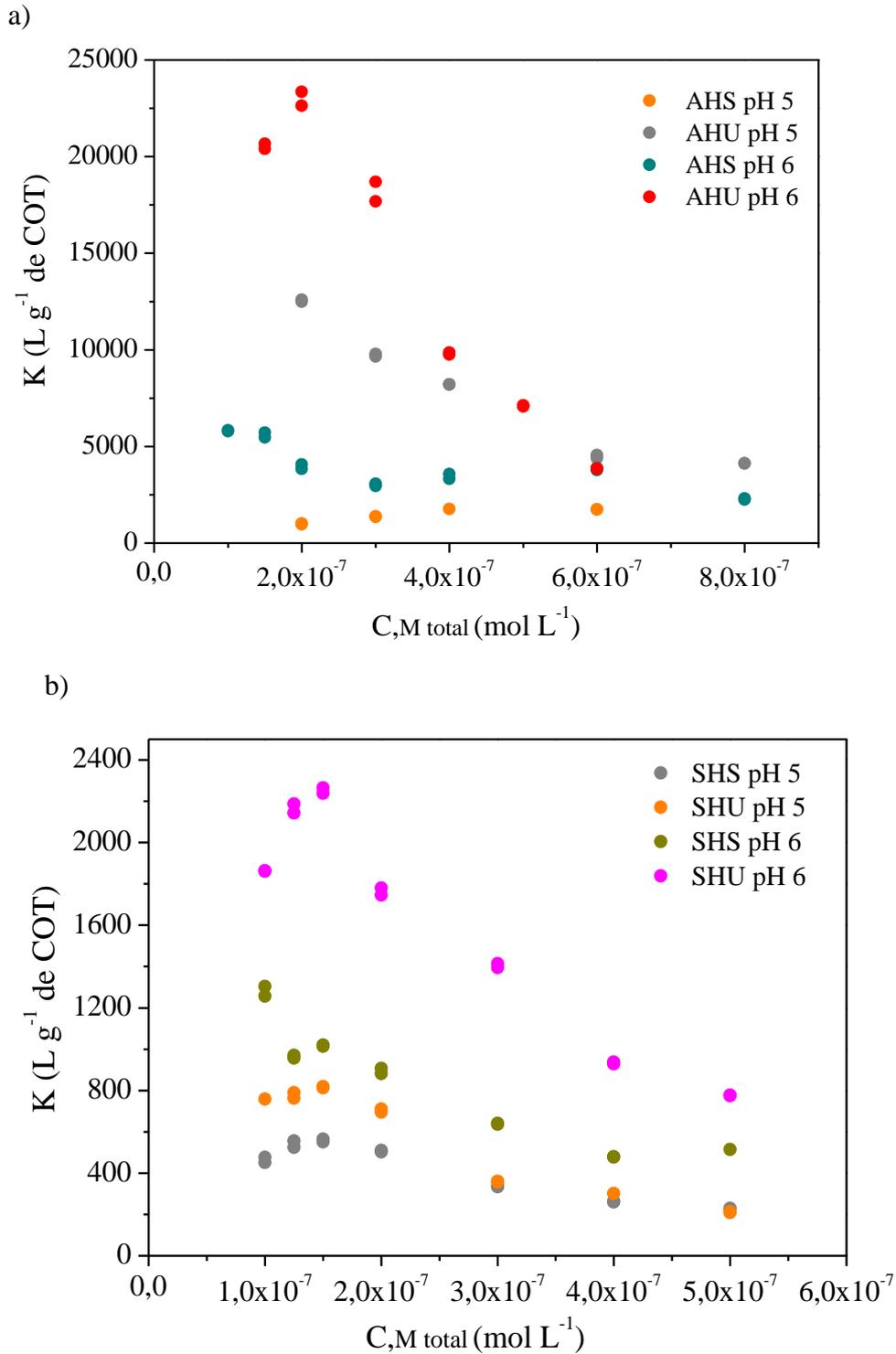
A partir dos gráficos apresentados nas Figuras 19 a) e b) pode-se inferir que o comportamento das frações é similar em pH 5 e 6. Outra informação importante é que a interação de chumbo com ácidos húmicos é maior, ou seja, maior é o log da concentração do metal complexado [ML], enquanto os ácidos fúlvicos apresentam uma menor afinidade por Pb(II) em relação aos ácidos húmicos. Esse comportamento também foi observado por Domingos et al. (2004) para a interação de ácidos húmicos e fúlvicos com Pb (II).

