

**PROPRIEDADES REDOX E GRUPOS FUNCIONAIS
DE ÁCIDOS HÚMICOS**

MARIHUS ALTOÉ BALDOTTO

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES/RJ
AGOSTO - 2006**

**PROPRIEDADES REDOX E GRUPOS FUNCIONAIS
DE ÁCIDOS HÚMICOS**

MARIHUS ALTOÉ BALDOTTO

Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para a obtenção
do título de Doutor em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Ary Carlos Xavier Velloso

CAMPOS DO GOYTACAZES/RJ

AGOSTO - 2006

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCTA / UENF 059/2006

Baldotto, Marihus Altoé

Propriedades redox e grupos funcionais de ácidos húmicos /
Marihus Altoé Baldotto. – 2006.
100 f. : il.

Orientador: Ary Carlos Xavier Velloso

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do
Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias
Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2006.

Bibliografia: f. 93 – 100.

1. Química do solo 2. Substância húmica 3. Potencial redox 4.
Capacidade de oxidação 5. Humificação I. Universidade Estadual
do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 631.417

**PROPRIEDADES REDOX E GRUPOS FUNCIONAIS
DE ÁCIDOS HÚMICOS**

MARIHUS ALTOÉ BALDOTTO

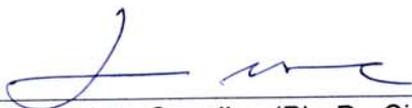
Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para a obtenção
do título de Doutor em Produção Vegetal.

Aprovada em 28 de Agosto de 2006

Comissão Examinadora:



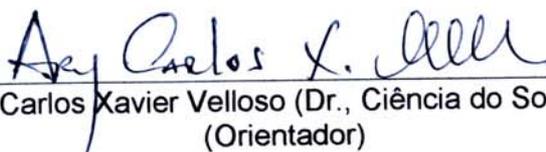
Prof. Maurício Paulo Ferreira Fontes (Ph. D., Ciência do Solo) – UFV



Prof. Luciano Pasqualoto Canellas (Ph. D., Ciência do Solo) – UENF
(Co-Orientador)



Profª. Maria Cristina Canela (Drª. Em Ciências) – UENF
(Co-Orientadora)



Prof. Ary Carlos Xavier Velloso (Dr., Ciência do Solo) – UENF
(Orientador)

Ao povo brasileiro, que por meio do ensino público me concedeu esta oportunidade, dedico.

AGRADECIMENTO

À Lílian, minha esposa, aos meus pais e ao meu irmão pelo amor incondicional.

Em especial, gostaria de eternizar meus agradecimentos aos meus orientadores, por toda a sua dedicação e pelas responsabilidades a mim concedidas. Ao Prof. Ary Carlos Xavier Velloso, que preocupou-se insistentemente com a minha formação científica e também para que eu me compreendesse melhor. À Prof^a Maria Cristina Canela, pelo carinhoso acesso aos conceitos e as técnicas em Química Analítica e Ambiental, por me integrar ao Laboratório de Ciências Químicas da UENF, possibilitando-me interagir com os seus professores, funcionários e estudantes. Destaco a participação do Prof. Luciano Pasqualoto Canellas em minha formação. Contagiei-me com a sua sincronia em planejamento e ação.

À UENF, aos professores, servidores e alunos, pelo cotidiano, extraordinário em minha carreira.

À Capes e à Faperj por me concederem as bolsas de doutorado.

Aos Pesquisadores, Dr. Ladislau Martin-Neto e Dr. Marcelo Luiz Simões, do Centro Nacional de Pesquisas em Instrumentação Agropecuária (CNPDIA) da Embrapa, pelas análises de ressonância paramagnética eletrônica.

À Química Bruna L. Dias, pela voltametria cíclica das amostras e aos Químicos Carlos Roberto R. Matos e Silvio César Godinho, pela a metilação dos ácidos húmicos e a montagem dos equipamentos para as titulações, respectivamente.

Ao Jader Galba Busato, representando os amigos, pela confiança, paciência e amparo.

Ao Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Prof. Antônio Amaral Jr., pela agilidade e atenção frente aos obstáculos formais que surgiram em meu caminho, ajudando-me a contorná-los.

Aos Profs. Gabriel de Araújo Santos, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e Nelson Garcés (Facultad de la UNAH, Cuba), pela incentivadora participação durante todo o meu doutorado e pelo Exame de Qualificação.

Ao Prof. Adolfo Horn Jr. (LCQuí/CCT) e ao Dr. Jair Felipe Ramalho (UFRRJ), pelas colaborações no projeto de tese.

Aos Profs. José Augusto Teixeira do Amaral (UFES) e Víctor Hugo Alvarez Venegas (UFV), pelas orientações na iniciação científica e no mestrado, respectivamente.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Reações redox	4
2.1.1. Conceito de pe	9
2.1.2. Relação entre E_H e pe	11
2.1.3. Diagramas pe-pH	13
2.2. Estabilização das substâncias húmicas	18
2.3. Propriedades redox das substâncias húmicas	23
3. MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1. Amostras de ácidos húmicos	29
3.1.1. Solos da paisagem do Estado do Rio de Janeiro	29

3.1.2. Resíduos orgânicos	31
3.1.3. Solos sob cultivo contínuo com cana-de-açúcar	32
3.2. Isolamento e purificação dos ácidos húmicos	33
3.3. Titulações redox	33
3.4. Grupos funcionais	38
3.4.1. Grupos carboxílicos fenólicos	38
3.4.3. Grupos quinonas	39
3.4.4. Grupos semiquinonas	39
3.4.5. Derivados metilados e acetilados.....	40
3.4.6. Resíduos de ferro	40
3.4.7. Voltametria cíclica	40
3.5. Análises estatísticas	40
4. RESULTADOS	42
4.1. Titulações redox	42
4.2. Grupos funcionais	57
4.2.1. Derivados metilados e acetilados	67
4.2.2. Resíduos de ferro	71
4.2.3. Voltamogramas cíclicos	72
5. DISCUSSÃO	77
5.1. Potencial do eletrodo	77
5.2. Capacidade de oxidação e grupos funcionais	80
5.2.1. Química e gênese	84
RESUMO E CONCLUSÕES	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
APÊNDICE	101

RESUMO

BALDOTTO, Marihus Altoé; DS.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Agosto de 2006; PROPRIEDADES REDOX E GRUPOS FUNCIONAIS DE ÁCIDOS HÚMICOS; Orientador: Prof. Ary Carlos Xavier Velloso; Co-Orientadores: Profs. Luciano Pasqualoto Canellas e Maria Cristina Canela.

Dependendo das condições do sistema, os ácidos húmicos (AH) podem atuar como oxidantes ou redutores. Nos sistemas naturais o fluxo de elétrons está diretamente associado à quantidade e à qualidade do húmus. O potencial do eletrodo (E_H) e a capacidade de oxidação (COx) informam sobre os fatores intensidade e capacidade dos sistemas redox, respectivamente. Estudos prévios têm levantado a hipótese de que radicais livres presentes nos AH participam em tais reações redox. Entretanto, poucos dados estão disponíveis. No presente estudo, 20 amostras de AH foram tituladas com um oxidante (I_2) em atmosfera inerte e condições especificadas. Os AH apresentaram potenciais formais padrão do eletrodo ($^F E_H^0$) entre 0,773 e 0,794 V a 25 °C. A COx dos AH variou de 3,88 a 4,39 mol_c kg⁻¹ a pH 5,0 e de 5,35 até 7,89 mol_c kg⁻¹ a pH 7,0. A COx dos AH apresentou correlação positiva e significativa com as concentrações dos grupos funcionais fenólicos, quinonas e semiquinonas em suas estruturas.

ABSTRACT

BALDOTTO, Marihus Altoé; DS.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; August, 2006; REDOX PROPERTIES AND FUNCTIONAL GROUPS OF HUMIC ACIDS; Adviser: Prof. Ary Carlos Xavier Velloso; Co-Advisers: Profs. Luciano Pasqualoto Canellas e Maria Cristina Canela.

The humic acids (HA) act as an oxidant or reductant, depending on the system conditions. In natural systems the electron flow is directly associated with humus content and quality. Descriptive quantities, such as electrode potential (E_H) and oxidation capacity (OxC) inform about the redox activity of HA. Previous investigators have hypothesized that specific functionalities in HA, such as semiquinone free radicals, participate in redox reactions. However, few direct data exist on the subject. In the present study 20 HA samples were titrated with an oxidant (I_2) in an inert atmosphere and specific conditions. HA presented standard formal electrode potential ($^F E_H^0$), with values between 0.773 and 0.794 V, at 25 °C. The OxC of HA varied from 3.88 to 4.39 mol_c kg⁻¹ at pH 5.0 and from 5.35 to 7.89 mol_c kg⁻¹ at pH 7.0. The OxC presented positive and significant correlations with the phenolic, quinone and semiquinone functional groups concentration of HA.

1. INTRODUÇÃO

O aumento dos estoques de C no sistema solo reduz a emissão de CO₂ para a atmosfera e o agravamento do efeito estufa, contribuindo com as estratégias de “desenvolvimento limpo”, de acordo com o Protocolo de Quioto, estabelecido durante a Terceira Conferência das Partes, no Japão, em 1997.

No solo, a estabilidade química do C ocorre com a formação de substâncias húmicas (SH), por meio de um processo, genericamente denominado humificação, que pode ser estudado usando-se a concentração de radicais livres tipo semiquinonas (CRLS) nos ácidos húmicos (AH), determinados por meio da ressonância paramagnética eletrônica (RPE) (Martin-Neto et al., 1994 a, b; Pérez et al., 2004). Tal técnica se baseia no fato de que com o aumento da humificação ocorre a policondensação e a conjugação de estruturas insaturadas nos AH (Piccolo, 2001). Grupamentos fenólicos formados durante o processo de decomposição da matéria orgânica são convertidos em estruturas do tipo quinonas, via reações de oxidação. Essas estruturas são precursoras dos radicais livres do tipo semiquinonas nos AH (Milori et al., 2002; Budziac et al., 2004; Rivero et al., 2004), que se estabilizam com o avanço da humificação.

Os radicais livres tipo semiquinonas dos AH são grupos doadores de elétrons e, por meio de titulações redox iodimétricas, podem ser oxidados pelo

iodo (I_2). Dessa forma, tais titulações permitiriam, analogamente à RPE, estimar o grau de humificação dos AH. No entanto, nem toda a atividade redox dos AH pode ser atribuída à CRLS, sendo necessárias informações adicionais sobre a relação entre os diferentes grupos funcionais e o poder redutor dos AH (Helburn e MacCarthy, 1994; Mathiessen, 1995; Lovley et al., 1998; Scott et al., 1998; Struyk e Sposito, 2001).

Scott et al. (1998) estudaram a atividade redox dos AH e indicaram que os grupos quinonas são os principais responsáveis pela transferência de elétrons entre microrganismos, AH e espécies sólidas de Fe(III) (Lovley et al., 1996, 1998). Segundo o mecanismo indicado pelos autores, os radicais semiquinonas podem originar-se quando grupos quinonas presentes nos AH são reduzidos, permanecendo estáveis no ambiente. Os grupos semiquinonas podem ser reduzidos a radicais hidroquinonas ainda mais estáveis. Alternativamente, grupos fenólicos contidos nos AH também podem sofrer oxidação e formar radicais semiquinonas que, se oxidados, podem resultar em benzoquinonas (Struyk e Sposito, 2001). Adicionalmente, parte da COx dos AH, é proveniente da oxidação do Fe(II) ligado a grupos fenólicos. Na reação, um agente oxidante como o I_2 recebe um elétron a partir do complexo AH-Fe(II), reduzindo-o a um grupo semiquinona (Struyk e Sposito, 2001). Dessa forma, a concentração de radicais livres tipo semiquinonas pode ser mantida pela “intra-oxidação” durante a titulação redox dos AH (Struyk e Sposito, 2001). Outros estudos verificaram a ocorrência da ligação do Fe(III) com moléculas orgânicas (Schwarzenbach et al., 1990; Martin-Neto et al., 1994 b), entre elas poluentes orgânicos tais como os compostos nitroaromáticos e metanos polihalogenados, sendo reduzido a Fe(II). Os autores sugerem que um ciclo similar seja esperado entre a matéria orgânica humificada e espécies de Fe.

A metilação dos AH com diazometano (CH_2N_2) converte a maioria dos grupos ácidos a R-OCH₃, formando humatos de metila. Especificamente, grupos fenólicos e quinonas dos AH podem ser acetilados com anidrido acético em piridina, formando ésteres (Stevenson, 1994; Sachs et al., 2002). A titulação redox desses derivados metilados e acetilados permite verificar a participação dos grupos ácidos e dos resíduos de quinonas nas reações redox envolvendo AH.

Titulações redox de AH permitem estimar o $F_{E_H^0}$ e a COx, fatores intensidade e capacidade para a atividade de elétrons, análogos ao pH e a

capacidade de neutralização para o caso de prótons, respectivamente. O ${}^F E_H^\circ$ pode ser medido utilizando um eletrodo combinado, constituído de um eletrodo sensível em contato com um eletrodo de referência. O eletrodo sensível responde à transferência de elétrons na semi-reação redox da espécie que se deseja medir o potencial e o eletrodo de referência mantém seu potencial constante, gerando uma força eletromotriz (f.e.m.), que é resultante da diferença de potencial eletroquímico entre os dois eletrodos (Stumm e Morgan, 1996). O valor do ${}^F E_H^\circ$ possibilita a determinação das atividades de oxidantes e redutores para um determinado par redox. A COx de uma substância pode ser utilizada para a determinação da quantidade de elétrons transferíveis nas reações redox. A COx é definida como o número de mols de carga por unidade de massa que um composto é capaz de transferir a um forte oxidante ($\text{mol}_c \text{ kg}^{-1}$).

Este estudo teve como objetivos determinar, por meio de titulações redox iodimétricas, a capacidade de AH e de seus derivados químicos acetilados e metilados, transferirem elétrons e relacioná-la com a concentração de grupos funcionais carboxílicos, fenólicos, quinonas e semiquinonas presentes em sua estrutura.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Reações redox

As reações químicas são classificadas como redox ou de oxirredução quando nelas ocorre a transferência de elétrons entre as espécies químicas envolvidas. Denomina-se oxidação a transferência de elétrons de uma espécie química (reduzidor) a outra (oxidante). O doador tem seu número de oxidação (NOx) aumentado e se oxida. Por outro lado, o ganho de elétrons é conhecido como redução. Nesse caso, há diminuição do NOx da espécie química.

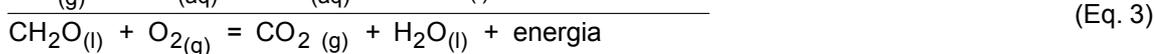
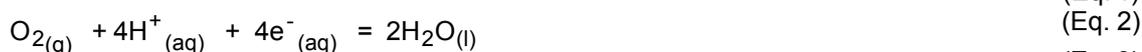
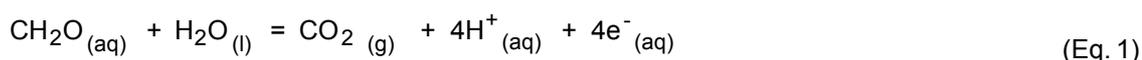
A tendência em uma espécie química de doar elétrons é medida pelo respectivo potencial de oxidação, e a quantidade de elétrons transferidos por unidade de massa de uma determinada substância ($\text{mol}_e \text{ kg}^{-1}$) é denominada capacidade de oxidação (COx). Quanto maior o valor desse potencial e da capacidade de oxidação, maior também será a tendência dessa espécie em ceder elétrons ou seu poder redutor. Analogamente, o potencial de redução mede a tendência de uma espécie em ganhar elétrons, e a capacidade de redução é a quantidade de elétrons recebidos. Quanto mais elevado o potencial de redução de uma espécie química, maior será o seu poder oxidante (receptor de elétrons). Na determinação dos potenciais de oxidação e/ou de redução, convencionou-se

como eletrodo padrão o eletrodo de hidrogênio, atribuindo o valor zero ao potencial nas condições padrões (Eletrodo Padrão de Hidrogênio). Os potenciais dos demais elementos são calculados em relação ao que se convencionou potencial padrão. Como a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) indica que as semi-reações redox sejam escritas como reduções, o potencial redox (E_H) é a propriedade redox associada qualitativamente às equações de redução nestas reações químicas (Stumm e Morgan, 1996).

Os principais elementos químicos afetados pelas reações redox nos solos são: C, N, O, S, Mn e Fe. Nos solos contaminados podem-se acrescentar ainda As, Se, Cr, Hg e Pb. Quando se estudam sistemas naturais, deve-se estar ciente de que as concentrações das espécies reduzíveis ou oxidáveis podem situar-se bem distantes daquelas previstas pela termodinâmica. Isso acontece, porque muitas reações redox são lentas ou nunca atingem o equilíbrio. Assim, por exemplo, nos sistemas aquáticos, e mesmo nos solos, existe uma diferença marcante no ambiente redox entre a superfície em contato com o O_2 da atmosfera e as camadas mais profundas desses sistemas. Entre tais camadas, acontecem numerosas zonas intermediárias resultantes de misturas ou difusões imperfeitas que, somadas às complicações resultantes das variadas atividades biológicas, produzem um sistema redox global que difere das previsões para os efeitos redox dos subsistemas isoladamente. Portanto, um equilíbrio perfeito quase nunca é atingido (Stumm e Morgan, 1996).

A matéria orgânica humificada constitui a principal fonte de elétrons para as reações redox nos solos e os processos de oxidação da matéria orgânica são os principais responsáveis pelo controle do balanço de carbono no solo.

Ao acoplar o inverso da semi-reação de redução da matéria orgânica, representada simplificada por CH_2O , à semi-reação de redução do oxigênio, tem-se:



Nos solos bem drenados a decomposição da matéria orgânica é realizada por uma grande diversidade de microrganismos. Devido à elevada energia

liberada durante a respiração aeróbia desses microrganismos, a decomposição do substrato e a síntese de material celular acontecem rapidamente. A maior parte da matéria orgânica lábil é convertida à CO_2 . O resíduo bastante resistente, formado principalmente de lignina alterada, de espécies como CO_2H e de radicais livres do tipo semiquinonas, precursores da humificação (Stevenson, 1994; Milori et al., 2002).

Em condições anaeróbias, resultantes da depleção do O_2 , após o alagamento do solo, ou mesmo em microsítios anóxicos, como interiores de micropóros saturados por água, os microrganismos aeróbios tornam-se quiescentes ou morrem. Os microrganismos facultativos e anaeróbios então proliferam, usando os compostos de carbono como substrato e compostos de N(V), Mn(IV), Fe(III) e S(VI), para transferir seus elétrons provenientes da respiração. Nos sistemas alagados, a decomposição da matéria orgânica acontece quase inteiramente pela ação de microrganismos anaeróbios e/ou facultativos. Como as bactérias anaeróbias operam em um nível de energia bem menor que as aeróbias, tanto a decomposição como a assimilação, são bem mais lentas nos sistemas submersos. Esse fato é ilustrado pela acumulação de resíduos de plantas em pântanos e em sedimentos submersos (Sposito, 1989).

A diferença fundamental entre decomposição aeróbia e anaeróbia reside na natureza dos produtos finais. Assim, as condições redox intermediárias em solos situam-se entre dois extremos:

- solos bem drenados: CO_2 , NO_3^- , SO_4^{2-} e resíduos resistentes à futura decomposição (húmus).

- solos alagados: CO_2 , H_2 , CH_4 , NH_3 , N_2 , H_2S , *mercaptans* e resíduos parcialmente humificados.

Até a formação do metabólico-chave ácido pirúvico (CH_3COCOOH), o metabolismo dos carboidratos é, provavelmente, o mesmo em condições aeróbias e anaeróbias. Na ausência do O_2 , os prótons e elétrons, formados durante tal processo, são transferidos para as espécies oxidadas do solo ou para os metabólitos orgânicos. A transformação do ácido pirúvico em condições anaeróbias leva à formação de uma série de substâncias orgânicas instáveis (etanol, ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico), seguida de evolução de CO_2 , CH_4 , H_2 , C_2H_2 . Quando o O_2 e os receptores secundários estão ausentes, os microrganismos do solo (ou de outros sistemas) podem, ainda,

extrair alguma energia dos compostos orgânicos pela fermentação. Essas reações liberam, aproximadamente, 10% de energia. Isso significa que os produtos (etanol, metano, etc) retêm cerca de 90% da energia.

A variação de energia livre de uma reação redox é de natureza elétrica e as seguintes equações podem ser obtidas de acordo com a primeira e segunda leis da termodinâmica:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln Q \quad (\text{Eq. 4})$$

e

$$\Delta G = - n F E_H \quad (\text{Eq. 5})$$

onde,

ΔG = variação de energia livre de Gibbs da reação;

ΔG° = variação de energia livre padrão da reação, quando todos os reagentes e produtos estão em seu estado padrão;

R = constante dos gases, igual a $1,987 \text{ cal K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$;

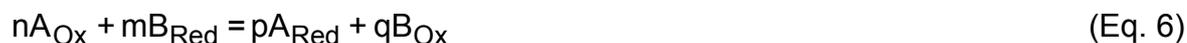
T = temperatura em Kelvin, que a 25° C é igual a $298,15 \text{ K}$;

n = mol de elétrons transferidos na reação;

F = constante de Faraday, igual a $23,061 \text{ kcal V}^{-1} \text{ mol}^{-1}$;

E_H = potencial da cela para a reação.