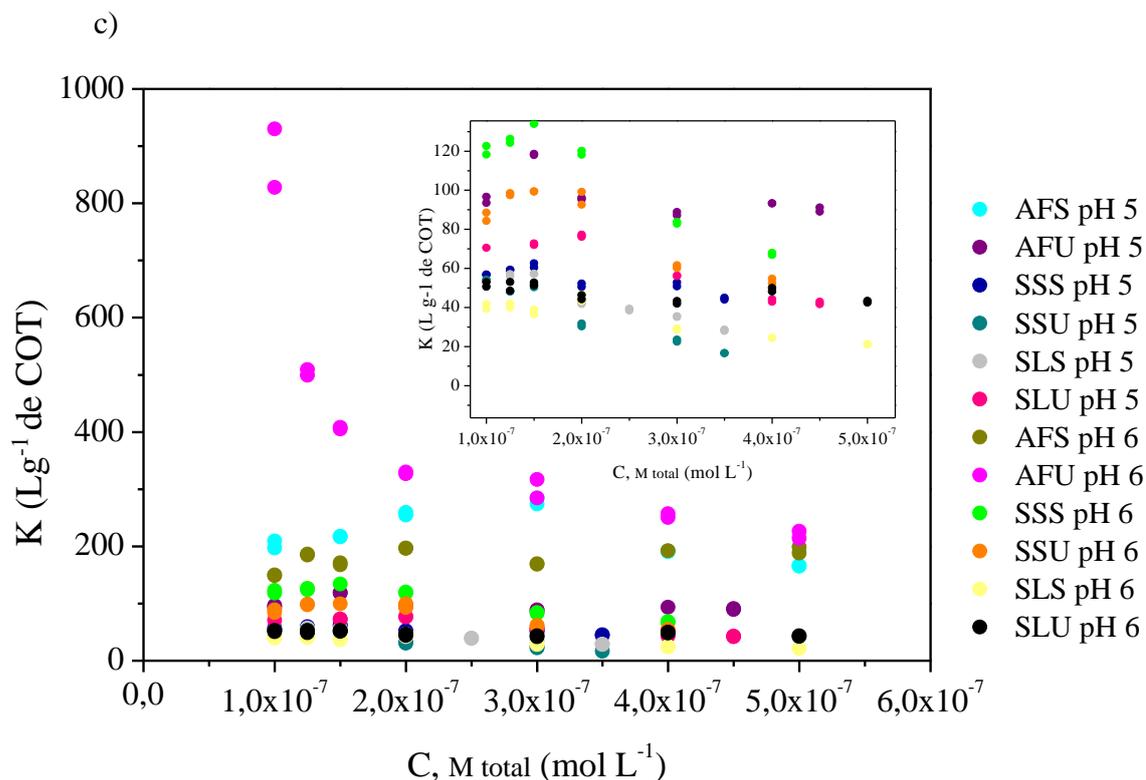
Nesse sentido, pode-se estabelecer a seguinte ordem crescente de complexação em pH 5 e 6: SLS < SLU < SSU < SSS < AFS < AFS < AFU < SHS < SHU < AHS < AHU. Essa ordem está de acordo com os resultados obtidos para CC em pH 5 e 6 e, consequentemente, dependentes das características estruturais das frações, pelas quais se pode estabelecer a formação dos três grupos observados na análise multivariada HCA e PCA, justificando a similaridade da complexação dos ácidos fúlvicos com as soluções de solo e as soluções lixiviadas.

A constante de estabilidade condicional, K' foi determinada via AGNES, obtida a partir da Equação (2) e normalizada dividindo pela concentração do material orgânico para obtenção de K ($L\ g^{-1}$ de COT), possibilitando a comparação para diferentes concentrações de Pb(II). Os valores obtidos em pH 5 e 6 para cada fração estão apresentados nas Figuras 20 a) - c) para todos valores de metal total utilizado na titulação, enquanto que os valores médios para as concentrações 1×10^{-7} , 2×10^{-7} e 3×10^{-7} mol L^{-1} estão apresentados na Tabela 1 do Anexo I.

O perfil das curvas K *versus* concentração do metal total indica a heterogeneidade dos complexos formados com chumbo. Quando a complexação é de forma homogênea, a relação gráfica será uma reta em que a proporção metal complexo/metal total se mantém constante em qualquer proporção. Quando o sistema é heterogêneo essa relação decresce com o aumento da razão metal total/ligante total. Isso ocorre porque inicialmente a concentração do metal é baixa e, por isso, os sítios de complexação mais fortes são ocupados pelo metal e à medida que a concentração do metal aumenta, sítios mais fracos vão sendo ocupados (MONTEIRO, 2017; BEZERRA et al., 2009).

Figura 20 – Curvas K vs $C_{M \text{ total}}$ obtidas via AGNES para as diferentes frações da MOS, comparando as diferenças de complexação do Pb(II) em pH 5 e 6, $E_d = -0,55 \text{ V}$; $t_d = 300 \text{ s}$; $I_{ox} = 2 \mu\text{A}$; $\text{NaNO}_3 0,01 \text{ mol L}^{-1}$. a) Ácidos Húmicos, b) Substâncias húmicas, c) Ácidos fúlvicos, soluções de solo e soluções lixiviadas.





Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

A partir das Figuras 20 a) - c) pode-se inferir que a complexação de Pb(II) com todas as frações é heterogênea, com exceção para o AHS em pH 5 que é ligeiramente homogênea. Os maiores valores de K foram obtidos em pH 6, com exceção para AFS, SLS e SLU. Uma possível justificativa para esse aumento em pH 6 pode ser devido à maior dissociação de grupos funcionais, particularmente grupos carboxílicos e também devido à competição do íon H⁺ e do íon metálico por sítios de interação em pH menor, como destacado por Pandey et al., 2000.