Para a obtenção de Q (quociente da atividade de produtos e reagentes), considere a reação geral dada abaixo:



considerando também a velocidade de reversibilidade da reação (V_1 e V_2):



As taxas de reações são proporcionais aos produtos e reagentes, de acordo com as seguintes relações:

$$V_1 \sim (A_{Ox})^n (B_{Red})^m \quad (\text{Eq. 9})$$

e

$$V_2 \sim (A_{Red})^p (B_{Ox})^q \quad (\text{Eq. 10})$$

Introduzido as constantes de proporcionalidade k_1 e k_2 , nas equações 9 e 10, respectivamente, o equilíbrio é atingido quando as taxas de reação são iguais, ou seja:

$$V_1 = V_2 \quad (\text{Eq. 11})$$

e assim:

$$k_1 (A_{Ox})^n (B_{Red})^m = k_2 (A_{Red})^p (B_{Ox})^q \quad (\text{Eq. 12})$$

ou

$$\frac{k_1}{k_2} = \frac{(A_{Red})^p (B_{Ox})^q}{(A_{Ox})^n (B_{Red})^m} \Rightarrow Q \quad (\text{Eq. 13})$$

No equilíbrio químico, Q define a constante de equilíbrio da reação (K) e a equação 4 pode ser reescrita como:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln K \quad (\text{Eq. 14})$$

Como no equilíbrio $\Delta G = 0$:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K \quad (\text{Eq. 15})$$

Substituindo os valores apropriados de R e T e aplicando log:

$$\Delta G^\circ = -(0,001987 \text{ kcal grau}^{-1}) (298,15 \text{ graus}) (2,303 \log K) \quad (\text{Eq. 16})$$

$$\Delta G^\circ = -1,364 \log K \quad (\text{Eq. 17})$$

Combinando as equações 5 e 14, pode-se relacionar o potencial redox padrão (E_H°) para a semi-reação à constante de equilíbrio termodinâmico pela expressão:

$$\log K = \frac{(23,061)(nE_H^\circ)}{1,364} \quad (\text{Eq. 18})$$

que, simplificadamente, é:

$$\log K = 16,91 n E_H^\circ \quad (\text{Eq. 19})$$

ou

$$E_H^\circ = \frac{0,05916}{n} \log K \quad (\text{Eq. 20})$$

Assim, as propriedades K, ΔG° e E_H° indicam a atividade das espécies, a variação de energia livre e a previsão de ocorrência de uma reação redox, respectivamente (Struyk e Sposito, 2001).

2.1.1. Conceito de pe

De maneira análoga à atividade de prótons e ao uso do pH, definido como $-\log(H^+)$, a atividade de elétrons pode ser expressa em termos de $-\log(e^-)$. Dessa maneira, os elétrons podem ser tratados como os demais reagentes e produtos, permitindo que uma única constante de equilíbrio defina simultaneamente os equilíbrios químico e eletroquímico.

Consideremos para uma semi-reação redox simples:

$$K = \frac{(\text{Red})}{(\text{Ox})(e^-)^n} \quad (\text{Eq. 21})$$

$$\log K = \log \frac{(\text{Red})}{(\text{Ox})} - n \log(e^-) \quad (\text{Eq. 22})$$

Por definição:

$$- \log(e^-) = pe \quad (\text{Eq. 23})$$

$$pe = \frac{1}{n} \log K + \frac{1}{n} \log \frac{(\text{Ox})}{(\text{Red})} \quad (\text{Eq. 24})$$

No equilíbrio, $(\text{Ox}) = (\text{Red})$, a equação pode ser escrita como:

$$pe^\circ = \frac{1}{n} \log K \quad (\text{Eq. 25})$$

Portanto,

$$pe = pe^\circ - \frac{1}{n} \log \frac{(\text{Red})}{(\text{Ox})} \quad (\text{Eq. 26})$$

Quando $(\text{Ox}) = (\text{Red})$:

$$pe = pe^\circ \quad (\text{Eq. 27})$$

O pe indica a tendência de oxidação e redução em um sistema. Valores elevados de pe favorecem a existência de espécies pobres em elétrons (i.e., oxidadas), assim como valores elevados de pH favorecem a existência de espécies pobres em prótons (i.e., bases). Valores baixos de pe favorecem a existência de espécies ricas em elétrons (ou reduzidas), assim como valores baixos de pH favorecem espécies ricas em prótons (i.e., ácidos). Porém, o pe se diferencia do pH por adotar valores negativos. Esse fato resulta da diferença na

convenção estabelecida para a interpretação das medidas de p_e e pH , realizadas em células eletroquímicas.

Usualmente os valores de p_e° não são encontrados na literatura, pois o p_e é geralmente obtido de forma indireta por métodos eletrométricos, que medem a força eletromotriz (f.e.m.) do sistema redox em relação ao sistema padrão, que por definição, é o do hidrogênio. Tais métodos, portanto, especificam uma diferença de potencial entre eletrodos em termos da f.e.m. da cela, dada em Volts. A relação entre essas propriedades eletroquímicas é dada a seguir.

2.1.2. Relação entre E_H e p_e

Combinando as equações 20 e 25, pode-se escrever:

$$p_e = \frac{E_H}{0,05916} \quad (\text{Eq. 28})$$

quando E_H é expresso em Volt (V). A mesma relação é dada por:

$$E_H = 0,05916 p_e \quad (\text{Eq. 29})$$

Utilizando as equações 26 e 28, obtém-se a Equação de Nernst:

$$E_H = E_H^\circ - \frac{0,05916}{n} \log Q \quad (\text{Eq. 30})$$

Experimentalmente, não é possível determinar um potencial absoluto, mas sim em relação à semi-reação de redução do hidrogênio (E_H) que, por convenção, é o eletrodo primário ou padrão, em que o potencial redox e a variação de energia livre padrão da reação são iguais a zero, e a constante de equilíbrio é igual a uma unidade. Os potenciômetros medem a força eletromotriz (f.e.m.) gerada pela diferença de potencial eletroquímico entre dois eletrodos, sendo um eletrodo de referência e um eletrodo sensível. Os eletrodos podem ser construídos de modo a permitirem reação redox entre um metal e uma solução específica.

Em contato com a solução, os metais tendem a se oxidarem, liberando os cátions correspondentes em solução, e os elétrons livres ficam na placa metálica. Se um dos metais utilizados possuírem maior tendência a sofrer oxidação em relação ao outro, haverá um fluxo de elétrons no sistema, a partir do metal com maior tendência à oxidação para o de menor tendência, gerando a f.e.m., que é detectada pelo potenciômetro acoplado entre o ânodo (doador de e^-) e o cátodo (aceptor de e^-), no circuito elétrico (sistema em que o elétron flui do ânodo para o cátodo por um condutor). Tal força é uma corrente elétrica gerada pelo cátodo, suficiente para impedir o fluxo de elétrons vindos do ânodo. A f.e.m. é medida em V, grandeza que pode ser representada por:

$$1V = \frac{1\text{Joule}}{1\text{Coulomb}} \quad (\text{Eq. 31})$$

A passagem de 1 coulomb (C) é capaz de realizar o trabalho de 1 joule (J).

A f.e.m. está relacionada à atividade de cátions em solução pela equação de Nernst. Tal equação prediz que o potencial da semi-reação mudará 0,05916 V a cada alteração em dez vezes na concentração de uma substância envolvida na transferência de um elétron. Para n elétrons, a variação será $(0,05916/n)$ V por mudança de dez vezes na concentração de uma das substâncias da reação redox. Essas predições se cumprem em meios diluídos, não só do íon eletroativo, mas de todas as espécies iônicas presentes. Os instrumentos são construídos de modo que a atividade de um dos íons em solução seja conhecida (eletrodo de referência). Assim, a f.e.m. passa a ser função apenas da atividade do outro íon, que é a variável desconhecida (eletrodo sensível).

Os eletrodos de referência possuem potencial padrão fixo, sendo que os eletrodos primários possuem um metal em equilíbrio com seus íons, embora, geralmente, sejam utilizados padrões secundários em relação ao eletrodo padrão de hidrogênio. Dessa forma, são construídos eletrodos nos quais um metal está em equilíbrio com uma solução saturada de um sal pouco solúvel. Os eletrodos mais comuns são o AgCl, Ag e o eletrodo de calomelano (Hg_2Cl_2 , Hg).

No eletrodo AgCl, Ag, as equações abaixo podem ser estabelecidas:



Neste caso, segundo a Equação de Nernst:

$$E_H = E_H^\circ - \frac{0,05916}{n} \log \frac{(\text{AgCl})}{(\text{Ag})(\text{Cl}^-)} \quad (\text{Eq. 35})$$

Sendo, $(\text{AgCl}) = (\text{Ag}) = 1,0$, a equação pode ser reescrita como:

$$E_H = E_H^\circ - 0,05916 \log \frac{1}{(\text{Cl}^-)} \quad (\text{Eq. 36})$$

Dessa forma, o potencial depende apenas da atividade de cloreto (Cl^-) em solução, que é mantida constante por meio de solução KCl saturada em contato com o metal, conferindo aos eletrodos potencial constante e conhecido (referência). Geralmente, o eletrodo sensível a reações redox associado ao eletrodo AgCl, Ag é o eletrodo de platina (Pt). O potencial lido na cela pode ser desmembrado em:

$$\text{f.e.m.}_{\text{cela}} = E_H(\text{referência}) - E_H(\text{sensível}) \quad (\text{Eq. 37})$$

2.1.3. Diagramas pe-pH

Em tese, é possível prever reações de oxidação e redução em sistemas naturais usando diagramas de equilíbrio pe-pH. Sendo a água o meio principal para essas reações, torna-se necessário definir os limites de estabilidade termodinâmica da mesma. O oxidante mais forte geralmente encontrado na água é o oxigênio molecular (O_2). Oxidantes mais fortes que o O_2 não persistem na água, porque reagem com a mesma para liberar O_2 . O redutor mais forte geralmente encontrado na água é o H_2 . Redutores mais fortes que o H_2 não

persistem na água, porque reagem com a mesma para liberar H_2 . A água age, assim, nivelando a força dos oxidantes no sistema.

O diagrama pe-pH (Figura 1) mostra os valores de pe encontrados nos solos (área hachurada) e os campos de estabilidade da água. Só as substâncias que aparecem entre as reações, que determinam o campo de estabilidade da água, serão estáveis em solução aquosa em ambas as formas, oxidadas e reduzidas.

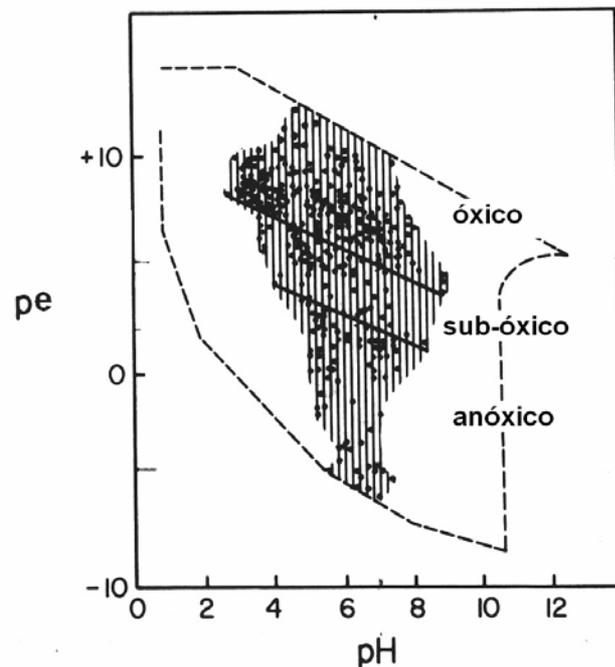


Figura 1- Diagrama pe-pH. O perímetro pontilhado representa o domínio acessível pelos microrganismos e os pontos formando a área destacada representam os resultados experimentais. Adaptada de Baas Becking et al. (1960).

Para o equilíbrio entre o oxigênio molecular e a água ($\log K = 83,10$):



$$K = \frac{(H_2O)^2}{pO_2(H^+)^4(e^-)^4} \quad (\text{Eq. 39})$$

$$pe = 20,78 + \frac{1}{4} \log pO_2 - pH \quad (\text{Eq. 40})$$

$$pe + pH = 20,78 + \frac{1}{4} \log \rho O_2 \quad (\text{Eq. 41})$$

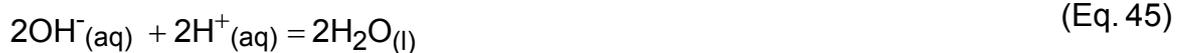
Assumindo a pressão parcial de oxigênio (ρO_2) igual a 1 atm (condição de máxima oxidação):

$$pe = 20,78 - pH \quad (\text{Eq. 42})$$

ou,

$$pe + pH = 20,78 \text{ (limite superior de estabilidade da água)} \quad (\text{Eq. 43})$$

Para o equilíbrio entre a água e o H_2 , tem-se a equação de redução:



$$K = \frac{\rho H_2}{(H^+)^2 (e^-)^2} \quad (\text{Eq. 47})$$

Como, para a semi-reação obtida, $\log K = 0$:

$$pe = \frac{1}{2} \log \frac{\rho H_2}{(H^+)^2} \quad (\text{Eq. 48})$$

$$pe = \frac{1}{2} \log \rho H_2 + \log (H^+) \quad (\text{Eq. 49})$$

$$pe = pH + \frac{1}{2} \log \rho H_2 \quad (\text{Eq. 50})$$

Assumindo $pH_2 = 1\text{atm}$ (condição de máxima redução)

$$pe = -pH \text{ ou } pe + pH = 0 \quad (\text{Eq. 51})$$

que é o limite inferior do campo de estabilidade da água.

A seqüência de redução nos sistemas naturais como os solos é também refletida na sucessão de microrganismos: aeróbios, aeróbios facultativos e estritamente anaeróbios. O curso, a velocidade e a grandeza da variação de pe dependem da qualidade (“labilidade”) e quantidade de matéria orgânica, da natureza e quantidade de receptores secundários de e^- , da temperatura, da duração do alagamento e dos processos catalíticos envolvidos.

Nos sistemas naturais essa amplitude de pe pode ser dividida em três grupos, indicando o seu estado redox (Quadro 1):

Quadro 1- Amplitude de pe (e de $pe + pH$) em solos e o estado redox correspondente

Estado redox	pe (pH 7,0)	$pe + pH$
Solos “óxicos” (oxidados)	>5	>12
Solos “subóxicos” (suboxidados)	2 a 5	9 a 12
Solos “anóxicos” (reduzidos)	<2	<9

Fonte: Velloso et al. (1993).

Os solos subóxicos diferem dos “óxicos” por apresentarem valores de pe suficientemente baixos para que ocorra depleção de O_2 , porém, não baixos o bastante para a depleção dos íons SO_4^{2-} .

Na solução do solo com $pe + pH$ abaixo de 18, os elétrons passam a existir em quantidade suficiente para a redução de O_2 (g) a H_2O . Abaixo de $pe + pH = 12$, o oxigênio deixa de ser estável. Acima de $pe + pH = 12$, o oxigênio é consumido nos processos de respiração aeróbia.

Em valores de $pe + pH < 15$ há atividade de elétrons para a redução de NO_3^- a NO_2^- , N_2 , N_2O , ou NH_4^+ . A desnitrificação constitui um caso especial de nitrato-respiração, em que N_2 e N_2O são produzidos.

Valores de $pe + pH$ entre 14 e 12 indicam quantidades suficientes de elétrons para a redução de Fe e Mn nas fases sólidas. A redução do Fe(III) somente acontece após o consumo de O_2 e NO_3^- . A redução do Mn(IV) pode, entretanto, iniciar-se na presença de nitrato. As reduções de Fe(III) e Mn(IV) são características de ambientes subóxicos.

Abaixo de $pe + pH = 9$ o solo torna-se anóxico, e quando $pe + pH < 7$ existe disponibilidade de elétrons para a redução de sulfato, que é catalisada por uma variedade de bactérias anaeróbias. Como resultado da redução aparecem H_2S , HS^- , $S_2O_3^{2-}$.

Como já mostrado, a seqüência de reações químicas das espécies de elementos como O, N, Mn, Fe e S (Quadro 2) corresponde também a uma seqüência ecológica de microrganismos (catalisadores biológicos que mediam essas reações). Os microrganismos aeróbios (que utilizam O_2 para oxidar a matéria orgânica) não atuam abaixo de $pe + pH = 12$.

As bactérias desnitrificadoras, na maior parte dos casos, desenvolvem-se entre $pe + pH$ 17 e 7. As bactérias responsáveis pela redução do sulfato não proliferam em $pe + pH$ acima de 9. Esses exemplos mostram que os diagramas pe - pH retratam os domínios de estabilidade tanto para as espécies químicas como para as espécies microbianas (Stumm e Morgan, 1996).

Quadro 2- Seqüência de redução em solos neutros

Semi-reações de redução	Faixa de ($pe + pH$)
$\frac{1}{4} O_{2(g)} + H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = \frac{1}{2} H_2O_{(l)}$	12,0 – 18,0
$\frac{1}{2} NO_3^- + H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = \frac{1}{2} NO_2^-_{(aq)} + \frac{1}{2} H_2O_{(l)}$	10,4 – 15,5
$\frac{1}{2} NO_3^- + \frac{6}{5} H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = \frac{1}{10} N_{2(g)} + \frac{3}{5} H_2O_{(l)}$	
$\frac{1}{8} NO_3^- + \frac{5}{4} H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = \frac{1}{8} NH_4^+_{(aq)} + \frac{3}{8} H_2O_{(l)}$	
$\frac{1}{2} MnO_{2(s)} + 2H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = \frac{1}{2} Mn^{2+}_{(aq)} + H_2O_{(l)}$	10,4 – 13,8
$Fe(OH)_{3(s)} + 2H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = Fe^{2+}_{(aq)} + 3H_2O_{(l)}$	8,7 – 12,0
$FeOOH_{(s)} + 2H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = Fe^{2+}_{(aq)} + 2H_2O_{(l)}$	
$\frac{1}{8} SO_4^{2-}_{(aq)} + \frac{9}{8} H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = \frac{1}{8} HS^-_{(aq)} + \frac{1}{2} H_2O_{(l)}$	4,5 – 7,0
$\frac{1}{4} SO_4^{2-}_{(aq)} + \frac{5}{4} H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = \frac{1}{8} S_2O_3^{2-}_{(aq)} + \frac{5}{8} H_2O_{(l)}$	
$\frac{1}{8} SO_4^{2-}_{(aq)} + \frac{5}{4} H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = \frac{1}{8} H_2S_{(aq)} + \frac{1}{2} H_2O_{(l)}$	

Fonte: Sposito (1989).

2.2. Estabilização das substâncias húmicas

A oxidação da matéria orgânica é uma forma de transformação de biopolímeros oriundos de microrganismos, plantas e animais em outras moléculas mais simples, para que estas possam ser assimiladas de modo mais harmonioso nos ciclos da natureza. A oxidação pode ser completa ou parcial. Na maioria das vezes acontece de modo incompleto e os subprodutos serão o substrato para as reações de humificação da matéria orgânica. No entanto, a oxidação total (também chamada de mineralização) de um composto orgânico gera como produto final dióxido de carbono, água e íons inorgânicos. Ambos os processos são mediados pelos microrganismos.

A oxidação de materiais orgânicos frescos a húmus, mediada biologicamente, vem sendo explorada pelo homem desde os primórdios da civilização e é a base da adubação orgânica no processo genericamente conhecido como compostagem. A formação do composto, ou adubo orgânico compostado, é a biodegradação induzida, controlada e completa, que conduz à estabilização da matéria orgânica. No final do processo ocorre a diminuição da atividade biológica pela exaustão dos estoques de substratos e competição entre espécies de agentes decompositores. Ocorre também a transformação dos componentes químicos e a diminuição do conteúdo de carbono, concomitantemente com a disponibilização dos elementos químicos sob formas orgânicas lábeis.

A compostagem realiza-se em duas fases: a primeira, quando ocorrem as reações bioquímicas de oxidação mais intensas, predominantemente termofílicas, a segunda ou fase de maturação, mesofílica, quando ocorrem o processo de estabilização dos sólidos e humificação. Vários são os métodos para a execução do processo de compostagem. Entre eles está a compostagem artesanal, realizada em pilhas ou leiras, a céu aberto e removidas por processo manual, para a aeração das camadas interiores, mantendo sob relativo controle as condições de temperatura e umidade dos materiais. A demanda por oxigênio atinge o seu pico máximo durante a fase de oxidação do processo. Assim, o processo de compostagem consiste em acelerar o processo de humificação da matéria orgânica, por meio do fornecimento de condições ótimas, ao invés das ocorrentes naturalmente em sistemas como os solos.

Os microrganismos são capazes de realizar uma série de reações químicas importantes para a vida no planeta. Tomemos a fotossíntese, por exemplo, um processo no qual a luz absorvida é convertida em energia química pela molécula de clorofila presente nas algas cianofíceas. De forma resumida, temos (Taiz e Zeiger, 1991):



onde $\{\text{CH}_2\text{O}\}$ representa a nova biomassa produzida neste processo, que requer energia ($\Delta G = + 475 \text{ kJ mol}^{-1}$). A reação inversa, ou seja, a degradação da matéria orgânica (oxidação ou respiração) libera a mesma quantidade de energia ($\Delta G = - 475 \text{ kJ mol}^{-1}$):



Existem fungos com habilidade de sintetizar enzimas com capacidade de degradar as ligninas e oxidar a MOS. Esse complexo é formado majoritariamente pelas enzimas lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacases que genericamente formam as fenoloxidasas. Essas enzimas oxidam seus substratos pela redução de um elétron para a formação de um radical catiônico. Estes fungos caracterizam-se por serem bons produtores de lacase, fenoloxidase dependente de cobre. Esta enzima lignolítica tem a capacidade de catalisar reações de desmetilação, que é um passo inicial e importante para os processos de biodegradação de cadeias poliméricas, com subsequente decomposição de macromoléculas de lignina pelo rompimento de anéis aromáticos e ligações $C_a - C_b$ em estruturas fenólicas.

As ligninas são um polímero derivado de grupos fenilpropanóides denominados C_6C_3 ou, simplesmente, unidades C_9 , repetidas de forma irregular, que têm sua origem na polimerização desidrogenativa do álcool coniferílico. A compostagem de resíduos de madeira é um modelo interessante para o estudo do processo de humificação já que parte considerável da matéria orgânica humificada do solo, em média cerca de 36% da estrutura dos ácidos húmicos é formada por compostos aromáticos e parece ser constituída pela união e ressíntese de polímeros complexos de hidroxifenóis, ácidos hidroxibenzoicos e

outras substâncias aromáticas, ligadas a peptídeos, compostos aminoaçúcares, ácidos graxos, parede celular e fragmento protoplasmático microbiano, e possivelmente outros constituintes. Estruturas condensadas de anéis aromáticos e partes de lignina e moléculas de melanina podem também integrar com o húmus (Budziak et al., 2004). Assim, a estabilização do C no solo sob a forma humificada resume a qualidade dos processos ecológicos que estão ocorrendo no sistema. A microbiota possui um papel fundamental no ciclo do C e o solo, o hospedeiro do maior compartimento orgânico. As alterações em tal ambiente são precisamente refletidas pelo processo de humificação da matéria orgânica.

Usando a ressonância paramagnética de elétrons (RPE) para estudar o processo de humificação, Budziak et al. (2004) concluíram que os radicais livres orgânicos formados durante a compostagem da serragem de madeira correspondem a *orto*-semiquinonas, formadas na cisão homolítica: $\phi\text{-O-CH}_3 \rightarrow \phi\text{-O}^\bullet + \bullet\text{CH}_3$. Assim, um dos processos químicos ligados à formação de ácidos húmicos durante a compostagem está ligado à quebra de ligação $\phi\text{O-CH}_3$ por cisão homolítica com formação de 2 radicais livres orgânicos, ϕO^\bullet e $\bullet\text{CH}_3$. As possíveis estruturas de *orto*-semiquinonas formadas reagem entre si produzindo aumento da cadeia orgânica aromática, ou com $\bullet\text{H}$ para formar um grupo fenólico. Os radicais livres $\bullet\text{CH}_3$ devem formar metano, gás liberado em pequenas quantidades no processo de compostagem, por reação com o $\bullet\text{H}$. A formação de espécies reativas aromáticas (CRLS) aumentam com o grau de humificação da matéria orgânica, resultando nas SH (Figura 2).

A biota utiliza-se dos compostos simples e recentemente aportados ao solo. Os precursores fenólicos de quinonas que polimerizam para formar SH são formados por um variado conjunto de processos, incluindo a degradação microbiológica da lignina (Kirk, 1984) e os produtos da sua respiração. Com a idade do material humificado, as cadeias carbônicas centrais da estrutura se condensam, resultando em aumento de aromaticidade (Stevenson, 1994).

De acordo com a sua solubilidade, as SH podem ser fracionadas em: ácidos húmicos (AH), solúvel em álcali e insolúvel em ácido; ácidos fúlvicos (AF), solúvel em álcali e solúvel em ácido; e humina, insolúvel em álcali e ácido (Stevenson, 1994).

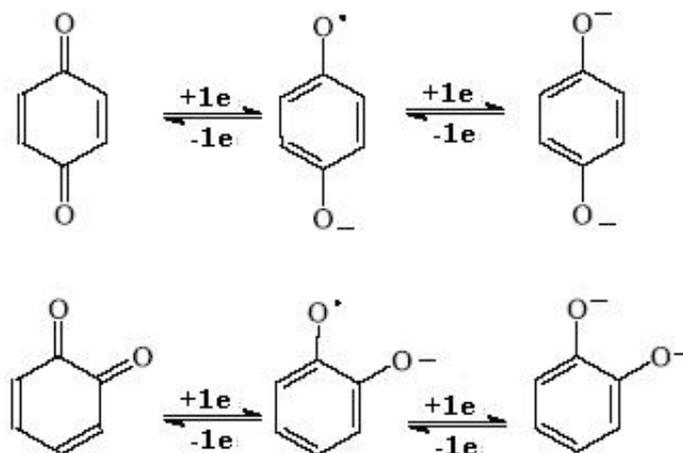


Figura 2- Semiquinonas produzidas pela redução de quinonas ou pela oxidação de para e orto-difenóis. Fonte: Budziak, et al. (2004).

A concentração e as características químicas dos AH por sua sensibilidade a alterações no sistema têm sido escolhidos para a avaliação da reatividade e da qualidade, em geral, da MOS (Labrador, 1996).

Potenciais desvantagens do estudo fracionado das SH têm sido objeto de preocupações da comunidade científica. Nas condições de alcalinidade encontradas no fracionamento da MOS, possíveis alterações estruturais das SH podem ocorrer, incluindo hidrólises dos ésteres e incorporação de oxigênio na estrutura húmica. Ainda podem ser citados processos como a formação de contaminantes durante o isolamento de SH aquáticas ou provenientes de solos sob aportes de agrotóxicos (Thurman e Malcolm, 1981). Enfim, o fracionamento é essencial para o entendimento das SH, todavia, é necessária uma procura constante de procedimentos que minimizem as alterações durante a extração, isolamento e purificação das frações da matéria orgânica humificada.

Estudos espectroscópicos e físico-químicos têm demonstrado a existência de quatro características estruturais principais das SH que influenciam sua reatividade química (Sposito, 1989): (1) polifuncionalidade, indicando a existência de uma variedade de grupos funcionais e uma faixa larga de reatividade dos grupos funcionais, representando uma mistura heterogênea de polímeros interativos; (2) carga macromolecular, o desenvolvimento de um caráter aniônico numa rede macromolecular, com efeitos na reatividade dos grupos funcionais e

conformação molecular; (3) hidrofilicidade, a tendência de formar ligações de hidrogênio fortes com moléculas de água solvatando grupos funcionais polares, como COOH e OH; (4) flexibilidade estrutural, indicando a capacidade de associação intermolecular e de mudança de configuração molecular em resposta a mudanças nos valores de pH, condições redox, concentração de eletrólitos e ligação de grupos funcionais.

Assim, a reatividade da matéria orgânica humificada no ambiente será governada pela qualidade e quantidade de grupos funcionais presentes em sua estrutura. Dessa forma, a ocorrência destes grupos ácidos resulta em geração de cargas elétricas dependentes do pH, que serão predominantemente negativas nos valores usuais de pH dos sistemas naturais.

Os estudos atuais têm sugerido uma concepção sobre a estrutura molecular não discreta das substâncias húmicas (Piccolo et al., 1990; Piccolo, 2001; Simpson et al., 2001; Wang e Xing, 2004). Usando a cromatografia por exclusão de tamanho, Piccolo e Nardi (1996a; b) verificaram que a absorção de luz por AH em 280 nm foi reversivelmente alterada de faixas de baixo para alto tamanho molecular com a adição de ácidos orgânicos para acidificar o pH da solução de ácidos húmicos (Piccolo e Nardi, 1996a). Foi sugerido então, que em vez de um polímero estável em pH neutro ou alcalino, os ácidos húmicos se comportariam como uma associação supramolecular de entidades químicas relativamente pequenas e heterogêneas que se mantêm unidas pela ação de forças fracas dispersivas, tais como forças de van der Waals e interações π - π e CH- π . A associação supramolecular em solução é formada então através da auto-união de domínios hidrofóbicos de compostos anfílicos. De acordo com Piccolo e Conte (2000) e Piccolo (2001) os domínios hidrofóbicos e hidrofílicos de moléculas húmicas podem estar em contato ou conter em cada um deles a água de hidratação, formando uma associação de agregados húmicos que apresenta um peso molecular alto apenas aparente. Evidências adicionais sobre o arranjo supraestrutural de SH foram obtidas através de métodos espectroscópicos (Simpson et al., 2001; Wang e Xing, 2004). Na associação húmica supramolecular, as forças intermoleculares determinam a conformação estrutural das SH e a complexidade de múltiplas interações não covalentes que controlam e regulam a sua reatividade no ambiente (Piccolo et al., 1999; Rovira et al., 2002). Assim, dentre as características das SH que governam a sua reatividade nos

sistemas naturais, destaca-se a sua participação em reações redox (Sposito, 1989).

2.3. Propriedades redox das substâncias húmicas

Os estudos prévios a respeito da atividade redox de SH usaram vários métodos como as titulações redox contínuas (Helburn e MacCarthy, 1994; Matthiessen, 1996), as titulações descontínuas (Szilágyi, 1973; Örstemberg e Shirshova, 1997) e estimativas indiretas, que se basearam nas reações de SH com elementos como o Fe(III) (Szilagy, 1971; Lovley et al., 1996, 1998; Scott et al., 1998), Mn(IV) (Sunda e Kieber, 1994), V (V) (Wilson e Weber, 1979; Lu et al., 1998) e Hg(II) (Alberts et al., 1974; Skorgerboe e Wilson, 1981). As titulações contínuas envolvem medições do E_H após cada adição de oxidante, a valor constante de pH. O ponto final da titulação ocorre quando a máxima relação entre a variação no potencial do eletrodo com os incrementos de titulante. Já as titulações descontínuas diferem-se principalmente pelo fator tempo (dias ao invés de minutos ou horas entre as adições de titulante), permitindo a proximidade do equilíbrio em sistemas fechados a cada medição da f. e. m.

A técnica de titulação contínua oferece duas principais vantagens em relação a descontínua. Em primeiro lugar, as titulações contínuas permitem a obtenção de informações com relação à capacidade de oxidação dos AH. Outra vantagem da continuidade na titulação redox resulta de maior informação sobre as mudanças no potencial do eletrodo após a adição de titulante, antes do ponto final ser alcançado.

Visser (1964) e Helburn e MacCarthy (1994) obtiveram titulações redox contínuas de AH, utilizando o ferrocianeto de potássio ($K_3Fe(CN)_6$) como oxidante. O primeiro autor utilizou amostras extraídas de diferentes profundidades de um depósito de turfa em região tropical ("sphagnum peat"), enquanto no segundo caso, os autores utilizaram amostras de solos turfosos da Irlanda, diferentes fontes de fenóis e amostras compostas da mistura entre todas as fontes. Estes trabalhos evidenciaram similaridades entre as curvas de titulação obtidas a $pH \geq 9,0$. Matthiessen (1996) também usou as titulações contínuas, usando o I_2 como oxidante, para estudar soluções tamponadas de ácidos húmicos sintéticos.

Lovley et al. (1996) verificaram a habilidade de AH para atuar como mediador de elétrons entre microrganismos e óxidos de férricos bem cristalizados ou Fe(III) contido nos argilominerais. Os autores encontraram evidências de que os microrganismos reduzem SH, que por sua vez reduzem o Fe(III) dos argilominerais. Assim, os microrganismos conseguem acessar o Fe(II) solúvel, produzido por meio da reação redox.

Lovley et al. (1998) examinaram amostras provenientes do banco da International Humic Substances Society (IHSS, 2006) e uma preparação comercial (Aldrich) e a 2,6-antraquinona dissulfonato (AQDS), um composto com propriedades químicas com propriedades redox semelhantes as dos AH (Curtis e Reinhard, 1994). Inicialmente, os autores incubaram os AH com microrganismos (usando acetato como doador de elétrons) e após separarem as células por filtração, adicionaram citrato de Fe(III) (Lovley et al., 1996) e mediram a quantidade de Fe(III) reduzido a Fe(II). Lovley et al. (1998) também estudaram microrganismos e sua capacidade de crescer em meio contendo apenas AH como aceptor de elétrons. Apenas um microrganismo redutor de Fe(III), da família *Geobacter* conseguiu reduzir AH. Benz et al. (1998) verificaram que os AH atuam como mediadores na reação de redução do Fe(III) a Fe(II) pelos microrganismos.

Scott et al. (1998) estudaram a funcionalidade dos AH e indicaram que os grupos quinona são os principais responsáveis pela transferência de elétrons entre microrganismos, AH e Fe(III). Tal reação foi também reportada por Lovley et al. (1996, 1998). Trabalhos prévios haviam indicado incrementos nas taxas de transferência de elétrons nas reações entre compostos halogenados e nitroaromáticos e espécies reduzidas de N e S quando AQDS ou AH foram adicionados ao sistema (Dunnivant et al., 1992; Curtis e Reinhard, 1994). O aumento das taxas de reação foi atribuído a atuação dos grupos quinona presentes nos mediadores (AQDS e AH). Adicionalmente, Lovley et al. (1996) demonstraram que algumas substâncias contendo grupos funcionais quinona também foram responsáveis pela habilidade de microrganismos conseguirem crescer em meio contendo apenas óxidos de Fe(III). Os autores relacionam aumento da densidade de células microbiológicas e produção de Fe(II) quando os compostos quinona ou AH estavam presentes.

Quanto às características e propriedades usualmente relacionadas com a reatividade dos AH, Scott et al. (1998) encontraram correlações positivas e

significativas entre a atividade redox de AH e o grau de aromaticidade do C nos AH, determinado por espectroscopia de ressonância magnética do ^{13}C (RMN ^{13}C). A capacidade redox dos AH também se correlacionou com a concentração de radicais livres obtidos por espectroscopia de ressonância paramagnética (RPE) (Scott et al., 1998). Estes mesmos autores reportam incrementos nos teores de radicais livres após incubação dos AH com os microrganismos, seguida do incremento de AH reduzido. Os radicais semiquinonas que se originam quando os grupos quinona presentes nos AH sofrem a redução de um elétron e são estáveis a temperatura ambiente, podendo ser determinados por meio de RPE (Senesi et al., 1977). Quando semiquinonas recebem um outro elétron, forma-se o radical hidroquinona. Grupos funcionais fenólicos contidos nos AH podem, ainda, perder um elétron e originar os radicais semiquinonas, que, com a transferência de mais um elétron, formam-se as benzoquinonas (Figura 3).

Esta hipótese foi testada por Wilson e Weber (1979), que utilizaram AH isolado de um horizonte de solo orgânico para reduzir V(V) a V(IV). Os autores determinaram o sinal de radicais semiquinonas antes e depois da oxidação dos AH pela redução do V. Também obtiveram relações significativas entre as quantidades de V reduzido formado e a concentração de radicais semiquinonas nos AH. A partir da conversão do número de spins por grama de AH, obtiveram por RPE a concentração em mols de spins eletrônicos por grama de AH. De acordo com as suas análises, os radicais semiquinonas podem representar aproximadamente 1 % dos elétrons necessários para formar V(IV) a pH 2,0. A pH 12,0 estes mesmos radicais representariam 10 % dos doadores. Assim, os autores questionaram os obstáculos conformacionais, argumentando que as SH apresentariam, em solução, os anéis aromáticos hidrofóbicos localizados no centro da sua estrutura, inacessível às espécies de vanadil ($\text{V}=\text{O}$) (Wilson e Weber, 1979). Estes autores, no entanto, não fizeram uma proposta que explicasse toda a redução do V.

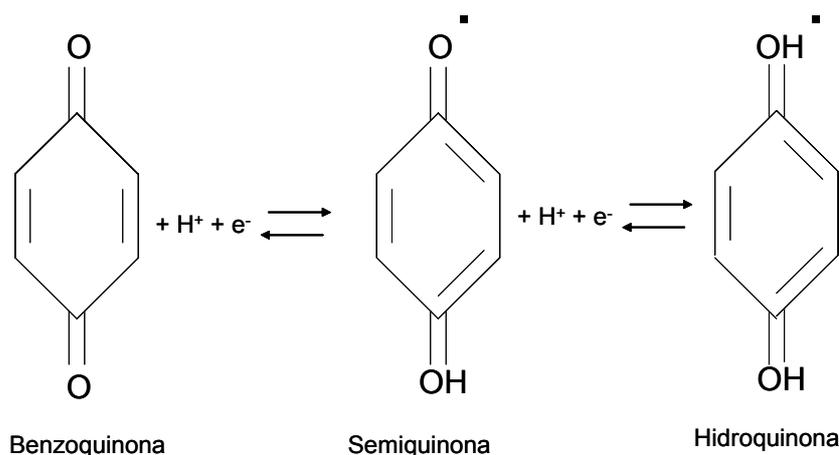


Figura 3- Reações redox envolvendo resíduos de quinonas. Fonte: Scott et al. (1998).

Senesi et al. (1977) utilizaram RPE para estudar AF derivados de solos e verificaram que a CRLS diminuiu durante a oxidação com H₂O₂, Ag₂O e NaIO₄, em experimentos conduzidos a pH 7, 10 e 13. Todas as medições por RPE foram realizadas com a atmosfera ambiente. Entretanto, é possível que o menor sinal obtido para semiquinonas reportado seja resultado da oxidação dos radicais semiquinona por oxigênio (Wilson e Weber, 1979), indicando que estes não tenham participado da reação redox.

A importância das reações redox, que normalmente ocorrem em todos os solos, está diretamente relacionada aos processos de acumulação e reatividade da matéria orgânica humificada e, por conseguinte, afeta toda a química, fertilidade e biologia (mais especificamente a microbiota do solo e produção vegetal). Um exemplo do papel dos AH como agentes redox no sistema solo é a redução de Fe(III) a Fe(II), que é um processo essencial para a nutrição celular, uma vez que esse elemento é predominantemente assimilado na forma reduzida. Os estudos indicam que os AH são mediadores da redução microbológica do Fe(III), ou seja, grupos quinona oxidados presentes nos AH são reduzidos por microrganismos e então reduzem Fe, oxidando-se novamente (Szilágyi, 1971, 1973, 1974; Lovley, 1996, 1997; Lovley et al., 1998, 2000).

A redução microbiana de AH não só tem conseqüências para o ciclo do Fe, mas também no destino de poluentes orgânicos e inorgânicos que chegam ao

ambiente, tais como, mobilização e retenção de metais tóxicos e hidrocarbonetos (Coates et al., 1998; Kappler et al., 2004; Keum e Li, 2004). Os grupos funcionais quinonas presente em concentração elevada nas substâncias húmicas são os principais responsáveis pela atividade redox dos AH. As reações de oxidação e redução de grupos quinona são provavelmente as responsáveis pela capacidade redox dos AH (Lovley et al., 1998; Hernandez e Newman, 2001). Sistemas aromáticos com resíduos de quinonas como aceptores de elétrons também são sugeridos por Chen et al. (2003).

Os grupos quinonas poderiam atuar como mediadores na transferência de elétrons para contaminantes. Há evidências que grupos quinonas da MOS poderiam mediar a degradação de solventes clorados e nitroaromáticos em soluções aquosas (Dunnivant et al., 1992) e a redução de tetracloreto de carbono, cromato, etc, por microrganismos redutores de Fe^{3+} (Fredrickson e Gorby, 1996; Lovley, 1997; Lovley et al., 1998, 2000; Kim e Picardal, 1999; Ramos-Tejada et al., 2003). Os potenciais termodinâmicos são favoráveis para a maioria dos grupos quinonas atuarem como transportadores de elétrons para contaminantes como nitrobenzenos e tetracloreto de carbono (An et al., 1996; Tratnyek e Macalady, 2000; Medien e Zahran, 2001). Utilizando uma quinona sintética, antraquinona-2,6-dissulfonato (AQDS), Scott et al. (1998) conseguiram estimular a redução de Fe^{3+} de maneira similar ao obtido com AH.

Os microrganismos podem conservar energia para seu crescimento via transporte de elétrons para o acceptor AQDS, resultando em antrahidroquinona-2,6-dissulfonato, em estado reduzido (AHQDS), que pode, abioticamente, mediar a redução férrica, por meio da transferência de elétrons, regenerando AQDS, oxidada. Quando microrganismos são cultivados em meio contendo AQDS e Fe^{3+} , também são aptos a transferirem elétrons para AH. Devido a essa capacidade em atuar como agente oxidante e redutor continuamente (Fukushima e Tatsumi, 1999), onde os grupos quinona exercem papel fundamental, os AH poderiam estar presentes, mesmo em baixas concentrações, que conseguiriam mediar uma substancial quantidade de reações nos sistemas naturais (Motheo e Pinhedo, 2000; Kukkadapu et al., 2001; Hernandez e Newman, 2001; Marschner e Kalbitz, 2003)

A presença de quinonas e, de uma forma mais geral, de radicais livres nos AH tem sido utilizada como um indicador efetivo da qualidade da matéria

orgânica e indiretamente da qualidade do ambiente. A presença de radicais livres nos AH está associado a sua formação e obviamente à natureza dos processos bioquímicos e químicos envolvidos na sua gênese. A CRLS pode ser determinada por RPE (Struyk e Sposito, 2001) e utilizada para caracterizar qualitativamente a fração humificada da MOS.

Uma série de estudos têm obtido alto grau de correlação entre a CRLS e o grau de humificação da matéria orgânica (Milorí et al., 2002; Pérez et al., 2004; Saab Martin-Neto, 2003). A base desses trabalhos consiste na observação de uma relação direta entre o aumento do grau de humificação e o aumento da concentração de radicais livres na matéria orgânica humificada. De acordo com Zech et al. (1997), a humificação dos resíduos orgânicos pode ser observada por RMN ^{13}C , que permite acompanhar o aumento do conteúdo de C-carboxílicos, alquílicos e aromáticos e diminuição de C ligado a polissacarídeos. Com o aumento da humificação, de uma forma geral, ocorre acúmulo de estruturas complexas e aromáticas que se estabilizam em radicais livres do tipo semiquinonas. Portanto, o aumento da CRLS está associado ao avanço da humificação (Milorí et al., 2002).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostras de ácidos húmicos

As amostras usadas no presente estudo encontram-se agrupadas em 20 AH provenientes de diferentes origens. Os três principais grupos de amostras de AH foram isolados de: i) Solos típicos da paisagem do Estado do Rio de Janeiro; ii) resíduos orgânicos e iii) solos sob contínuo cultivo com cana-de-açúcar.

3.1.1. Solos da paisagem do Estado do Rio de Janeiro

Selecionaram-se solos do Estado do Rio de Janeiro (Figura 4), em diferentes estádios de intemperismo (Quadro 3). Foram coletadas amostras da camada superficial (horizonte A) dos seguintes solos: Luvisolo Crômico Pálico abruptico (Luvisolo), Argissolo Vermelho Amarelo Distrófico (Argissolo), Chernossolo Argilúvico Órtico vértico (Ch. Argilúvico), Chernossolo Rêndzico Saprolítico típico (Ch. Rêndzico), Latossolo Amarelo Coeso típico (Latosolo), que representam uma seqüência típica da paisagem do Norte Fluminense.