As curvas apresentadas nas Figuras 20 a) - c) foram construídas de acordo com a similaridade estabelecida na análise multivariada, que também é coerente com os valores obtidos para K em pH 5 e 6. Dessa forma, pode-se estabelecer a seguinte ordem crescente para as constantes condicionais: SLS < SSU < SSS < SLU < AFU < AFS < SHS < SHU < AHS < AHU.

O perfil das curvas observadas para as frações em estudo são resultado da utilização da técnica dinâmica, que permite a obtenção de diferentes constantes de estabilidade com a variação da concentração do metal em solução. Em condições de excesso de metal, ou seja, saturação do material orgânica por Pb(II) são observados menores constantes de estabilidade e, consequentemente, uma maior quantidade de metal livre. Em condições ambientais, isso significa que o metal estaria mais disponível para a biota.

5. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi investigado a influência do procedimento de extração nas características das frações da MOS de solos com diferentes características físico-químicas e qual a contribuição de cada fração na complexação por Pb(II). Os resultados experimentais indicaram que os solos apresentam diferentes teores de MO, grau de humificação e outras características que estão relacionadas com a origem do material.

As extrações levaram a obtenção de 10 frações, que apresentaram diferentes valores de COT e características estruturais em relação às análises por UV-vis, fluorescência molecular e volumetria ácido-base. A análise quimiométrica possibilitou a observação da similaridade das frações e a formação de três grupos com base nos parâmetros obtidos na caracterização. O grupo de ácidos húmicos, apresentando maior condensação aromática e tamanho molecular, maior grau de humificação, e maior teor de grupos carboxílicos e fenólicos.

O grupo correspondente às soluções de solo, soluções lixiviadas e ácidos fúlvicos apresentaram menor condensação aromática, menor tamanho molecular, além de menor grau de humificação e teores de grupos carboxílicos e fenólicos. Além disso, não apresentaram similaridade com ácidos húmicos, o que pode ser um indicativo de alterações estruturais do material de origem no processo de extração e, principalmente, purificação dos ácidos húmicos. As substâncias húmicas apresentaram, portanto, características intermediárias.

A CC e as K' para os complexos formados foram determinadas via AGNES e em pH 5 e 6. Os resultados obtidos mostraram que as diferentes frações da MOS possuem afinidade pelo chumbo formando complexos estáveis. Os ácidos húmicos apresentaram maior CC e K' do que as substâncias húmicas e demais frações. Em pH 5 a CC e K' foram menores do que em pH 6, o que pode ser um resultado de alterações conformacionais e disponibilidade dos sítios complexantes com o aumento do pH e menor competição do íon H^+ e do metal pelos sítios de interação.

A partir dos estudos realizados, pode-se inferir que o procedimento de extração influencia nas características do material orgânico extraído e na interação do mesmo com chumbo. Essa comparação é importante do ponto de vista ambiental, pois possibilita a obtenção de parâmetros mais realísticos no que se refere à fração mais reativa da MOS e sua influência na biodisponibilidade de chumbo para o ambiente, para avaliações de risco e modelagem molecular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, D.; PARAT, C.; GALCERAN, J.; COMPANYS, E.; PUY, J.; AUTHIER, L.; POTIN-GAUTIER, M. Determination of free metal ion concentrations with AGNES in low ionic strength media. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 689, 276–283, 2013.

ALMEIDA, M. R. A. *Influência do uso do lodo de esgoto na distribuição das substâncias húmicas do solo*. 2007. 161p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007.

ALVAREZ-PUEVLA, R.A.; VALENZUELA-CALAHORRO, C.; GARRIDO, J. J. Theoretical study on fulvic acid structure, conformation and aggregation. A molecular modelling approach. **Science of the Total Environment**, v358, 243-254, 2006.

ANTOSIEWICZ, J. M.; SHUGAR, D. UV-vis spectroscopy of tyrosine side-groups in studies of protein structure. Part 2: selected applications. *Biophys Rev.*, v.8, 163-177, 2016.

AZEVEDO, J. C. R., NOZAKI, J. Análise de fluorescência de substâncias húmicas extraídas da água, solo e sedimento da Lagoa dos Patos – MS. **Quim. Nova**, v. 31, 132401329, 2008.

BAIDOO, E.; EPHRAIM, J. H.; DARKO, G.; AKOTO, O. Potentiometric studies of the acid-base properties of tropical humic acids. *Geoderma*, v. 217-218, 18-25, 2014.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. 25 anos de quimiometria no Brasil. **Quím. Nova**, v.29, n.6, 1401-1406, 2006.

BOTERO, W. B.; SOUZA, S. O.; SANTOS, O. S.; OLIVEIRA, L. C.; AMARANTES, C. B. Influência das substâncias húmicas de sedimentos na biodisponibilidade de metais para o sistema aquático. **Quim. Nova**, v.37. n.6, 943-049, 2014.

BEZERRA, P. S. S.; TAKIYAMA, L. R.; BEZERRA, C. W. B. Complexação de íons de metais por matéria orgânica dissolvida: modelagem e aplicação em sistemas reais. **Acta Amazonica**, v 39, 639-648, 2009.