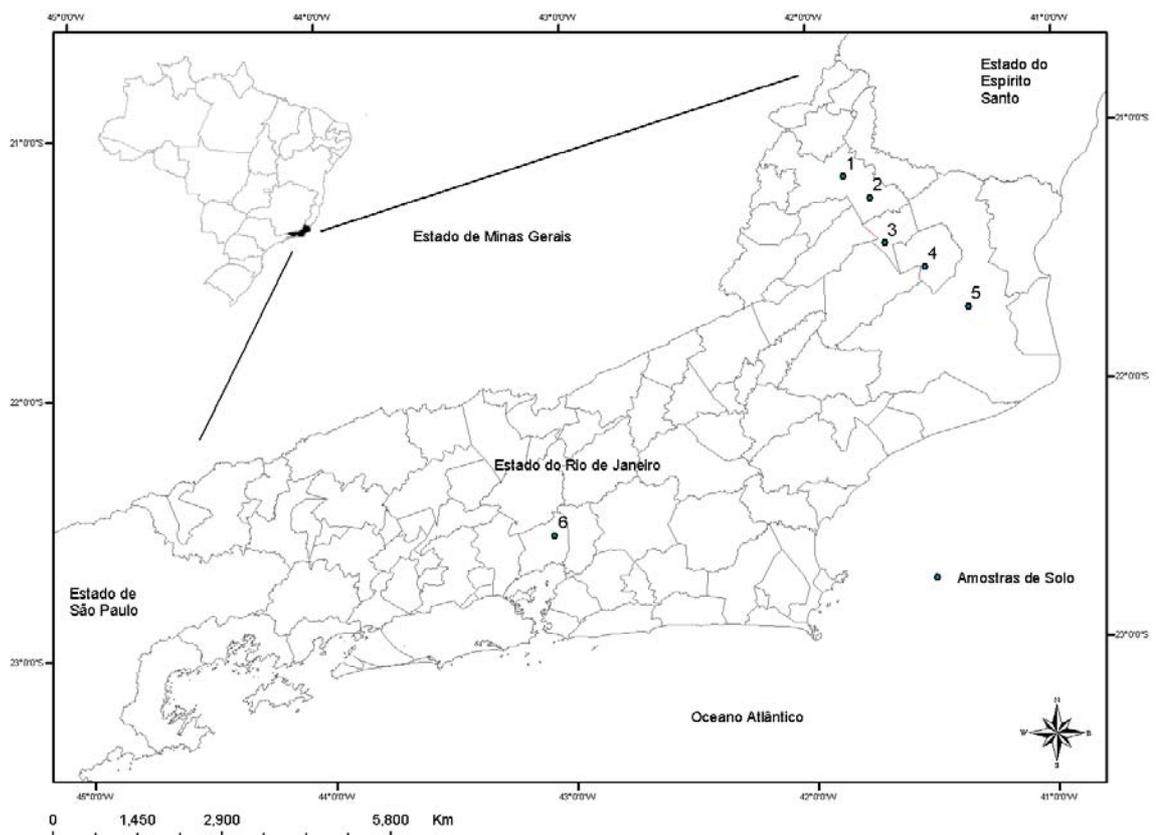


Figura 4- Mapeamento e localização dos perfis de solos amostrados na seqüência Itaperuna-Campos, RJ. Luvissole Crômico Pálico abrupto (1), Argissolo Vermelho Amarelo Distrófico (2), Chernossolo Argilúvico Órtico vértico (3), Chernossolo Rêndzico Saprolítico típico (4), Latossolo Amarelo Coeso típico (5) e Neossolo Litólico Eutrófico típico (6).

Os solos de números 1 a 5, amostrados ao longo da rodovia Itaperuna-Campos dos Goytacazes foram descritos durante a I Reunião de Classificação e Correlação de Solos (Embrapa, 1980). O Latossolo Amarelo é característico do sedimento Barreiras e está localizado no Colégio Agrícola Antônio Sarlo, em Campos dos Goytacazes-RJ. Também foram coletadas amostras do horizonte superficial de um Neossolo Litólico Eutrófico típico (Neossolo), localizado na região serrana de Petrópolis-RJ, distrito de Itaipava (estrada dos Albertos).

Quadro 3- Caracterização química de diferentes classes de solos do Estado do Rio de Janeiro e de seus respectivos ácidos húmicos

Classe	Variáveis ⁽¹⁾							
	ki	pH		Δ pH	Al ³⁺	CTC	C	C _{AH}
	SiO ₂ /Al ₂ O ₃	H ₂ O	KCl		-- cmol _c kg ⁻¹ --		---- g kg ⁻¹ ----	
Neossolo	1,94	4,4	3,9	-0,5	1,8	7,40	43,4	25,1
Ch. Rendzico	2,60	8,0	6,8	-1,2	0,0	28,90	26,4	3,4
Ch. Argilúvico	1,91	6,6	5,8	-0,8	0,0	14,00	16,4	2,4
Luvissolo	1,80	5,8	5,0	-0,8	0,0	8,70	15,9	1,1
Argissolo	1,84	6,2	5,4	-0,8	0,0	9,71	13,8	1,4
Latossolo	1,60	5,1	4,3	-0,8	0,1	5,73	12,2	2,0

⁽¹⁾ Variáveis: pH = relação solo: água ou KCl 1 mol L⁻¹ igual a 1:2,5; Δ pH = pH_{KCl} – pH_{H₂O}; Al³⁺ = acidez extraída com KCl 1 mol L⁻¹; CTC= extraída com acetato de amônio a pH=7,0; C e C_{AH} = teor no solo e nos ácidos húmicos, respectivamente.

3.1.2. Resíduos orgânicos

Seis resíduos orgânicos foram escolhidos: (i) vermicomposto; (ii) composto de esterco de curral (Curral); (iii) composto de esterco de aviário (Aviário); (iv) composto da mistura em partes iguais, de esterco de curral e de aviário (Curral+Aviário); (v) composto de torta de filtro (T. Filtro) e (vi) composto de resíduo orgânico de lixo domiciliar urbano (Lixo Urbano). O vermicomposto foi preparado a partir de esterco de curral e de minhocas vermelhas da Califórnia (*Eisenia foetida*). A coleta do material foi realizada 90 dias após a instalação das pilhas de esterco, o que correspondem a 45 dias depois de colocadas as minhocas. Os estercos de curral e de aviário foram coletados na “Fazendinha Agroecológica” da Embrapa Agrobiologia, Seropédica-RJ. Os resíduos da usina da cana-de-açúcar e de lixo urbano foram amostrados, respectivamente, na Usina

Paraíso, localizada no município de Campos dos Goytacazes-RJ e na Companhia de Limpeza Urbana do Município do Rio de Janeiro (Comlurb). A compostagem dos resíduos orgânicos foi realizada conforme os procedimentos usuais na Fazendinha Agroecológica, que, durante a fase termófila, foram principalmente o controle diário da temperatura e o revolvimento semanal das pilhas.

3.1.3. Solos sob cultivo contínuo com cana-de-açúcar

Os solos em estudo, classificados como Cambissolo Ta Háptico Eutrófico vértico (Embrapa, 1999), estão localizados em Campos dos Goytacazes, no Estado do Rio de Janeiro (entre 41° 00' – 41° 30' W e 21° 00' – 21° 30' S), em uma área plana e uniforme, 12 m acima do nível do mar. O material de origem consiste de aluvial franco-argiloso, proveniente de sedimentos neogênicos. A média da precipitação ao longo dos anos em estudo foi de 1.080 mm ano⁻¹, a temperatura média anual de 24,5 °C e o clima é o Aw da classificação de Köppen.

Entretanto, as áreas se contrastam quanto ao manejo da cana-de-açúcar, ou seja, podem ser estudados dois casos de um longo tempo de cultivo. No primeiro deles, a cana é conduzida sem a utilização de queima da palha da cana-de-açúcar para o corte desde 1946 (“cana crua ou CC”) e no segundo caso, a aplicação anual de 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹ de vinhaça via fertirrigação por aspersão ocorreu a partir de 1966 (“com vinhaça ou CV”), totalizando, no momento da amostragem, em fevereiro de 2001, 55 e 35 anos de manejo, respectivamente. Para comparação, foram escolhidos talhões onde houve a queima da palha da cultura para a colheita (“cana queimada ou CQ”) e onde não foi aplicada vinhaça ao longo dos anos (“sem vinhaça ou SV”).

Na amostragem do solo, três parcelas de 0,05 ha constaram do delineamento inteiramente ao acaso para cada uma das quatro áreas em estudo. Para cada caso, o solo foi amostrado a duas profundidades (0,00 a 0,20 m e 0,20 a 0,40 m), coletando-se ao acaso, com trado de 5 cm de diâmetro, 20 amostras simples em cada parcela, que resultaram na composição de uma amostra composta por repetição.

A caracterização química do solo (Quadro 4) foi realizada previamente por Canellas et al. (2003).

Quadro 4- Caracterização química de solos e de AH sob longo tempo de cultivo com cana-de-açúcar

Manejo	Camada m	Variáveis ⁽¹⁾				
		pH	PCPLZ	CTC cmolc kg ⁻¹	C g kg ⁻¹	C _{HA} Mg ha ⁻¹
CC	0-0,20	6,7	3,1	15,0	22,34	2,55
	0,20-0,40	6,5	3,7	10,4	13,13	0,99
CQ	0-0,20	6,0	3,5	12,2	18,33	0,39
	0,20-0,40	5,9	3,3	11,0	15,71	0,28
CV	0-0,20	6,8	3,7	14,5	20,95	2,38
	0,20-0,40	6,6	4,2	10,1	11,81	0,47
SV	0-0,20	6,3	3,0	10,5	12,12	0,21
	0,20-0,40	6,1	3,3	9,4	10,90	0,13

⁽¹⁾ Variáveis: pH = relação solo:água igual a 1:2,5; PCPLZ = ponto de carga protônica líquida zero (Raij e Peech, 1972); CTC (acetato de amônio, pH=7,0); C e C_{AH} = teor no solo e nos ácidos húmicos, respectivamente.

Como os quatro talhões têm morfologia semelhante, pois fazem parte de área onde todas as outras práticas de manejo são uniformes (de acordo com os depoimentos dos proprietários entrevistados), estas áreas podem ser comparadas por diferenças induzidas por práticas de manejo em longo prazo, possibilitando esquematizar dois contrastes: cana queimada vs cana crua e com vinhaça vs sem vinhaça.

3.2. Isolamento e purificação dos ácidos húmicos

Os AH foram isolados usando-se NaOH 0,1 mol L⁻¹ sob atmosfera de N₂ (IHSS, 2006). Após agitação por 24 horas, o material foi centrifugado a 5.000g por 30 minutos. O sobrenadante foi coletado e o pH do extrato foi imediatamente ajustado a 1,5 com HCl 6 mol L⁻¹. Depois de 18 horas, a fração ácidos fúlvicos foi sifonada e descartada. O material remanescente (precipitado de AH) foi solubilizado em NaOH 0,05 mol L⁻¹, centrifugado a 5.000g por 10 minutos e o

sobrenadante descartado. A dissolução e a reprecipitação dos AH foi repetida por mais duas vezes. A seguir, o precipitado de AH foi solubilizado e permaneceu em HF+HCl 5 % por 48 horas, sendo a seguir centrifugado a 5.000 g. Os AH foram lavados com 200 mL de HCl 0,01 mol L⁻¹, centrifugados a 5.000 g. A seguir, o precipitado de AH foi lavado com água destilada até teste negativo para Cl⁻ (usando-se AgNO₃) e, depois, transferido para membranas de diálise de 10 mL (14 KDa, Thomas Sci.). Após a diálise (H₂O), os AH foram liofilizados e armazenados em dessecador.

3.3. Titulações redox

As titulações redox consistiram da oxidação dos AH estudados com I₂ (iodimetria), sob atmosfera inerte (Struyk e Sposito, 2001). Utilizou-se um frasco hermético (Figura 5), mantendo-se a temperatura do titulado a 25 °C por meio de fluxo de água contínuo, proporcionado pelo acoplamento do frasco de titulação a um equipamento de “banho termostatizado” (Microquímica[®] Banho MQBCT 99-20).

Ajustou-se a tampa do frasco para acomodar um eletrodo redox combinado (Analyser 6A05-GK AgCl, Ag || Pt), além de um tubo para entrada de argônio (Ar) e uma microbureta de 2 mL (Gilmont[®] GS-1200-A, com subdivisões de 2 µL), usando-se silicone para a vedação.

No preparo do titulado, adicionaram-se ao frasco de titulação 125 mL de solução tampão fosfato (Na₂HPO₄ . 0,05 mol L⁻¹ e NaH₂PO₄ . H₂O 0,05 mol L⁻¹) contendo KCl 0,05 mol L⁻¹ e, em seguida, ajustou-se o pH com HCl ou NaOH para pH 5,00 ou 7,00.

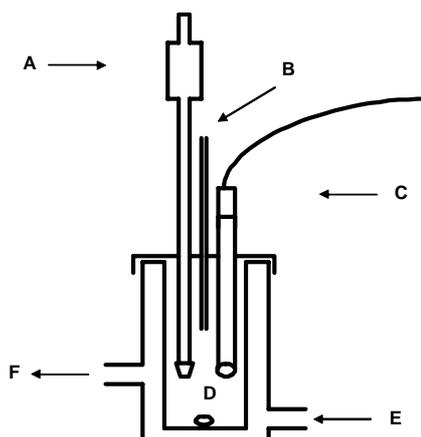
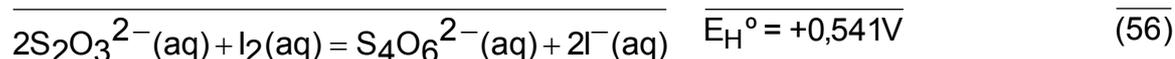


Figura 5- Esquema do equipamento de titulação redox. A: Microbureta; B: Tubo para entrada de Ar; C: Eletrodo de Pt acoplado ao eletrodo de referência AgCl, Ag; D: Agitador magnético; E e F: Entrada e saída de água a 25 °C, respectivamente.

A solução foi agitada magneticamente e borbulhada com Ar por 60 minutos para a depleção de O₂. Acrescentou-se AH à solução para obtenção de uma concentração em suspensão de 50 mg L⁻¹ (6,25 mg AH suspensos em 125 mL solução tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ com KCl 0,05 mol L⁻¹). Novamente, agitou-se e borbulhou-se a suspensão com Ar, durante 30 minutos. Em seguida, ajustou-se o pH da suspensão para 5,00 ou 7,00 com HCl ou NaOH para o início da titulação.

Para cada titulação, calibrou-se o pHmetro utilizando soluções tampões a pH 4 e pH 7. O eletrodo redox foi calibrado com solução tampão redox férrico-ferroso, preparada com sulfato ferroso amoniacal 0,100 mol L⁻¹, sulfato férrico amoniacal 0,100 mol L⁻¹ e H₂SO₄ 1,00 mol L⁻¹. A leitura da f.e.m._{cela} em 439±2 mV indicou o correto funcionamento do eletrodo (Light, 1972).

Padronizou-se a solução de I₂, para cada titulação, utilizando tiosulfato de sódio, de acordo com as reações propostas por Bard et al. (1985):



Nas titulações utilizaram-se incrementos de 2 µL de solução 0,025 mol kg⁻¹ de I₂ (mol kg⁻¹ = molinidade) com densidade conhecida e, após cada incremento de titulante, a solução foi agitada e borbilhada com Ar por mais 30 segundos para facilitar a homogeneização do sistema. Em seguida, registrou-se a leitura da f.e.m._{cela} após cada adição de titulante, sempre quando a variação no aparelho foi menor ou igual a 2,0 mV minuto⁻¹. O ponto final da titulação redox de AH foi atingido quando valores constantes de f.e.m._{cela} foram registrados após a adição de oxidante.

As curvas de titulação redox foram obtidas graficando-se os valores de f.e.m._{cela} (eixo das ordenadas) em função da COx dos AH (eixo das abscissas). O valor da COx foi determinado pelo número de mols de I₂ (aq) reduzidos a I⁻ (aq) na reação por unidade de massa de AH (mol_c kg⁻¹), usando-se a equação:

$$\text{mol}_c \text{ kg}^{-1} = \frac{2 \text{ mol}_c}{\text{mol I}_2} \times \frac{\text{Densidade Sol. de I}_2 \times \text{Molinidade Sol. de I}_2}{\text{Massa de AH}} \quad (57)$$

Determinou-se o ponto de inflexão de cada curva de titulação redox obtendo-se a segunda derivada da função usando o software Origin[®]. No ponto de inflexão, a f.e.m._{cela} foi estimada utilizando interpolação (Struyk e Sposito, 2001). Adicionalmente, realizaram-se titulações de amostras em branco, sem adição de AH.

Analisaram-se os dados obtidos com a titulação redox dos AH de acordo com Struyk e Sposito (2001). Os valores de força eletromotriz (f.e.m._{cela}), medidos durante as titulações redox, foram relacionados ao potencial formal do eletrodo (^FE_H) de acordo com a equação:

$$\text{f.e.m.}_{\text{cela}} = {}^F E_H (\text{HA}_{\text{Ox}}, \text{HA}_{\text{Red}}) - E^\circ_H (\text{AgCl}, \text{Ag}) \quad (58)$$

onde E_H[°] (AgCl, Ag) = 222 mV é o potencial padrão do eletrodo de referência (AgCl, Ag a 25 °C) relativo ao eletrodo padrão de hidrogênio e ^FE_H (HA_{ox}, HA_{red}) é o potencial formal de eletrodo da meia-reação AH_{Ox}, AH_{Red}, que correspondem,

respectivamente, às formas oxidada e reduzida de AH, de acordo com a reação de redução global:



No ponto de inflexão (Stumm e Morgan, 1996; Struyk e Sposito, 2001):

$$f.e.m._{cela} = {}^F E^{\circ}_H(AH_{Ox}, AH_{Red}) - (q/n) 0,05916 \text{ pH} - E^{\circ}_H(AgCl, Ag) \quad (60)$$

na qual, ${}^F E^{\circ}_H(AH_{ox}, AH_{red})$ indica o potencial formal padrão do eletrodo de AH.

A relação q/n indica o número de moles de prótons (q) por moles de elétrons (n) transferidos durante a oxidação de 1 mol de AH. Foi calculada utilizando-se os valores da $f.e.m._{cela}$, obtidos para dois valores de pH (5,0 e 7,0), por meio da equação:

$$\frac{q}{n} = \frac{\Delta f.e.m.}{\Delta \text{pH}} \cdot 0,05916 \quad (61)$$

onde, $\Delta f.e.m.$ é a variação da $f.e.m._{cela}$ por unidade log de variação do pH (ΔpH) no ponto de inflexão da titulação.

De posse dos valores da relação q/n e da $f.e.m._{cela}$ no ponto de inflexão calculou-se o ${}^F E^{\circ}_H$ para a meia reação redox (AH_{Ox}, AH_{Red}), usando-se a equação 60.

O ${}^F E^{\circ}_H$ de cada amostra de AH foi convertido na constante de equilíbrio condicional usando-se a seguinte relação (Stumm e Morgan, 1996):

$$\log K_c = \frac{{}^F E^{\circ}_H}{0,05916} \quad (62)$$

onde, K_c é a constante de equilíbrio condicional a 298 K, correspondendo à reação de redução genérica para um elétron transferido (Struyk e Sposito, 2001):



A variação de energia livre padrão de Gibbs (ΔG° , kcal mol⁻¹) para cada elétron transferido foi estimada pela expressão a seguir:

$$\Delta G^\circ = -nF E_H^\circ \quad (64)$$

na qual n é igual a 1 elétron e F é a constante de Faraday (23,061 kcal V⁻¹mol⁻¹).

O pe para o par redox AH_{Ox} , AH_{Red} foi obtido conforme a equação (Stumm e Morgan, 1996):

$$pe = \log K_C - (q/n) pH \quad (65)$$

3.3. Grupos funcionais

3.3.1. Grupos carboxílicos e fenólicos

A determinação dos grupos funcionais carboxílicos e fenólicos dos AH foi realizada de acordo com Schnitzer e Gupta (1965). Determinou-se a acidez total e a carboxílica experimentalmente e, por diferença, a acidez fenólica.

Para determinação da acidez total foram adicionados em um frasco Erlenmeyer de 125 mL, 100 mg de AH e 20 mL Ba(OH)₂ 0,125 mol L⁻¹. Simultaneamente foi preparada uma amostra em branco. O ar do frasco foi trocado por N₂ através do borbulhamento por 5 minutos e o sistema agitado por 24 horas à temperatura ambiente (25 °C). A seguir, a suspensão foi filtrada e o resíduo lavado com água destilada livre de CO₂ (água fervida e resfriada para 25 °C). O excesso de Ba(OH)₂ da suspensão foi titulado potenciométricamente com HCl 0,5 mol L⁻¹ até pH 8,4.

A extração da acidez carboxílica (teor de grupos COOH) foi realizada com acetato de cálcio e determinada por titulação com hidróxido de sódio. Em um frasco Erlenmeyer de 125 mL foram adicionados 100 mg de AH, 10 mL de Ca(OAc)₂ 1,0 mol L⁻¹ e 40 mL de água destilada livre de CO₂. Simultaneamente foi preparado o teste em branco. Sob atmosfera de N₂, o sistema foi agitado por 24 horas à temperatura ambiente. A seguir, a suspensão foi filtrada e o resíduo

lavado com água destilada livre de CO₂. O ácido acético produzido pela reação do acetato com o H⁺ do grupo carboxílico, foi titulado com NaOH 0,1 mol L⁻¹, previamente padronizado com biftalato de potássio, até pH 9,8.

3.3.2. Grupos quinonas

O teor de grupos quinonas nos AH foi estimado pelo método da redução a hidroquinona, usando-se o cloreto de estanho (II) em meio alcalino como redutor, conforme Schnitzer e Riffaldi (1972). Adicionaram-se ao frasco 20 mg de AH, 0,2 mL de etanol e 10 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹ sob agitação constante até a solubilização. Em seguida, foram adicionados 20 mL de NaOH 2,5 mol L⁻¹, 10 mL de SnCl₂ 6H₂O 0,05 mol L⁻¹ e o frasco foi fechado. Procedeu-se à reação por uma hora sob agitação constante e sob atmosfera inerte de N₂. O excesso do redutor (Sn²⁺) foi titulado potenciométricamente, usando-se o Cr₂O₇²⁻ como oxidante, a partir da solução titulante K₂Cr₂O₇ 0,05 mol L⁻¹.