BUFFLE, J. *Les substances humiques et leurs interactions avec les ions minéraux*. In: Conference Proceedings de la Commission d'Hydrologie Applique de l'A. G. H. T. M. L'Universite d'Orsay, 1970.

BUFFLE, J. STAUB, C. Measurement of complexation properties of metal-ions in natural conditions by ultrafiltration-measurement of equilibrium-constants for complexation of zinc by synthetic and natural ligands. **Anal. Chem.**, v. 56, n. 14, 2837-2842, 1984.

CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.A. **Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas**. Campos dos Goytacazes: CCTA/UENF, 2005. 345 p.

CARRIZO, E.; ALESSO, C. A.; COSENTINO, D.; IMHOFF, S. Aggregation agents and structural stability in soils with different texture and organic carbon contents. **Sci. Agric.** v.72, n.1, 75-82, 2015.

CAMARGO, O. A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. A. S. *Métodos de análise química, Mineralógica e Física de Solos do Instituto Agronômico de Campinas*. 77p. (Boletim técnico, 106). Campinas, Instituto Agronômico, 2009.

CHIN, YU-PING, ALKEN, G. O'LOUGHIN, E. Molecular Weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. **Environ. Sci. Technol**, v. 28, 1853-1858, 1984.

CHITO, D.; WENG, L.; GALCERAN, J.; COMPANYYS, E.; PUY, J., RIEMSDIJK, W. H. V.; LEEUWEN, H. P. V. Determination of free Zn²⁺ concentration in synthetic and natural samples with AGNES (Absence of Gradients and Nernstian Equilibrium Stripping) and DMT (Donnan Membrane Technique). **Science of the Total Environment**, v. 421-422, 238-244, 2012.

CRUZ, J. N.; CLAIN, A. F. A interferência do pH na análise de cloreto pelo método de Mohr. **Rev. Eletrônica TECCEN**, v. 3, n.3, 29-44, 2010.

COTRUFO, M. F.; WALLENSTEIN, M. D.; BOOT, C.M.; DENEFF, K.; PAUL, E. The microbial efficiency-matrix stabilization (MEMS) framework integrates plant litter decomposition with soil organic matter stabilization: do labile plant inputs form stable soil organic matter? **Global Change Biology**, v.19, 988-995, 2013.

COOK, S., PEACOCK, M. EVAN, C. D., PAGE, S. E. WHELAN, M. J. GAUCI, V. KHO, L. K. Quantifying tropical peatland dissolved organic carbon (DOC) using UV-visible spectroscopy. **Water Research**, v. 115, 229-235, 2017.

COOKE, J.; TAYLOR, J. H.; TIPPING, E. On the acid-base properties of humic acid in soil. **Environ. Sci. Technol**, v.41, 465-470, 2007.

CORDOVIL, M. C. O.; MENDONÇA, A. G. R.; BOTERO, W. G.; SANTOS, A.; ROCHA, J. R.; MELLO, K.; TOPPA, R. H.; OLIVEIRA, L. C. Análise espacial e quimiométrica da distribuição de espécies metálicas em solos Alagáveis e não alagáveis da bacia do médio rio negro, Amazônia. *Quim. Nova*, vol. 37, n. 5, 770-775, 2014

CONAMA, Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009 Publicado no DOU nº 249, **2009**, 81.

CUNHA, T. J. F.; BASSAIO, L. H.; SIMÕES, M. L.; MARTIN NETO, L.; PETRERE, V. G.; RIBEIRO, P. R. A. Ácidos húmicos em solo fertirrigado no vale do são Francisco. *R. Bras. Ci. Solo*, v. 33:1583-1592, 2009.

DEMATTE, J. A. M.; LOPEZ, L. R.; MARQUES, K. P. P.; RODELLA, A. A. Chemometric soil analysis on the determination of specific bands for the detection of magnesium and potassium by spectroscopy. *Geoderma*, v. 288, 8–22, 2017.

DICK, D. P.; GOMES, J.; ROSINHA, P.B. Caracterização de substâncias húmicas extraídas de solos e de lodo orgânico. *R. Bras. Ci. Solo*, v. 22, 603-611, 1998.

DOBBS, L. B.; BUMJANECK, V. M.; BALDOTTO, M. A.; VELLOSO, A. C. X.; CANELLAS, L. P. Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e fúlvicos isolados da camada superficial de latossolos brasileiros. *R. Bras. Ci. Solo*, v. 33, 51-63, 2009.

DOMINGOS, R. F.; GÉLABERT, A.; CARREIRA, S. CORDEIRO, A.; SIVRY, Y.; BENEDETTI, M. F. Metals in the Aquatic Environment—Interactions and Implications for the Speciation and Bioavailability: A Critical Overview. *Aquat Geochem*, 2014.

DOMINGOS, R. F.; HUIDOBRO, C.; COMPANYS, E.; GALCERAN, J.; PUY, J.; PINHEIRO, J. P. Comparison of AGNES (absence of gradients and Nernstian equilibrium stripping) and SSCP (scanned stripping chronopotentiometry) for trace metal speciation analysis. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 617, 141–148, 2008.