3.3.3. Grupos semiquinonas

Os espectros de RPE foram obtidos à temperatura ambiente, usando um espectrômetro Bruker EMX 9 GHz, conforme Matin-Neto et al. (1994a, b). Para a obtenção da área do sinal foi utilizada a aproximação (Poole, 1967):

$$\text{Área} = I \times (\Delta H_{pp})^2 \quad (66)$$

na qual I é a intensidade do sinal e ΔH_{pp} é a largura do sinal, tomada de pico a pico. Para a determinação da CRLS utilizou-se o método do padrão secundário com um cristal de rubi e o padrão *strong pitch* da Bruker com concentração de radicais livres (spins g⁻¹) conhecida. As condições experimentais foram: potência das microondas = 0,1 mW, determinada por saturação de potência; frequência de modulação = 100 kHz; amplitude de modulação = 0,1 mT; constante de tempo = 2,56 ms; e tempo de conversão = 10,24 ms. As análises foram realizadas com, no mínimo, 8 varreduras por determinação.

3.3.4. Derivados químicos metilados e acetilados

Os AH isolados foram submetidos à derivação química por metilação e acetilação (Sachs et al., 2002). Os derivados acetilados foram obtidos após a reação com anidrido acético em presença de piridina sob agitação magnética contínua à temperatura ambiente, durante uma semana. O processo de metilação de AH foi conduzido com diazometano (CH_2N_2), produzido a partir do reagente N-metil-N-nitrosotolueno-*p*-sulfonamida em éter etílico, na presença de metanol. O procedimento de metilação dos AH foi repetido por três vezes, e finalizado quando a incorporação do diazometano aos AH foi completada, indicada pela coloração amarela do CH_2N_2 .

As reações de metilação e acetilação dos AH foram monitoradas por meio da espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF), entre as faixas de 400 cm^{-1} a 4.000 cm^{-1} . Os espectros foram obtidos usando-se pastilhas com 1 mg de AH em 100 mg de KBr, em um aparelho Shimadzu 83000 (Stevenson, 1994).

3.3.5. Resíduos de Ferro

A presença de resíduos de Fe nos AH foi detectada usando-se energia dispersiva de raios-X acoplado a um microscópio eletrônico de varredura (MEV-ESEM 962 – Zeiss). Obtiveram-se os seguintes espectros: geral (presença do elemento) e pontual (localização do elemento) do campo analisado nas amostras (Vidal-Torrado et al., 2006).

3.3.6. Voltametria cíclica

Foram obtidos voltamogramas cíclicos dos AH isolados dos solos sob cana cura e cana queimada. O experimento foi realizado usando-se um eletrodo de trabalho e um contra-eletrodo de Pt à temperatura ambiente (25°C). Os voltamogramas cíclicos dos AH se iniciaram a 0,0 V e foram varridos de - 2,0 V até 1,0 V versus AgCl, Ag. A taxa de varredura foi de $0,03\text{ V s}^{-1}$. As medidas realizaram-se em suspensão de 90 mg L^{-1} de AH por DMSO e solução de LiClO_4

0,003 mol L⁻¹ como eletrólito (Rusling e Suib, 1994). Os voltamogramas cíclicos foram obtidos usando um potenciostato modelo Autolab PGSTAT10. O instrumento estava conectado a unidade processadora para gravação dos dados. Um voltamograma cíclico da solução sem AH foi realizado anteriormente e posteriormente a cada medição.

A capacidade tampão redox foi estimada pela integração da área dos voltamogramas cíclicos (Stevenson, 1994).

3.5. Análises estatísticas

Estimaram-se o erro-padrão da média para cada variável experimental e as correlações de Pearson entre a capacidade de oxidação e a concentração de grupos funcionais dos AH. As estimativas dos coeficientes de correlação foram submetidas ao teste F, aos níveis de 1 e 5 % de probabilidade (Steel e Torrie, 1960).

4. RESULTADOS

4.1. Titulações redox

As curvas de titulação potenciométrica dos AH (Figuras 6 a 13) apresentaram um nítido ponto de inflexão, contendo a característica variação da f.e.m._{cela} com a depleção do redutor e adição de oxidante, além de uma região da curva de titulação com pequena variação da f.e.m._{cela}.

Os dados das titulações redox dos AH (Quadro 5) revelaram diminuição média de 40 mV na f.e.m._{cela} com o aumento do pH de 5,0 para 7,0.

Todos os AH isolados no presente trabalho, em sua reação de oxidação, transferiram ao I₂ (aq), aproximadamente um próton para cada três elétrons, que resultou, em média, em relação q/n igual a 0,33.

Os valores do $^{\text{F}}E_{\text{H}}^{\circ}$ para a semi-reação de redução dos AH variaram de 0,760 a 0,794 V e, em média, foram iguais a 0,773 V. Conseqüentemente, os valores estimados de K_c, ΔG° e p_{e_c} foram, também, semelhantes entre os AH (log K~ 13,1, p_{e_c} ~ 12,8 e ΔG° ~ -17,9 kcal mol⁻¹).

A origem dos AH também modificou a sua COx, que variou entre 3,88 e 4,39 mol_c kg⁻¹ nas titulações redox a pH 5,0 e de 5,35 a 7,89 mol_c kg⁻¹ a pH 7,0. A COx dos AH aumentou, em média, 64 % com a elevação do pH de 5 para 7.

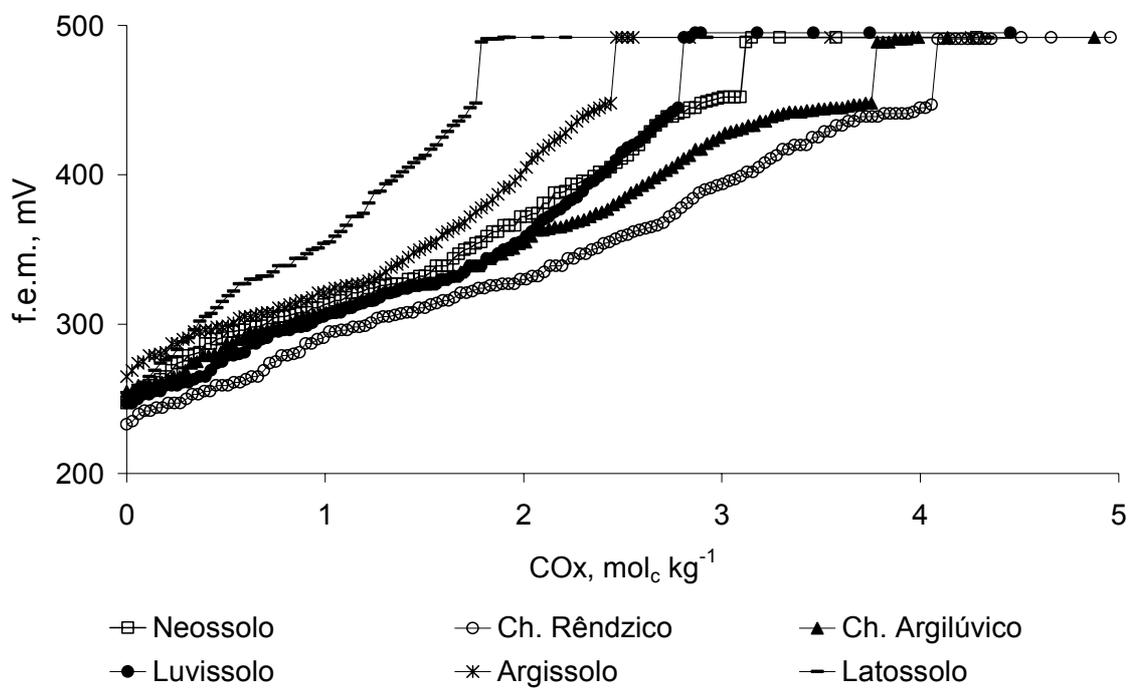


Figura 6- Titulações redox para 6,25 mg de ácido húmico suspensos em 125 mL de solução tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ a pH 5,00, contendo KCl 0,05 mol L⁻¹.

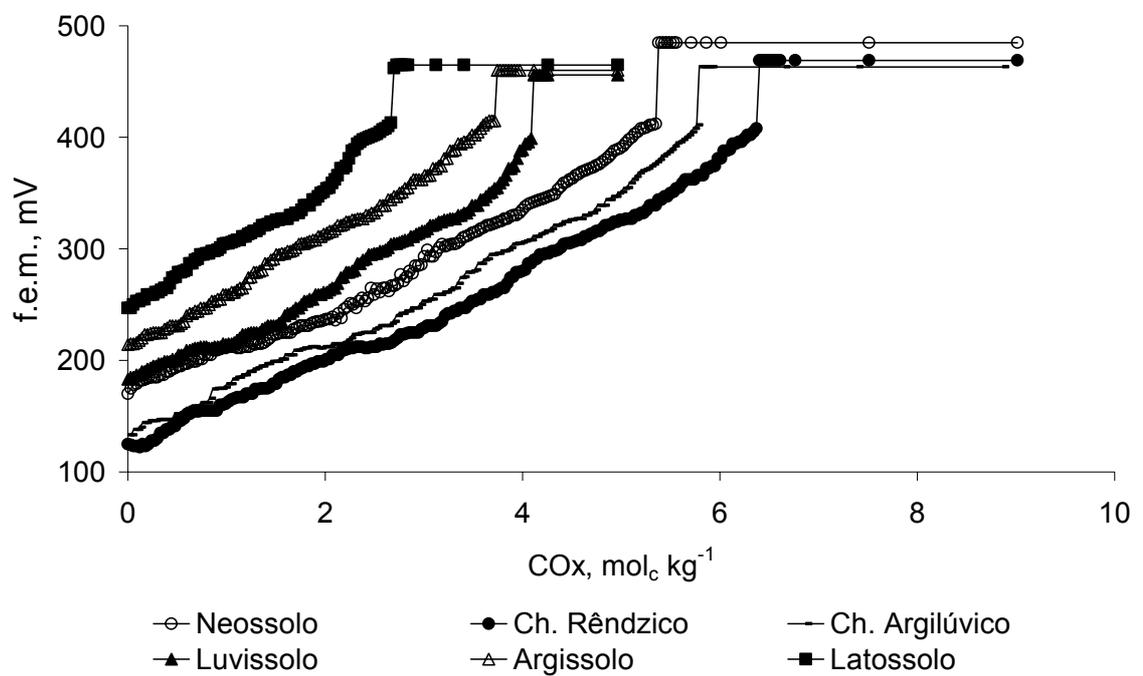


Figura 7- Titulações redox para 6,25 mg de ácido húmico suspensos em 125 mL de solução tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 7,00, contendo $\text{KCl } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

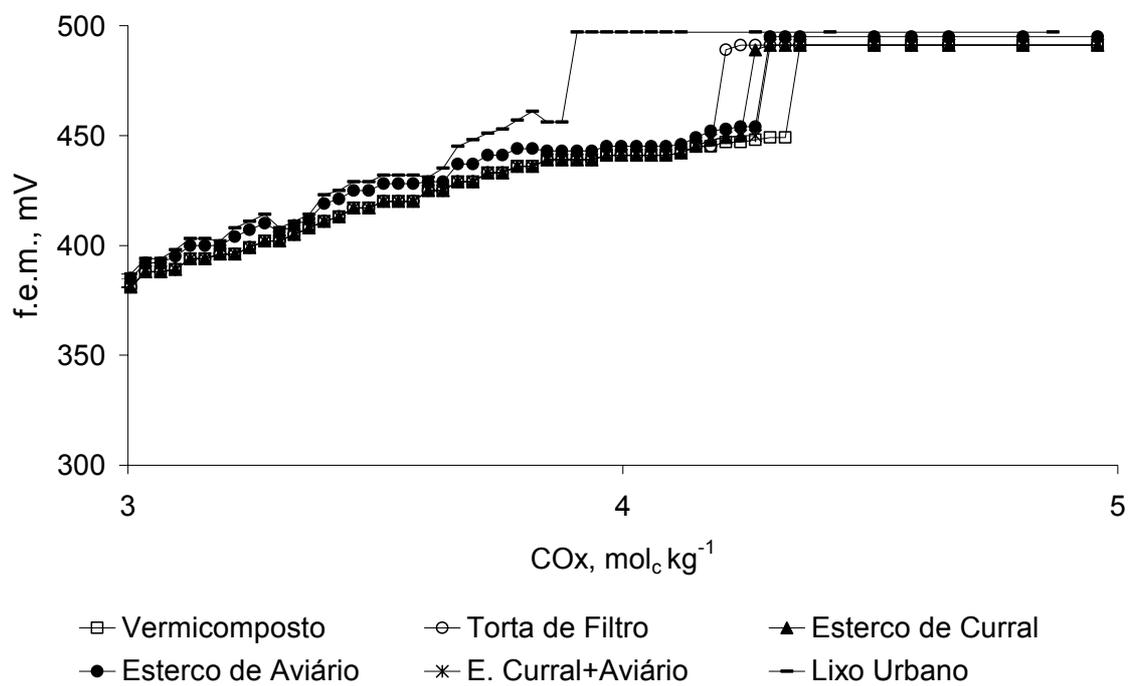


Figura 8- Títulações redox para 6,25 mg de ácido húmico suspensos em 125 mL de solução tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ a pH 5,00, contendo KCl 0,05 mol L⁻¹.

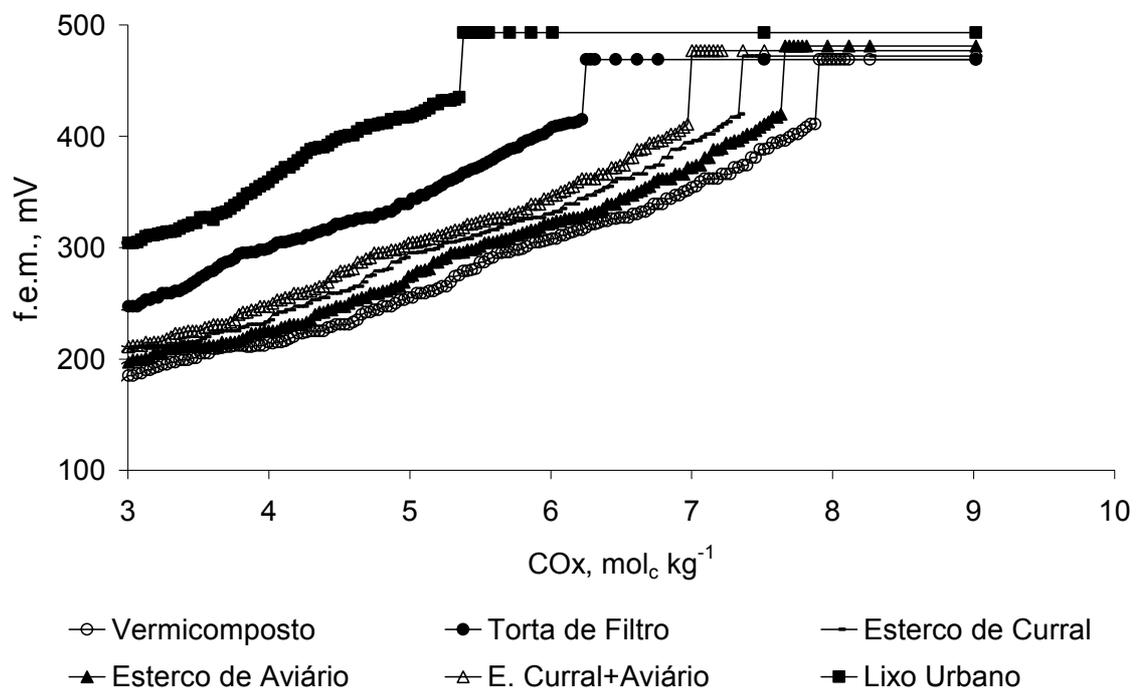


Figura 9- Títulações redox para 6,25 mg de ácido húmico suspensos em 125 mL de solução tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ a pH 7,00, contendo KCl 0,05 mol L⁻¹.

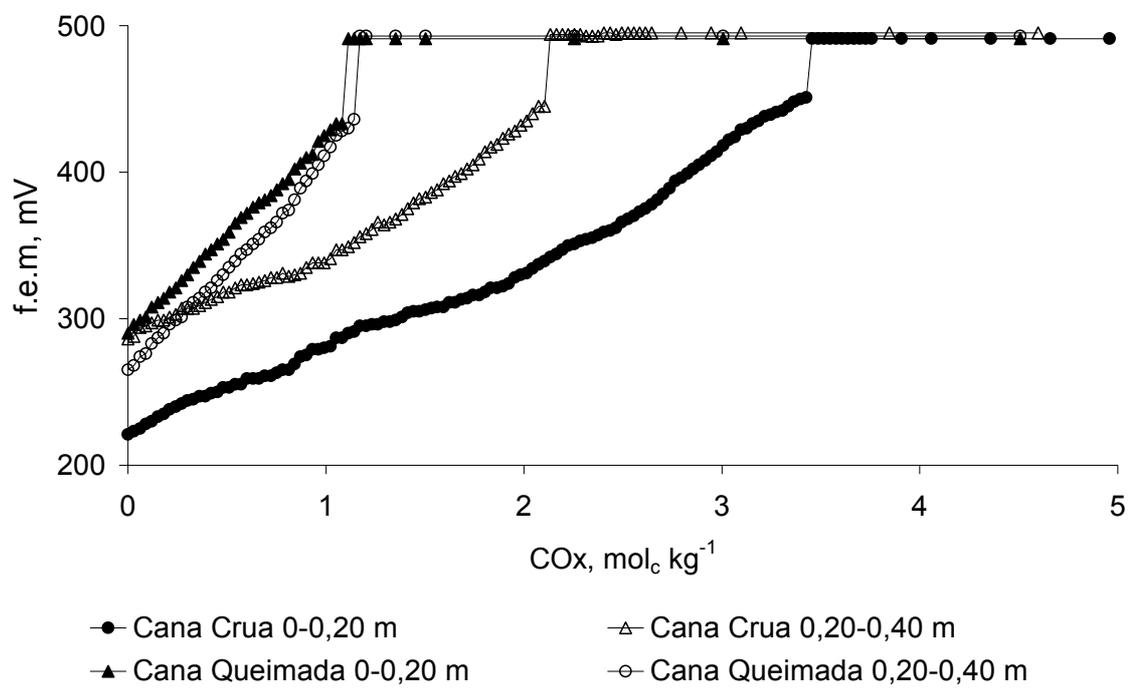


Figura 10- Titulações redox para 6,25 mg de ácido húmico suspensos em 125 mL de solução tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ a pH 5,00, contendo KCl 0,05 mol L⁻¹.

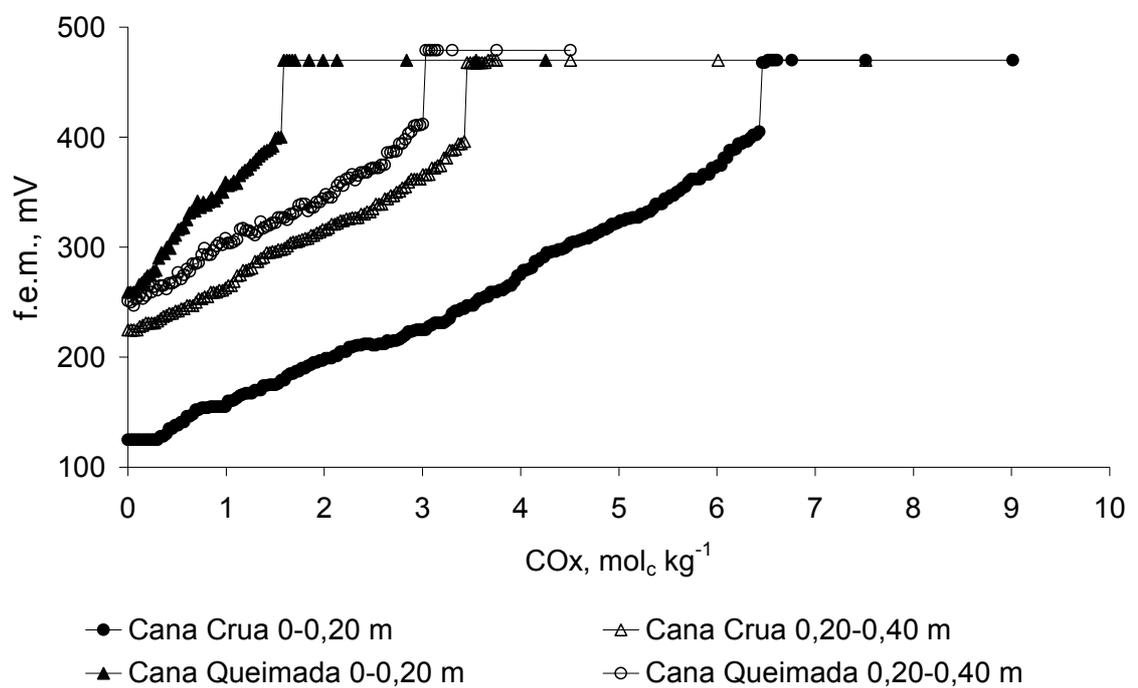


Figura 11- Titulações redox para 6,25 mg de ácido húmico suspensos em 125 mL de solução tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ a pH 7,00, contendo KCl 0,05 mol L⁻¹.