DOMINGOS, R. F.; BENEDETTI, M. F.; CROUÉ, J. P.; PINHEIRO, J. P. Electrochemical methodology to study labile trace metal/natural organic matter complexation at low concentration levels in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, n. 521, 77–86, 2004.

EBELING, A. G., DOS ANJOS, L. H. PEREZ, D. V., PEREIRA, M. G. VALLADARES, G. S. Relação entre a acidez e outros atributos químicos em solos com teores elevados de matéria orgânica. *Bragantia*, v.67, n.2, 429-439, 2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - **EMBRAPA**. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Manual de métodos de análise de solo/Centro Nacional de Pesquisa de Solos. – 2.ed. rev. atual. – Rio de Janeiro, 1997.

FLEURY, G. *Identification des molécules des acides fulviques impliquées dans la sorption des métaux lourds dans les sols*. 2016. 224p. Thèse (Doutorat) – École Doctorale de Physique et Chimie-Physique, 2016.

FUENTES, M.; GONZÁLEZ-GAITANO, G.; GARCÍA-MINA, J. M. The usefulness of UV-visible and fluorescence spectroscopies to study the chemical nature of humic substances from soils and composts. **Organic Geochemistry**, v. 37, 1949-1959, 2006.

GALCERAN, J.; COMPANYS, E.; PUY, J.; CECILIA, J.; GARCÉS, J. L. AGNES: a new electroanalytical technique for measuring free metal ion concentration. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 566, 95-109, 2004.

GALCERAN, J.; LAO, M.; DAVID, C.; COMPANYS, E.; REY-CASTRO, C. SALVADOR, J.; PUY, J. The impact of electrodic adsorption on Zn, Cd and Pb speciation measurements with AGNES. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 722-723, 110–118, 2014.

GUIGUE, J.; MATHIEU, O.; LÉVÊQUE, MOUNIER, S.; LAFFONT, R.; MARON, P. A.; NAVARRO, N.; CHATEAU, C.; SUCHET, P. A.; LUCAS, Y. A comparison of extraction procedures for water-extractable organic matter in soils. **European Journal of Soil Science**, vol. 65, 520–530, 2014.

GOULAS, A.; BOURDAT-DESCHAMPS, M.; NÉLIEU, S.; JIMENEZ, J.; PATUREAU, D.; HAUDIN, C.S.; BENOIT, P. Development of a soft extraction method for sulfamethoxazole and transformation products from agricultural soils: Effects of organic matter co-extraction on the environmental availability assessment. **Science of the Total Environment**, vol. 607–608, 1037–1048, 2017.

HILLEL, D. **Introduction to environmental soil physics**. 1st Ed. Imprint: Academic Press, 2003, 494p.

IHSS. 2017. Disponível em << <http://humic-substances.org/isolation-of-ihss-soil-fulvic-and-humic-acids/>>> acesso em Agosto de 2017.

JORGE, J. A.; LEPSCH, I. F. Matéria orgânica das alíquotas das frações de argila e silte e sua influência na análise granulométrica pelo método da pipeta. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.17, 1777-1781, 1982.

KWEON, G.; LUND, E.; MAXTON, C. Soil organic matter and cation-exchange capacity sensing with on-the-go electrical conductivity and optical sensors. **Geoderma**, v.199, 80–89, 2013.

KUSHWAHA, A.; HANS, N.; KUMAR, S.; RANI, R. A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, 1035–1045, 2018.

LAL, R. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. **Science**, v. 304, p. 1623–1627. 2004.

LEHMANN, J.; KLEBER, M. The contentious nature of soil organic matter. **Nature**, v. 528, 60-65, 2015.

LEITA, L.; MARGON, A.; PASTRELLO, A. ARCON, I.; CONTIN, M.; MOSETI, D. Soil humic acids may favour the persistence of hexavalent chromium in soil. **Environmental Pollution**, v. 157, 1862–1866, 2009.

LEPSCH, I. F.; SILVA, N. M.; ESPIRONELO, A. Relação entre matéria orgânica e textura de solos sob cultivo de algodão e cana-de-açúcar no estado de São Paulo. **Bragantia**, v.41, 231-236, 1981.

LIMA, A. M.; SANTOS, F. F. Análise das propriedades físico-químicas e metais potencialmente tóxicos na água do Rio Claro, próximo à cidade de Jataí – GO. **Rev. de Ciências Exatas e Naturais**, v. 14, n.º 2, p. 239-255, 2012.

LIU, L., SONG, C., YAN, Z., LI, F. Characterizing the release of different composition of dissolved organic matter in soil under acid rain leaching using three-dimensional excitation-emission matrix spectroscopy. **Chemosphere**, v. 77, 15-21, 2009.

LÓPEZ, R. L. GONDAR, D. ANTELO, J. FIOL, S.; ARCE, F. Study of the acid-base properties of a peat soil and its humin and humic acid fractions. **European Journal of Soil Science**, v. 63, 487–494, 2012.

LÓPEZ, R.; GONDAR, D.; ANTELO, J.; FIOL, S.; ARCE, F. Proton binding on untreated peat and acid-washed peat. **Geoderma**, v.164, 249-253, 2011.

MANAHAN, S. E. **Introduction to chemistry: fundamentals of environmental chemistry**. Boca raton: CRC, 2001. 993 p.

LUONG, D.; SEPHTON, M. A.; WATSON, J. S.; Subcritical water extraction of organic matter from sedimentary rocks. **Analytica Chimica Acta**, v. 879, 48–57, 2015.

MATOS, R. P.; LIMA, V. M. P.; WINDMÖLLER, C. C.; NASCENTES, C. C. Correlation between the natural levels of selenium and soil physicochemical characteristics from the Jequitinhonha Valley (MG), Brazil. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 172, 195–202, 2017.

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

MOITA, N J. M.; MOITA G. C. Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados. **Quim. Nova**, v.21, 467-469, 1998.

MONTEIRO, A, S. C.; PARAT, C.; ROSA, A.H.; PINHEIRO. Towards field trace metal speciation using electroanalytical techniques and tangential ultrafiltration. **Talanta**, v. 152, 112–118, 2016.

MOTA, A. M.; PINHEIRO, J. P.; GONÇALVES, M. L. S. Electrochemical Methods for Speciation of Trace Elements in Marine Waters. Dynamic Aspects. **J. Phys. Chem. A**, v. 116, 6433-6442, 2012.

MONTERROSO, S. C. C.; CARAPUÇA, H. M.; SIMÃO, J. E. J.; DUARTE, A. C. Optimisation of mercury film deposition on glassy carbon electrodes: evaluation of the combined effects of pH, thiocyanate ion and deposition potential. **Analytica Chimica Acta**, v. 503, 203–212, 2004.

MONTEIRO, A. S. C. *Especiação de chumbo e cádmio: desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para a avaliação da influência da matéria orgânica natural e substâncias húmicas*. 2017. 121 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara – SP, 2017.

NIENHAUS, K. & NIENHAUS, G.U. Probing Heme Protein–Ligand Interactions by UV/Visible Absorption Spectroscopy. In: NINHEAUS, G.U. (Ed). Protein–Ligand Interactions: Methods and Applications, v. 305, Totowa: Humana press, 2005.

OLIVEIRA, L. C.; BOTERO, W. B.; SANTOS, A. OLIVEIRA, M. C.; ROCHA, J. C. SILVA, H. C. Influência das características físico-químicas dos solos no ciclo hidrobiogeoquímico do mercúrio na região do rio Aracá – AM. **Quim Nova**, v 34, n 8, 1302 – 1308, 2011.

OLIVEIRA, H. S.; LOURENÇO, S. R. OLIVEIRA, A. F. Caracterização das substâncias húmicas aquáticas com uso de espectroscopia de UV-Vis. **Revista Tecnológica**, v.17, 29-38, 2008.

OLIVEIRA, F. P.; BUARQUE, D. C.; VEIRO, A. C.; MERTEN, G. H.; CASSOL, E. A. MINELLA, J. P. G. Fatores relacionados à suscetibilidade da erosão em entressulcos sob condições de uso e manejo do solo. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v.16, n.4, 337–346, 2012.

PANACHUKI, E.; ALVES SOBRINHO, T.; VITORINO, A. C. T.; CARVALHO, D. F.; URCHEI, M. A. Parâmetros físicos do solo e erosão hídrica sob chuva simulada, em área de integração agricultura-pecuária. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v.10, n.2, 261–268, 2006.

PINHEIRO, J. P.; VAN LEEUWEN, H. P. Scanned stripping chronopotentiometry of metal complexes: lability diagnosis and stability computation. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 570, 69–75, 2004.

PARAT, C.; AUTHIER, L.; AGUILAR, D.; COMPANYS, E.; PUY, J.; GALCERAN, J.; POTIN-GOUTIER, M. Direct determination of free 1 metal concentration by implementing stripping chronopotentiometry as second stage of AGNES. **Published in Analyst**, v. 136, 4337-4343, 2011.

PANDEY, A. K.; PANDEY, S. D.; MISRA, V. Stability constants of metal humic acid complexes and its role in environmental detoxification. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.47, 195-200, 2000.

PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances. **Soil Science**, v.166, 810-832, 2001.

PINHEIRO, J. P.; MONTEIRO, A. S. C.; JANOT, N.; GROENENBERG, B. J.; ROSA, A. H. Especificação termodinâmica de metais traço com substâncias húmicas: o modelo NICA-Donnan. **Quim. Nova**, v.40, 1191-1203, 2017.

PONTHIEU, M.; POURRET, O.; MARIN, B.; SCHEIDER, A. R.; MORVAN, X.; CONREUX, A.; CANCÈS, B. Evaluation of the impact of organic matter composition on metal speciation in calcareous soil solution: Comparison of Model VI and NICA-Donnan. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 165, 1–7, 2016.

PRIMO, D. C., MENEZES, R.S.C., SILVA, T. O. Substâncias húmicas da matéria orgânica de solo: uma revisão de técnicas analíticas e estudos no nordeste brasileiro. **Scientia Plena**, v. 7, 1-13, 2011.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. **Substâncias húmicas aquáticas: interações com espécies metálicas**. São Paulo: Editora UNESP, 2003, 120p.