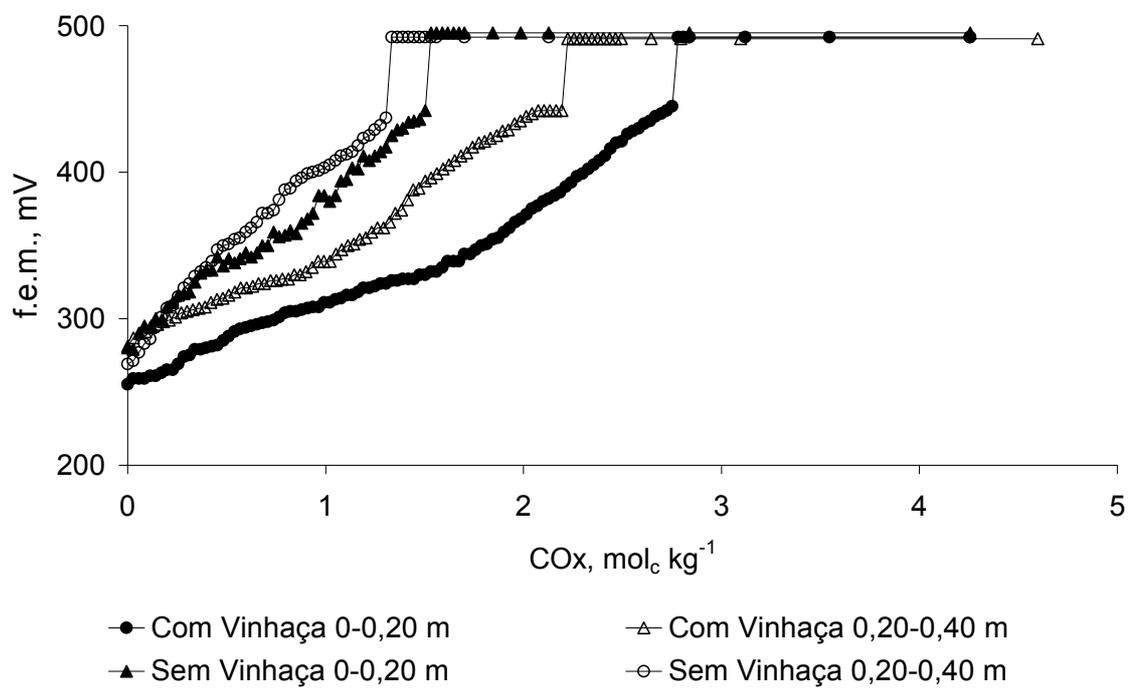


Figura 12- Titulações redox para 6,25 mg de ácido húmico suspensos em 125 mL de solução tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ a pH 5,00, contendo KCl 0,05 mol L⁻¹.

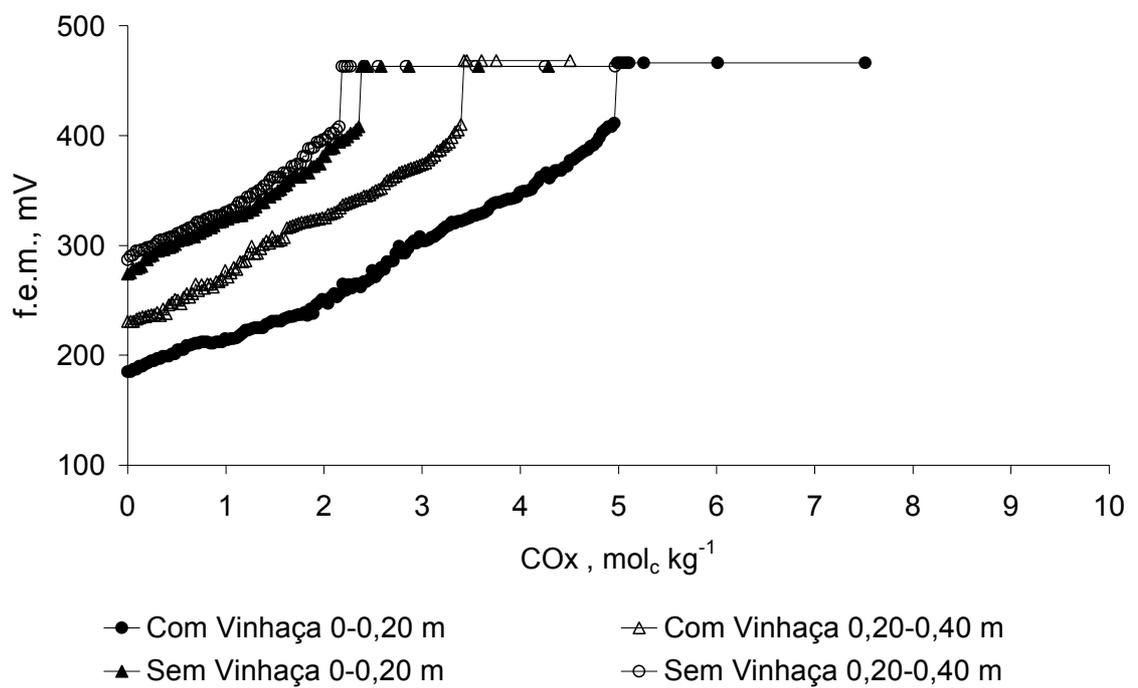


Figura 13- Titulações redox para 6,25 mg de ácido húmico suspensos em 125 mL de solução tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 7,00, contendo KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

Quadro 5- Dados da titulação potenciométrica de ácidos húmicos

Amostra	Dados da Titulação Potenciométrica ⁽¹⁾								
	Cox		f.e.m. _{cela}		q/n	F E ^o _H	log K _c	pe _c	ΔG ^o
	pH 5	pH7	pH 5	pH 7					
--- mol _c kg ⁻¹ ---		---- mV ----				V	kcal mol ⁻¹		
Neossolo	3,12±0,03	5,35±0,08	450±4	410±3	0,34	0,772	13,0	10,7	-17,80
Ch. Rêndz.	4,18±0,04	6,43±0,06	458±5	419±2	0,33	0,778	13,1	10,8	-17,93
Ch. Argilúv.	3,76±0,04	5,78±0,05	451±4	412±4	0,33	0,771	13,0	10,7	-17,77
Luvissolo	2,80±0,05	4,11±0,10	455±2	417±4	0,32	0,772	13,0	10,8	-17,80
Argissolo	2,43±0,04	3,74±0,08	457±3	418±4	0,33	0,777	13,1	10,8	-17,91
Latossolo	1,75±0,06	2,69± 0,07	453±6	413±7	0,34	0,775	13,1	10,7	-17,87
Vermicomp.	4,39± 0,05	7,89±0,09	451±3	411±5	0,34	0,773	13,1	10,7	-17,82
T. Filtro	4,20±0,04	6,23±0,06	459±5	420±3	0,33	0,779	13,2	10,9	-17,87
E. Curral	4,25±0,07	7,35±0,09	460±4	421±5	0,33	0,780	13,2	10,9	-17,98
E. Aviário	4,35±0,05	7,64±0,08	465±2	425±4	0,34	0,787	13,3	10,9	-18,15
Curr.+Aviário	4,28±0,06	6,99±0,09	455±2	415±6	0,34	0,777	13,1	10,8	-17,92
Lixo Urb.	3,88±0,05	5,35±0,05	472±3	432±4	0,34	0,794	13,4	11,0	-18,31
CC 0-20	3,44±0,06	6,44±0,06	444±4	405±7	0,33	0,764	12,9	10,6	-17,61
CC 20-40	2,02±0,04	3,42±0,04	440±4	401±3	0,33	0,760	12,8	10,5	-17,51
CQ 0-20	1,01±0,05	1,64±0,08	445±3	406±5	0,33	0,765	12,9	10,6	-17,63
CQ 20-40	1,22±0,05	3,02±0,07	451±6	410±7	0,35	0,776	13,1	10,7	-17,88
CV 0-20	2,68±0,06	4,99±0,06	457±3	417±6	0,34	0,779	13,2	10,8	-17,96
CV 20-40	2,00±0,09	3,42±0,05	449±5	409±7	0,34	0,771	13,0	10,7	-17,78
SV 0-20	1,60±0,09	2,37±0,06	451±5	412±6	0,33	0,771	13,0	10,7	-17,77
SV 20-40	1,28±0,08	2,19±0,08	453±7	413±4	0,34	0,775	13,1	10,7	-17,87

⁽¹⁾ As médias dos valores determinados experimentalmente para a capacidade de oxidação (COx) e a força eletromotriz da cela (f.e.m._{cela}) estão acompanhadas pelo seu erro padrão. As demais variáveis foram calculadas, como descrito na seção Material e Métodos.

Os AH originados dos resíduos orgânicos apresentaram, em média, valores de COx, a pH 5 e 7, respectivamente, 41 e 48 % superiores aos isolados de solos (Figura 14).

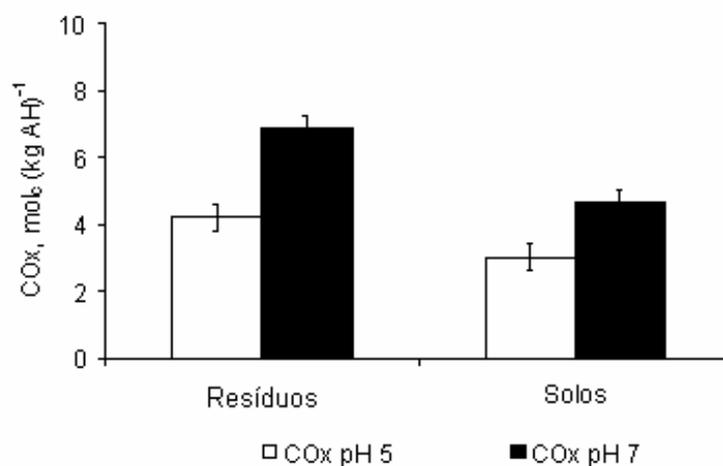


Figura 14- Capacidade de oxidação (COx) dos ácidos húmicos isolados de resíduos orgânicos e de solos.

Comparando-se o processo de obtenção dos resíduos orgânicos estudados, observou-se que a vermicompostagem resultou em AH com COx, a pH 7,0, superior em relação aos isolados de compostos orgânicos (Figura 15). A vermicompostagem foi, em média, 5 e 17 % (a pH 5 e 7) na COx dos AH em relação à compostagem da matéria orgânica. Isoladamente, os esterco de curral, de aviário ou a sua mistura, originaram compostos em que os AH extraídos, apresentaram COx pH 7,0 maior (26 %) que a dos AH obtidos pela compostagem de rejeitos como a torta de filtro e o lixo urbano. Nas titulações a pH 5,0 esta diferença não foi observada (Figura 16). O subproduto da indústria da cana resultou em AH com maior poder redutor que o resíduo de lixo urbano e que o esterco de curral.

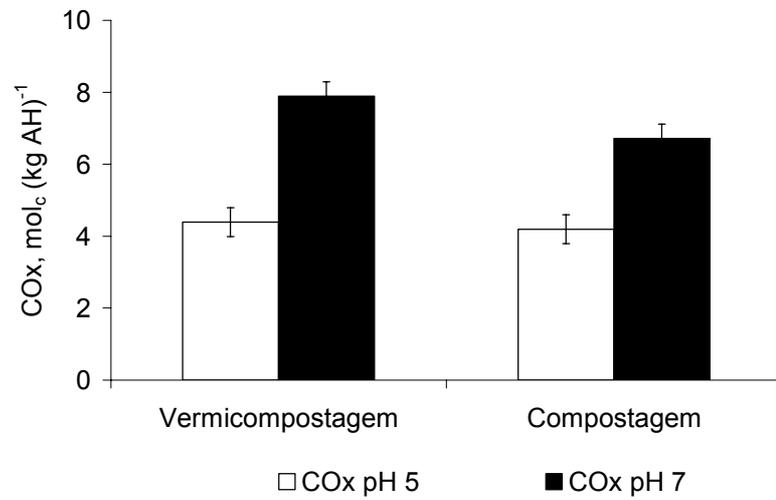


Figura 15- Capacidade de oxidação (COx) dos ácidos húmicos isolados de resíduos vermicompostados ou de compostados.

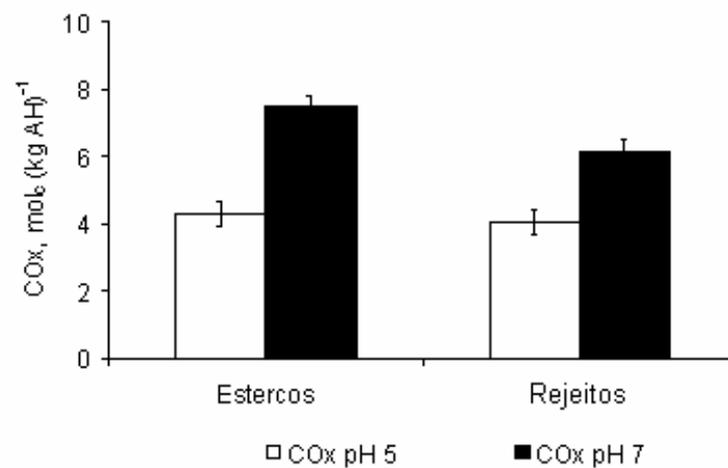


Figura 16- Capacidade de oxidação (COx) dos ácidos húmicos isolados de resíduos orgânicos obtidos a partir de esterco e de rejeitos.

A COx dos AH permitiu separar os AH isolados de solos com relação ao grau de intemperismo. Classes de solos menos intemperizados apresentaram maior COx dos AH (Figura 17). Solos com predominância caulínica em sua mineralogia apresentaram-se com menor quantidade de elétrons transferíveis.

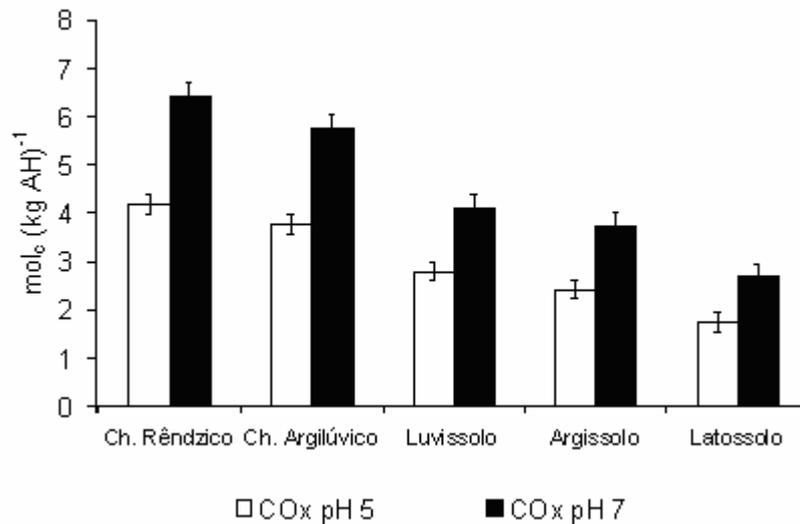


Figura 17- Capacidade de oxidação (COx) dos ácidos húmicos isolados de solos de uma seqüência de intemperismo.

Em média, os incrementos na COx dos AH obtidos da área de cana-de-açúcar manejada sem a queima na colheita sobre o solo cultivado com cana queimada foram de 240 e de 292 % (0-0,20 m), e de 65 e de 13 % (0,20-0,40 m), para as titulações a pH 5 e a pH 7, respectivamente (Figuras 18 e 19).

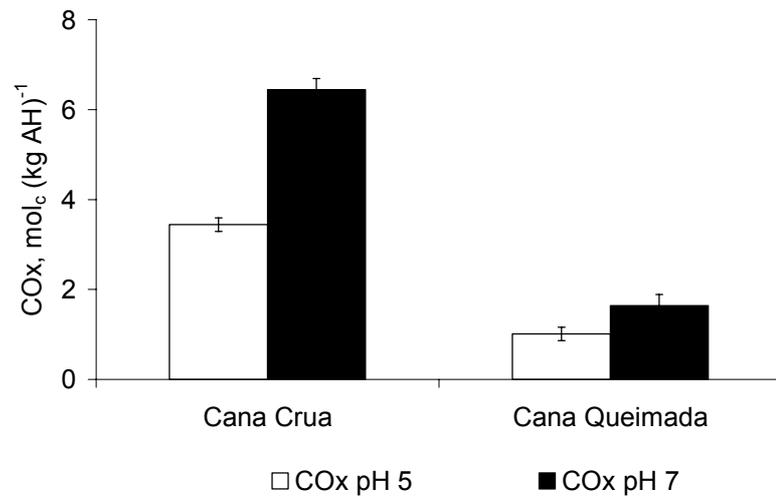


Figura 18- Capacidade de oxidação (COx) dos ácidos húmicos isolados da camada 0-0,20 m de um Cambissolo cultivado por longo tempo com cana-de-açúcar colhida com a preservação da palha ou usando a queima.

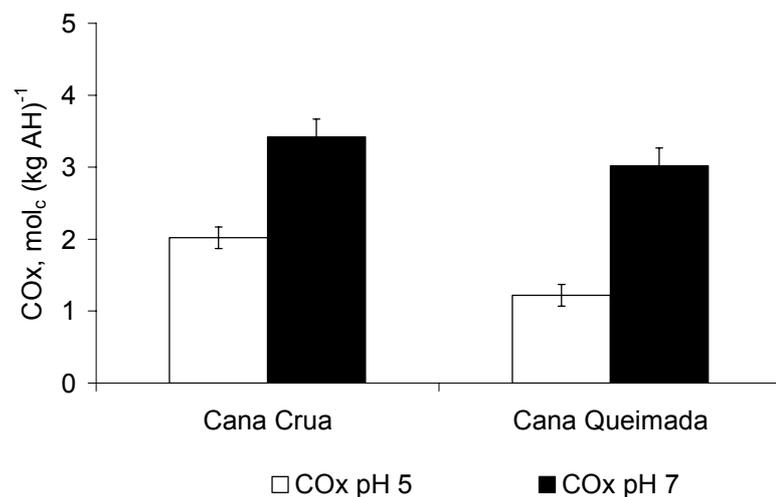


Figura 19- Capacidade de oxidação (COx) dos ácidos húmicos isolados da camada 0,20-0,40 m de um Cambissolo cultivado por longo tempo com cana-de-açúcar colhida com a preservação da palha ou usando a queima.

De forma geral, o comportamento da COx dos AH observado para as áreas com deposição da palhada, foi também verificado para a adubação orgânica com vinhaça. Os incrementos na COx dos AH obtidos da área de cana-de-açúcar adubadas com vinhaça em relação aos da área sem aplicações, foram de 67 e de 110 % (0-0,20 m), para as titulações a pH 5 e a pH 7, respectivamente. Nas amostras retiradas da profundidade de 0,20 a 0,40 m, a variação foi de 56 % para ambos os valores de pH da titulação (Figuras 20 e 21).

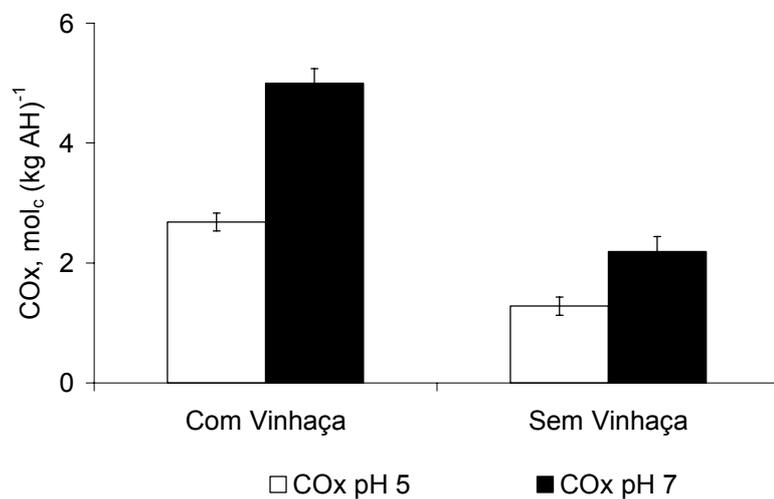


Figura 20- Capacidade de oxidação (COx) dos ácidos húmicos isolados da camada 0-0,20 m de um Cambissolo cultivado por longo tempo com cana-de-açúcar adubada ou não com vinhaça.

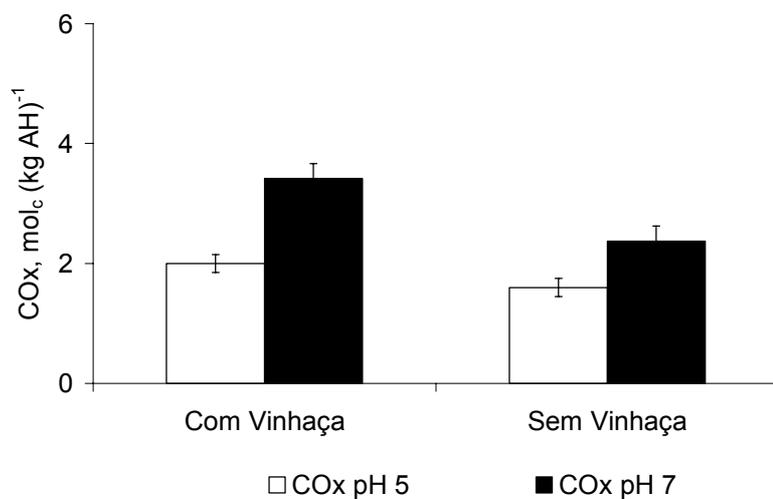


Figura 21- Capacidade de oxidação (COx) dos ácidos húmicos isolados da camada 0,20-0,40 m de um Cambissolo cultivado por longo tempo com cana-de-açúcar adubada ou não com vinhaça.

4.3. Grupos funcionais

As modificações da COx dos AH estudados em relação a sua origem foram acompanhadas por alterações nas concentrações de grupos funcionais (Quadro 6).