ROSA, A. H. *Desenvolvimento de metodologia para extração de substâncias húmicas de turfas utilizando-se hidróxido de potássio*. SP. 1998. 125p. Dissertação – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

RITCHIE, J. D.; PERDUE, E. M. Proton-bidding study of standard and reference fulvic acids humic acids, and natural organic matter. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v.67, 85-96, 2003.

ROCHA, L. S. Thin mercury film electrodes in dynamics Speciation studies of metals. 2009. 129p. Dissertação – Departamento de Química, Universidade de Aveiro. Aveiro – PT, 2009.

ROCHA, L. S.; PINHEIRO, J. P.; CARAPUÇA, H. M. Evaluation of nanometer thick mercury film electrodes for stripping chronopotentiometry. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 610, 37–45, 2007.

ROCHA, L. S.; COMPANYS, E.; GALCERAN, J.; CARAPUÇA, H. M.; PINHEIRO, J. P. Evaluation of thin mercury film rotating disk electrode to perform absence of gradients and Nernstian equilibrium stripping (AGNES) measurements. **Talanta**, v. 80, 1881–1887, 2010.

ROTUREAU, Elise. Analysis of metal speciation dynamics in clay minerals dispersion by stripping chronopotentiometry techniques. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, v. 441, 291– 297, 2014.

ROCHA, L. S.; BOTERO, W. G.; ALVES, N. G.; MOREIRA, J. A.; COSTA, A. M. R.; PINHEIRO, J. P. Ligand size polydispersity effect on SSCP signal Interpretation. **Electrochimica Acta**, v. 166, 395–402, 2015.

ROQUIM, C. C. Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 26p. 2010.

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, 1097-1100, 2003.

RHEINHEIMER, D. dos. S.; Campos, C.; GIACOMINI, S. J.; CONCEIÇÃO, P. C.; BORTOLUZZI, E. C. Comparação de métodos de determinação de carbono orgânico total do solo. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 32, p. 435-440, 2000.

REN, Z. L.; TELLA, M.; BRAVIN, M. N.; COMANS, R. N. J.; DAI, J.; GARNIER, J. M. SIVRRY, Y.; DOELSCH, E.; STRAATHOF, A.; BENEDETTI, M. F. Effect of dissolved organic matter composition on metal speciation in soil solutions. **Chemical geology**, v.398, 61-69, 2015.

ROSA, A. H.; OLIVEIRA, L. C.; BELLIN, I. C. ROCHA, J. C.; ROMÃO, L. P.; DIAS FILHO, N. L. Influence of alkaline extraction on the characteristics of humic substances in Brazilian soils. **Thermochimica Acta**, v. 433, 77-82, 2005.

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, 472-476, 2000.

SANCHES, S. M.; CAMPOS, S. X.; VIEIRA, E. M. Caracterização das frações das substâncias húmicas de diferentes tamanhos moleculares. **Eclética Química**, v. 32, n.1, 49-56, 2007.

SÁNCHEZ-GONZÁLES, A.; CHAPELA-LARA, M.; GERMÁN-VENEGAS, E.; FUENTES-GARCÍA, R.; RÍO-PORTILLA, F. D.; SIEBE, C. Changes in quality and quantity of soil organic matter stocks resulting from wastewater irrigation in formerly forested land. **Geoderma**, v. 306, 99-107, 2017.

SCHAUMANN, G.E. THIELE-BRUHN, S. Molecular modeling of soil organic matter: squaring the circle? **Geoderma**, v. 166, 1-14, 2011.

- SCHAEFER, C. E. R., SILVA, D. D., PAIVA, K. W. N., PRUSKI, F. F., FILHO, M. R., ALBUQUERQUE, M. Perdas de solo, nutrientes, matéria orgânica e efeitos microestruturais em argissolo vermelho-amarelo sob chuva simulada. **Pesq. Agropec. Bras**, v. 37, 669-678, 2002.
- SENA, M. M.; POPPI, R. J.; FRIGHETTO, R. T. S.; VALARINI, P. J. Avaliação do uso de métodos quimiométricos em análise de solos. **Quim. Nova**, v. 23, 547-556, 2000.
- SANTOIEMMA, G. Recent methodologies for studying the soil organic matter. **Applied Soil Ecology**, v 117-118, 2017.
- SANTOS, J. Y. G., SANTOS, C. A. G., SILVA, R. M. Perdas de água e solo utilizando chuva simulada em diferentes coberturas superficiais e condições de umidade no semiárido paraibano. **RBRH**, v. 17, 217-228, 2012.
- SANTOS, L. L.; LACERDA, J. J. J.; ZINN, Y. L. partição de substâncias húmicas em solos brasileiros. **R. Bras. Ci. Solo**, v.37, 968, 2013.
- SANTOS, C. H.; ROMANO, R. A.; NICOLODELLI, G. CARVALHO, C. M.; VILLASBOAS, P. R.; MARTON-NETO, L.; MONTES, C. R.; MELF, A. J.; MILORI, D. M. B. P. Performance evaluation of a portable laser-induced fluorescence spectroscopy system for the assessment of the humification degree of the soil organic matter. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 26, n. 4, 775-783, 2015.
- SKOOG, D. A. *et al.* **Fundamento de Química Analítica**, editora Thomson, tradução da 8ª edição, 2006.
- SLOBODA, E. VIEIRA, M. DANTAS, A. DI B. DI BERNARDO, L. Influência das características das substâncias húmicas aquáticas na eficiência da coagulação com o cloreto férrico. **Quim. Nova**, v. 32, 976-982, 2009.
- SOLLINS, P.; HOMANN, P.; CALDWELL, B. A. Stabilization and destabilization of soil organic matter: mechanisms and controls. **Geoderma**, v.74, 65-105, 1996.
- SOUÇÉMARIANADIN, L. N.; ERHANGER, B.; NILSSON, M.B. ÖQUIST, M. G. IMMERZEEL, P. SCHALEUCHER, J. Two dimensional NMR spectroscopy for molecular characterization of soil organic matter: application to boreal soils and litter. **Organic Geochemistry**, v.113, 184-195, 2017.

STEVENSON, F. J. **Humus Chemistry: genesis, composition, reaction**. 2.ed. New York: Wiley Interscience, 1994. p. 443.

STEVENSON, F. J. Extraction, fractionation, and general chemical composition of soil organic matter. **Humus chemistry**. New York: Wiley & Sons, 26-53, 1982.

TADINI, A. M.; MOREIRA, A. B.; BISINOTI, M. C. Fractionation of aquatic humic substances and dynamic of chromium species in na aquatic body influenced by sugarcane cultivation. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 25, n. 1, 119-125, 2014.

TAMBACH, T. J.; VELD, H.; GRIFFIOEN, J. Influence of HCl/HF treatment on organic matter in aquifer sediments a Rock-Eval pyrolysis study. **Applied Geochemistry**, v. 24, 2144–2151, 2009.

TOWN, R. M.; KIPTON, H.; POWELL, J. Elimination of adsorption effects in gel permeation chromatography of humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 256, 81-86, 1992.

TOWN, R. M.; VAN LEEUWEN, H. P. Fundamental features of metal ion determination by stripping chronopotentiometry. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 509, 58–65, 2001.

TFAILY, M. M.; CHU, R. K. TOYODA, J. TOLI, N.; ROBINSON, E. W. PASA-TOLIC, L.; HESS, N. J. Sequential extraction protocol for organic matter from soils and sediments using high resolution mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 972, 54-61, 2017.

TOMAZONI, J. C.; GUIMARÃES, E. Características espectrais das frações humina e ácido húmico da matéria orgânica total dos solos da bacia do Rio Passo da Pedra. **RBGF**, v. 08, 721-735, 2015.

TONELLI, D., SEEBER, R., CIAVATTA, C. Gessa, C. Extraction of humic acids from a natural matrix by alkaline pyrophosphate. Evaluation of the molecular weight of fractions obtained by ultrafiltration. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 359:7, 555-560, 1997.

VAN LEEUWEN, H. P.; TOWN, R. M. Stripping chronopotentiometry at scanned deposition potential (SSCP). Part 1. Fundamental features. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 536, 129-140, 2002.

ZSOLNAY, A.; BAIGAR, E.; JIMENEZ, M.; STEINWEG, B.; SACCOMANDI, F. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. **Chemosphere**, v. 38, 45-50, 1999.

ZUBER, S. M.; BEHNKE, G. D.; NAFZIGER, E. D.; VILLAMIL, M. B. Multivariate assessment of soil quality indicators for crop rotation and tillage in Illinois. **Soil & Tillage Research**, v. 174, 147–155, 2017.

ANEXO I

Tabela 1 – Valores médios obtidos para as constantes de complexação das frações da MOS com chumbo, determinadas via AGNES $E_d = -0,55$ V; $t_d = 300$ s; $I_{ox} = 2 \mu\text{A}$; NaNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5 e 6.

	SHS		SHU		AHS		AHU		AFS	
Metal total (mol L^{-1})	K (L g^{-1} COT)		K (L g^{-1} COT)							
	pH 5	pH 6	pH 5	pH 6						
1×10^{-7}	464	$1,32 \times 10^3$	759	$1,86 \times 10^3$	-	$5,81 \times 10^3$	-	--	199	149
2×10^{-7}	506	894	702	$1,76 \times 10^3$	993	$3,96 \times 10^3$	$12,5 \times 10^3$	$23,0 \times 10^3$	256	196
3×10^{-7}	335	638	304	$1,40 \times 10^3$	$1,35 \times 10^3$	$3,01 \times 10^3$	$9,72 \times 10^3$	$18,2 \times 10^3$	278	168
	AFU		SSS		SSU		SLS		SLU	
Metal total (mol L^{-1})	K (L g^{-1} COT)		K (L g^{-1} COT)							
	pH 5	pH 6	pH 5	pH 6						
1×10^{-7}	95,1	879	56,8	120	54,0	86,4	43,0	40,4	70,6	51,9
2×10^{-7}	95,7	328	51,3	120	31,1	95,9	41,9	44,9	75,6	45,3
3×10^{-7}	88,0	300	51,7	83,3	22,9	60,8	35,3	28,9	56,2	42,6

Fonte: Elaborado pela autora, 2018.