Quadro 6- Grupos funcionais dos ácidos húmicos

Amostra	Grupos funcionais			
	Carboxílicos	Fenólicos	Quinonas	Semiquinonas
	----- cmol _c kg ⁻¹ -----			(x10 ¹⁷) spins g ⁻¹
Neossolo	275±3,41	151±2,06	90±0,77	2,13±0,06
Ch. Rêndz.	290±2,88	165±2,11	74±0,82	2,56±0,06
Ch. Argiluv.	190±3,01	129±2,80	71±0,61	2,06±0,07
Luvissole	210±2,55	142±2,61	73±0,92	0,88±0,03
Argissolo	345±2,76	161±1,99	55±0,88	0,63±0,07
Latossolo	108±3,14	55±1,72	47±0,64	0,10±0,06
Vermicomp.	304±2,53	385±2,87	105±0,96	3,13±0,09
T. Filtro	351±3,11	294±1,54	94±0,84	2,53±0,06
E. Curral	299±2,39	320±1,82	99±0,91	2,89±0,08
E. Aviário	318±3,08	335±2,01	104±0,98	3,01±0,08
Curr.+Aviá.	302±2,15	310±1,77	101±0,89	2,67±0,07
Lixo Urb.	322±2,61	98±0,89	88±0,78	1,95±0,06
CC 0-20	477±2,09	270±1,84	85±0,90	2,49±0,05
CC 20-40	453±2,83	129±1,23	54±0,44	0,52±0,07
CQ 0-20	207±3,25	79±1,35	43±0,36	0,11±0,08
CQ 20-40	348±3,70	95±1,81	48±0,58	0,44±0,08
CV 0-20	460±2,33	262±1,93	77±1,02	1,50±0,09
CV 20-40	448±2,99	144±1,87	59±0,97	0,83±0,10
SV 0-20	215±2,62	84±2,38	51±0,85	0,36±0,08
SV 20-40	349±3,22	101±1,67	55±0,78	0,38±0,07

⁽¹⁾ As médias dos valores determinados experimentalmente estão acompanhadas pelo seu erro padrão.

A correlação entre a COx e a concentração de grupos funcionais semiquinonas (Figuras 22 e 23), quinonas (Figuras 24 e 25) e fenólicos (Figuras 26 e 27) dos AH foi positiva e significativa ($P \leq 0,01$). Não se verificou, entretanto, correlação com a concentração de grupos carboxílicos (Figuras 28 e 29).

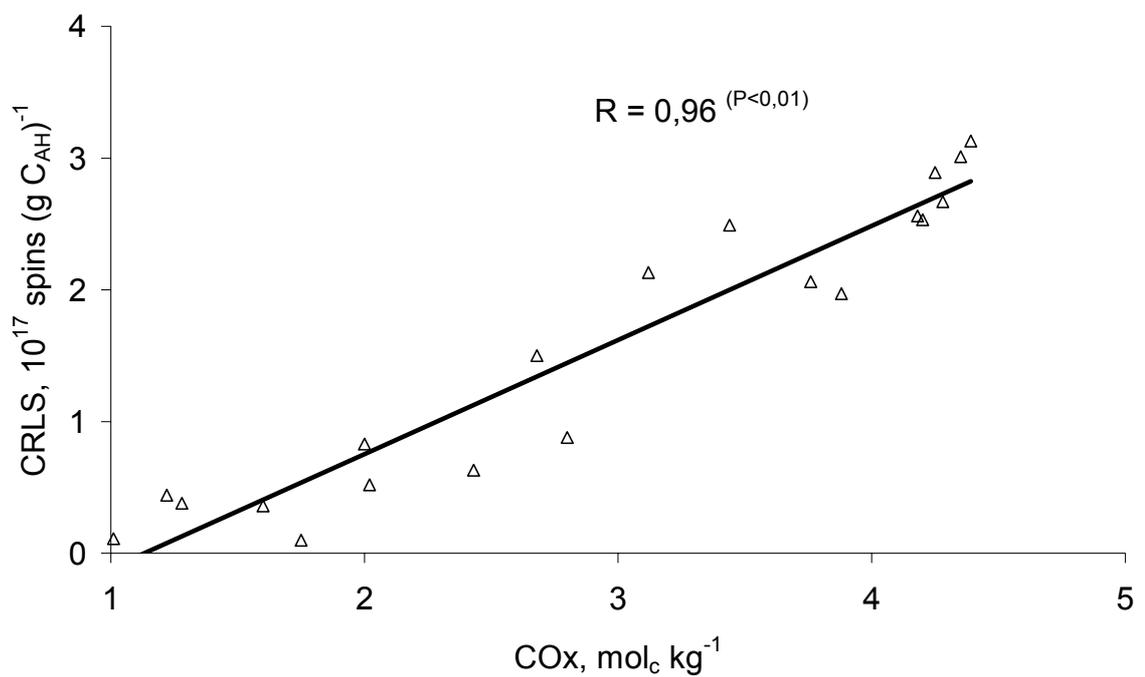


Figura 22- Correlação linear de Pearson entre a capacidade de oxidação (COx) a pH 5,0 e a concentração de radicais livres tipo semiquinonas (CRLS) dos ácidos húmicos.

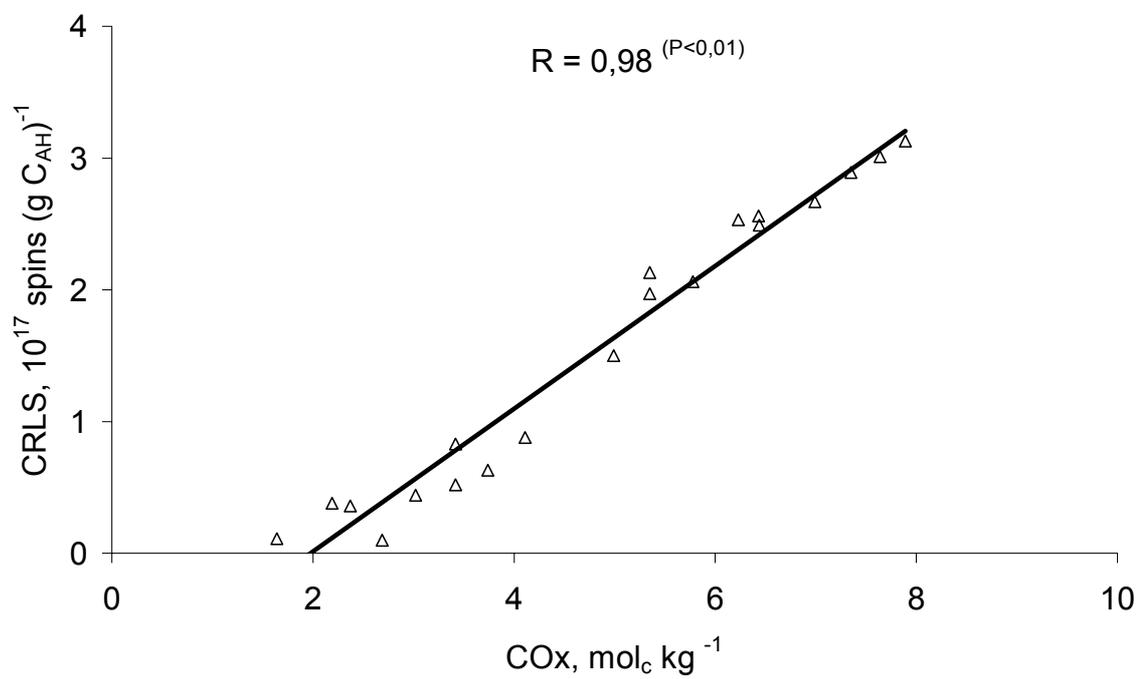


Figura 23- Correlação linear de Pearson entre a capacidade de oxidação (COx) a pH 7,0 e a concentração de radicais livres tipo semiquinonas (CRLS) dos ácidos húmicos.

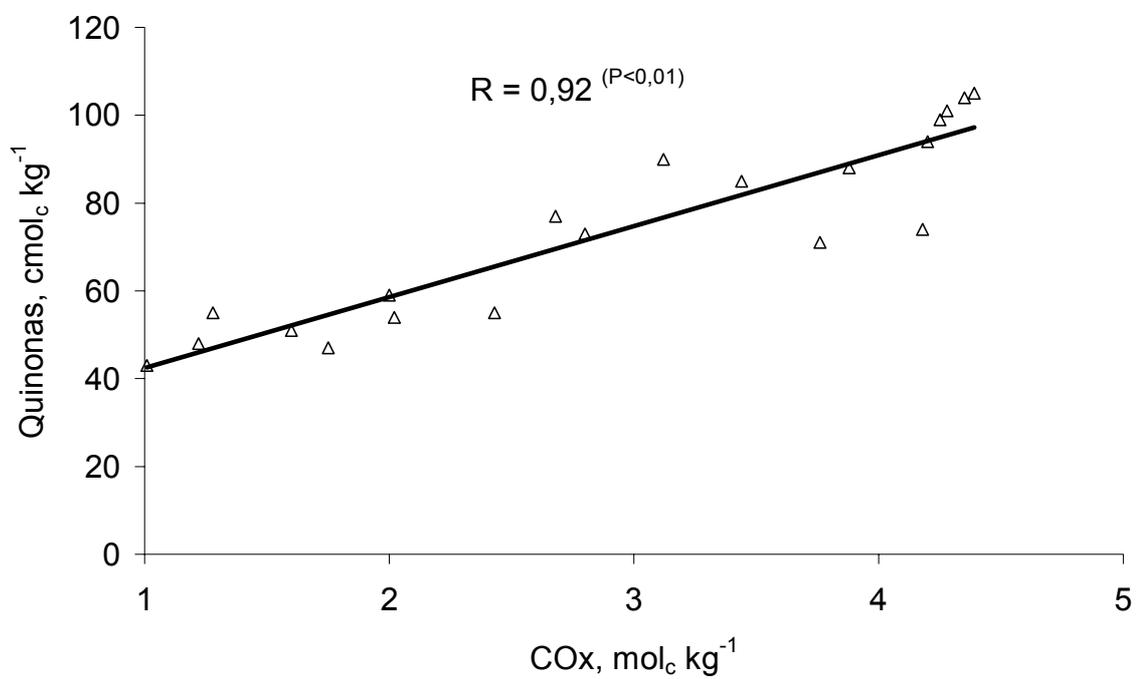


Figura 24- Correlação linear de Pearson entre a capacidade de oxidação (COx) a pH 5,0 e a concentração de grupos quinonas dos ácidos húmicos.

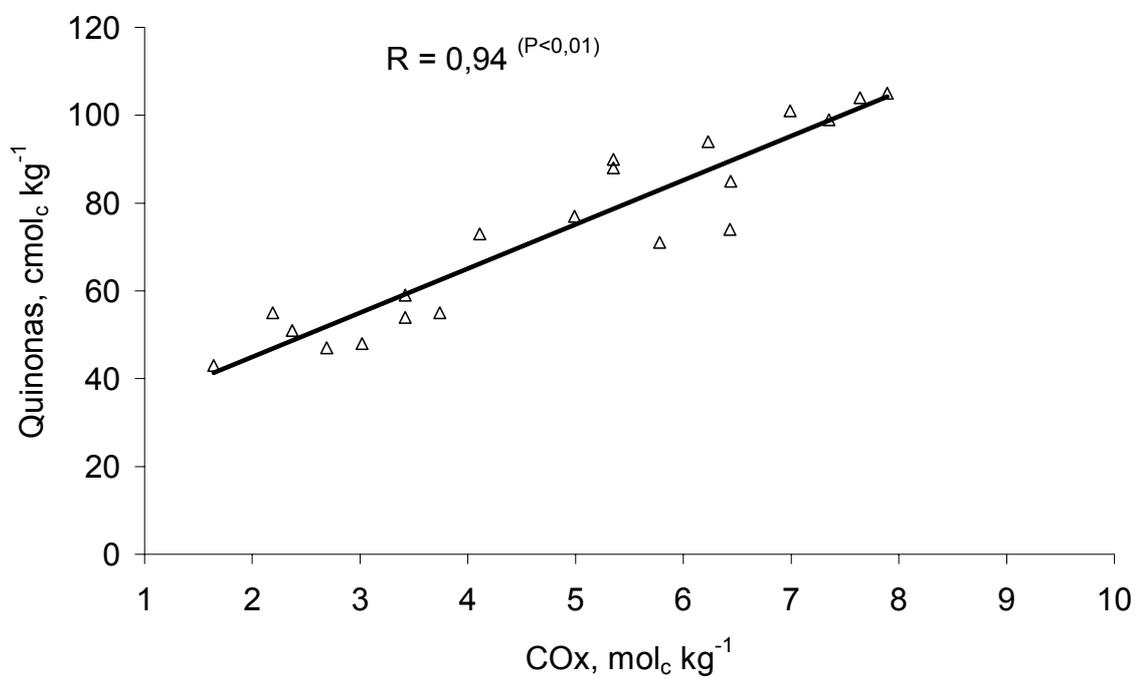


Figura 25- Correlação linear de Pearson entre a capacidade de oxidação (COx) a pH 7,0 e a concentração de grupos quinonas dos ácidos húmicos.

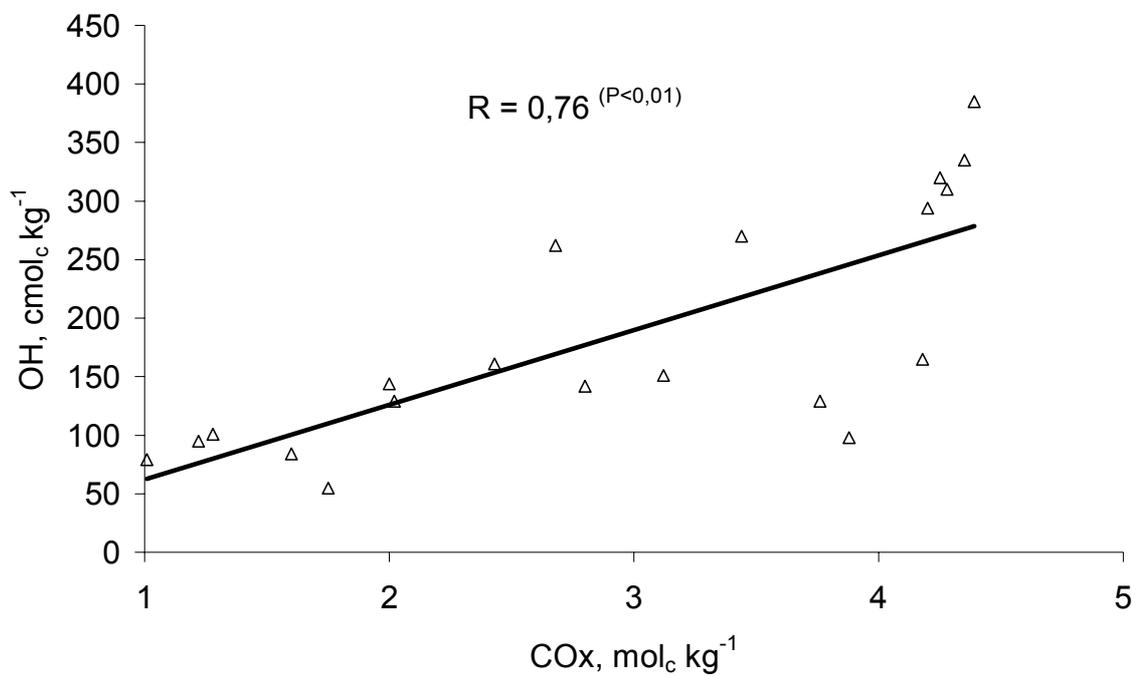


Figura 26- Correlação linear de Pearson entre a capacidade de oxidação (COx) a pH 5,0 e a concentração de grupos fenólicos (OH) dos ácidos húmicos.

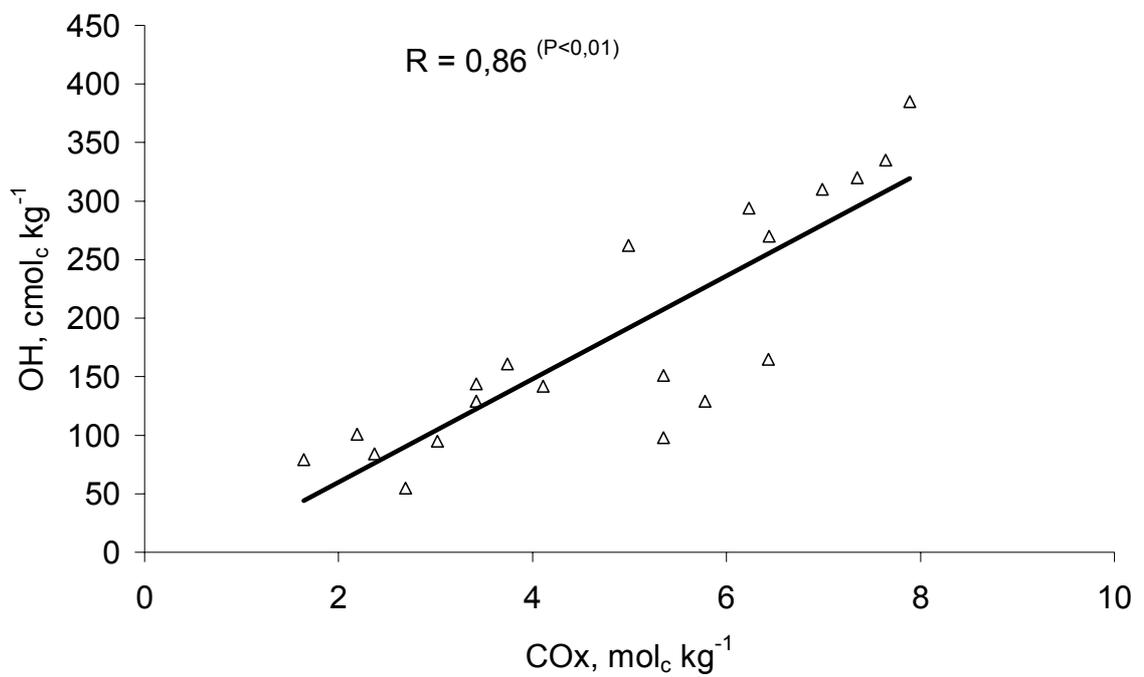


Figura 27- Correlação linear de Pearson entre a capacidade de oxidação (COx) a pH 7,0 e a concentração de grupos fenólicos (OH) dos ácidos húmicos.

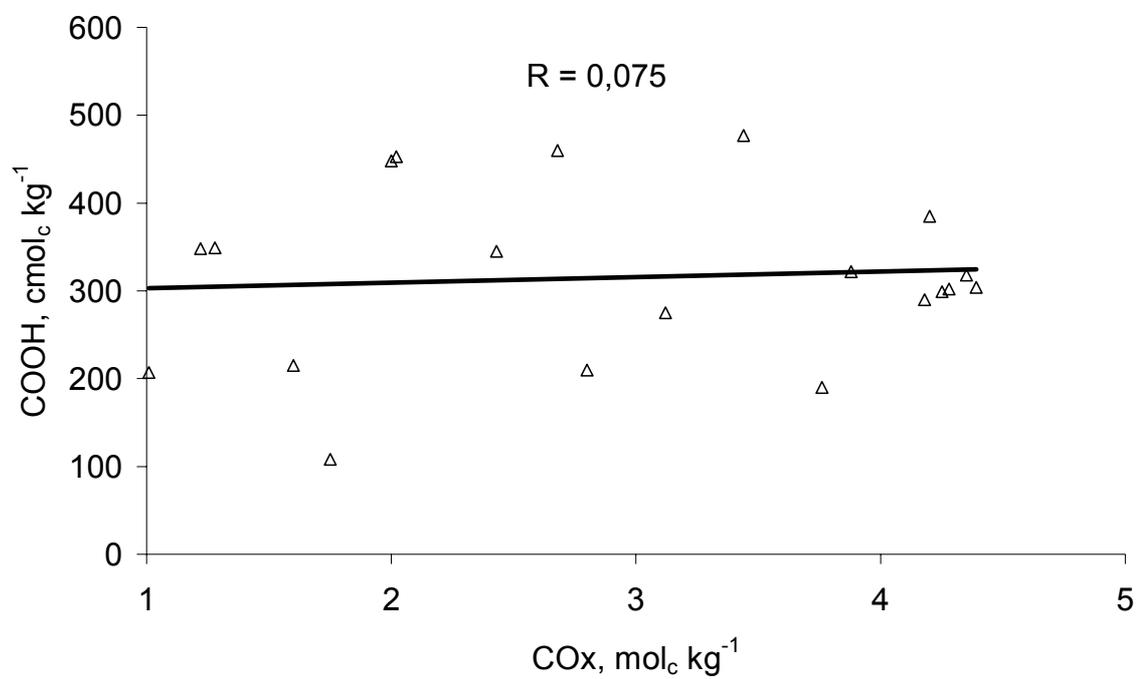


Figura 28- Correlação linear de Pearson entre a capacidade de oxidação (COx) a pH 5,0 e a concentração de grupos carboxílicos (COOH) dos ácidos húmicos.

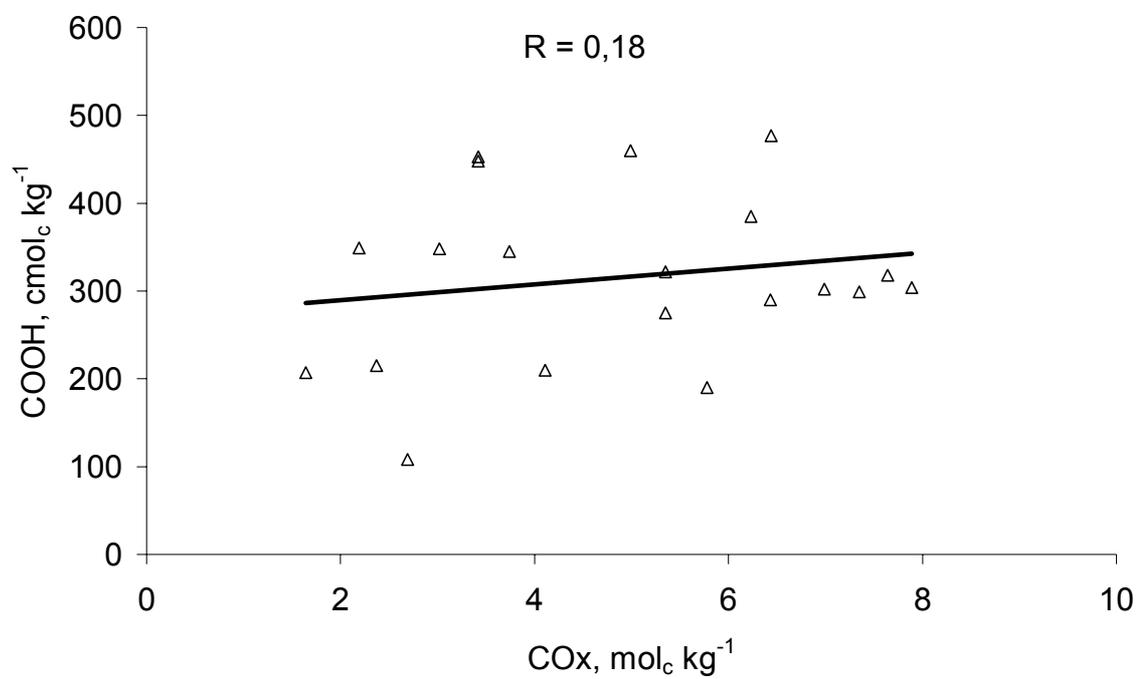


Figura 29- Correlação linear de Pearson entre a capacidade de oxidação (COx) a pH 7,0 e a concentração de grupos carboxílicos (COOH) dos ácidos húmicos.

4.2.1. Derivados metilados e acetilados

As curvas de titulação potenciométrica foram drasticamente modificadas pela metilação e a acetilação dos AH (Figuras 30 a 33). Ambos os processos de derivação química promoveram decréscimos similares nas COx dos AH e, em média, reduziram-na em 94 %.

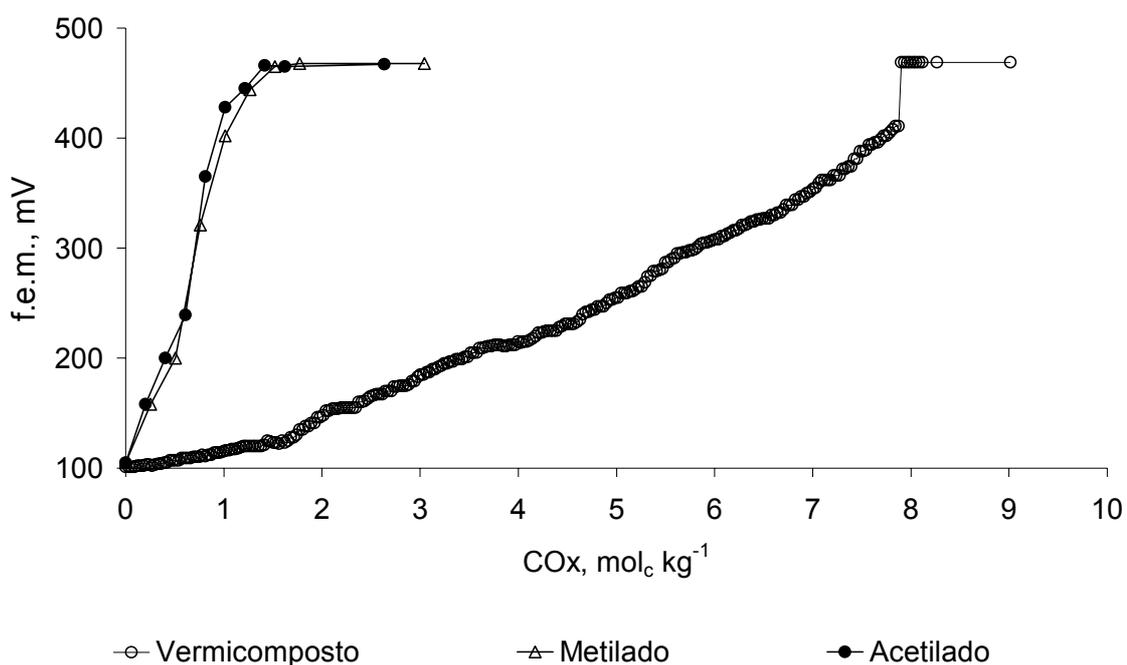


Figura 30- Titulações redox para 6,25 mg de ácido húmico e para 6,25 mg de seus derivados obtidos por metilação e acetilação, suspensos em 125 mL de solução tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ a pH 7,00, contendo KCl 0,05 mol L⁻¹.

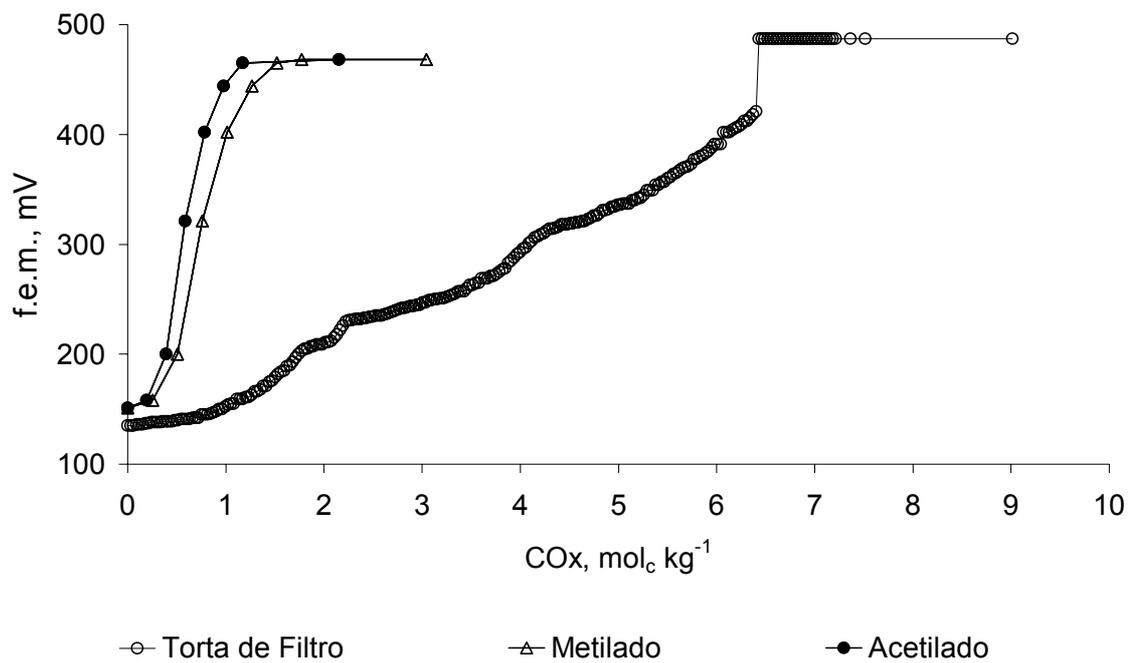


Figura 31- Titulações redox para 6,25 mg de ácido húmico e para 6,25 mg de seus derivados obtidos por metilação e acetilação, suspensos em 125 mL de solução tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ a pH 7,00, contendo KCl 0,05 mol L⁻¹.

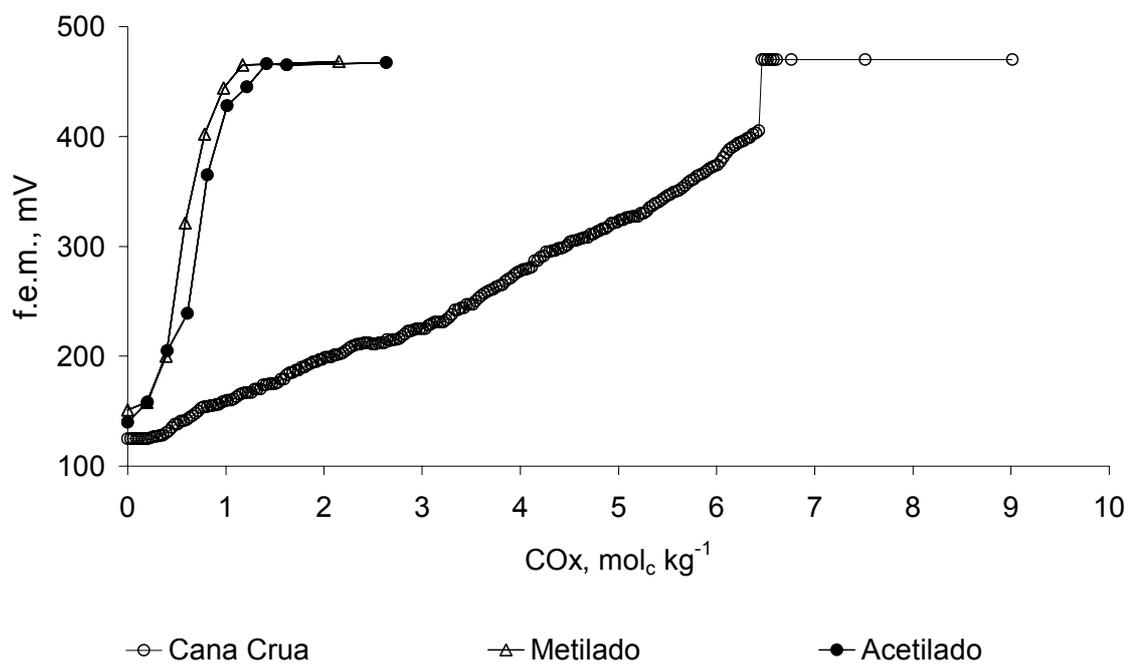


Figura 32- Titulações redox para 6,25 mg de ácido húmico e para 6,25 mg de seus derivados obtidos por metilação e acetilação, suspensos em 125 mL de solução tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ a pH 7,00, contendo KCl 0,05 mol L⁻¹.

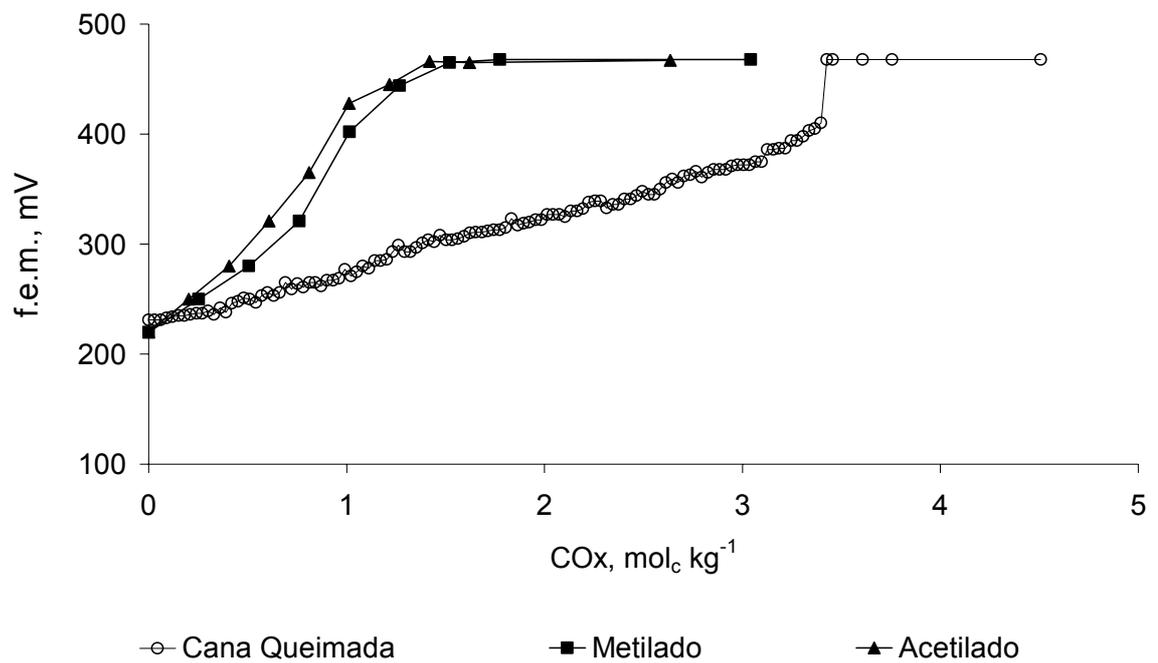


Figura 33- Titulações redox para 6,25 mg de ácido húmico e para 6,25 mg de seus derivados obtidos por metilação e acetilação, suspensos em 125 mL de solução tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ a pH 7,00, contendo KCl 0,05 mol L⁻¹.

4.2.2. Resíduos de ferro

A presença de resíduos de Fe nas amostras de AH foi detectada por meio da microscopia eletrônica de varredura acoplada à energia dispersiva de Raio-X (Figura 34).

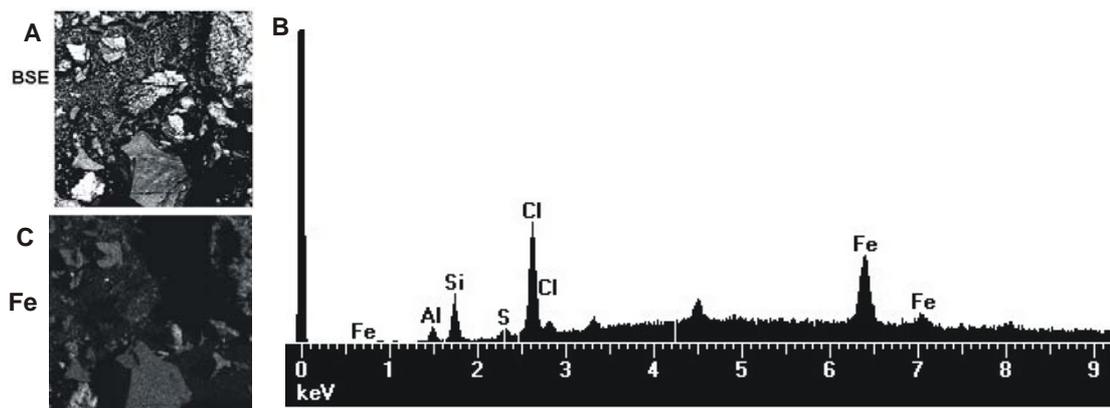


Figura 34- Presença de ferro em ácido húmico (AH) isolado de vermicomposto obtida por microscopia eletrônica de varredura; **(A)** Imagem em *backscattered* elétrons (BSE) da amostra de AH; **(B)** Espectro obtido por microscopia analítica, utilizando detector de energia dispersiva de raio X, indicando a presença de ferro no AH. **(C)** Distribuição do ferro (Fe) na amostra de AH.

4.2.3. Voltamogramas cíclicos

Os voltamogramas cíclicos diferiram-se quantitativa e qualitativamente de acordo com a origem dos AH. Os manejos do solo sob cana-de-açúcar submetida ou não à queima, pois os AH isolados de cana crua, apresentaram dois pares redox, enquanto nos AH de cana queimada só apresentaram um par redox. As amostras de AH estudadas apresentaram voltamogramas cíclicos do tipo quase-reversível (Rusling e Suib, 1994), ou seja, que não apresentam potenciais coincidentes de oxidação e redução (Figuras 35 a 38).

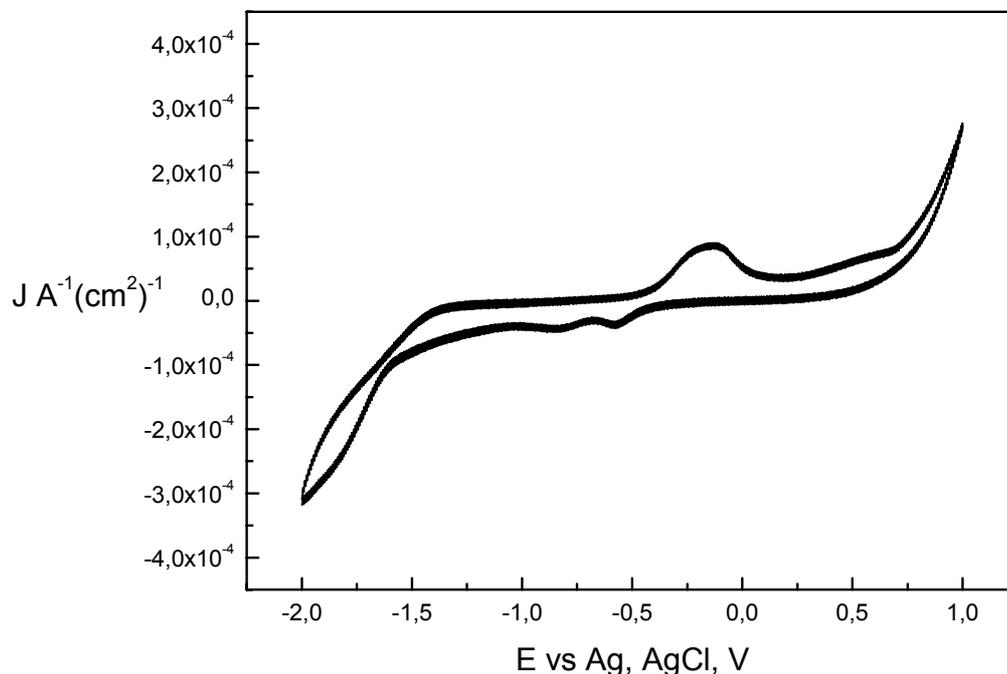


Figura 35- Voltamogramas cíclicos de ácidos húmicos isolados da camada 0-0,20 m de um Cambissolo sob cana-de-açúcar com longo tempo de preservação do palhço.

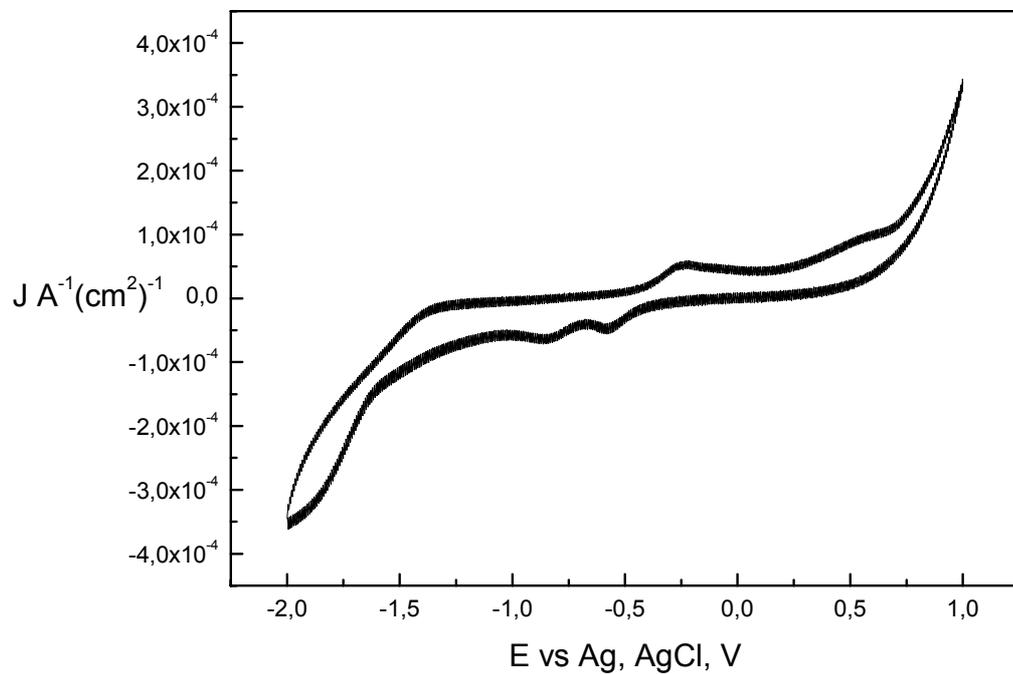


Figura 36- Voltamogramas cíclicos de ácidos húmicos isolados da camada 0,20-0,40 m de um Cambissolo sob cana-de-açúcar com longo tempo de preservação do palhiço.

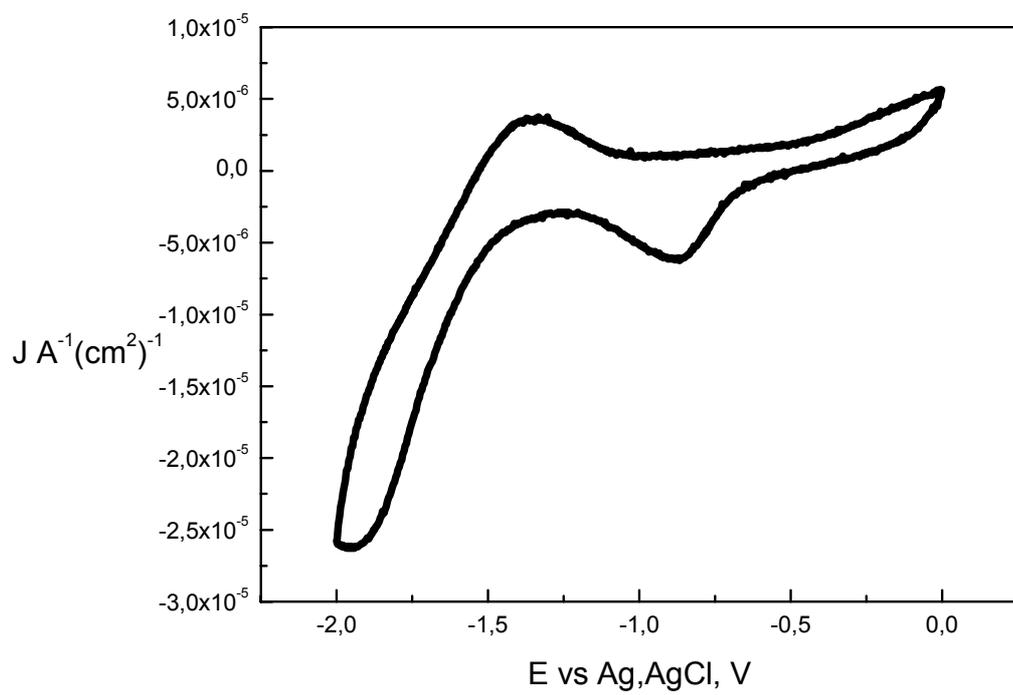


Figura 37- Voltamogramas cíclicos de ácidos húmicos isolados da camada 0-0,20 m de um Cambissolo sob cana-de-açúcar com longo tempo de cultivo usando a queima para a colheita.

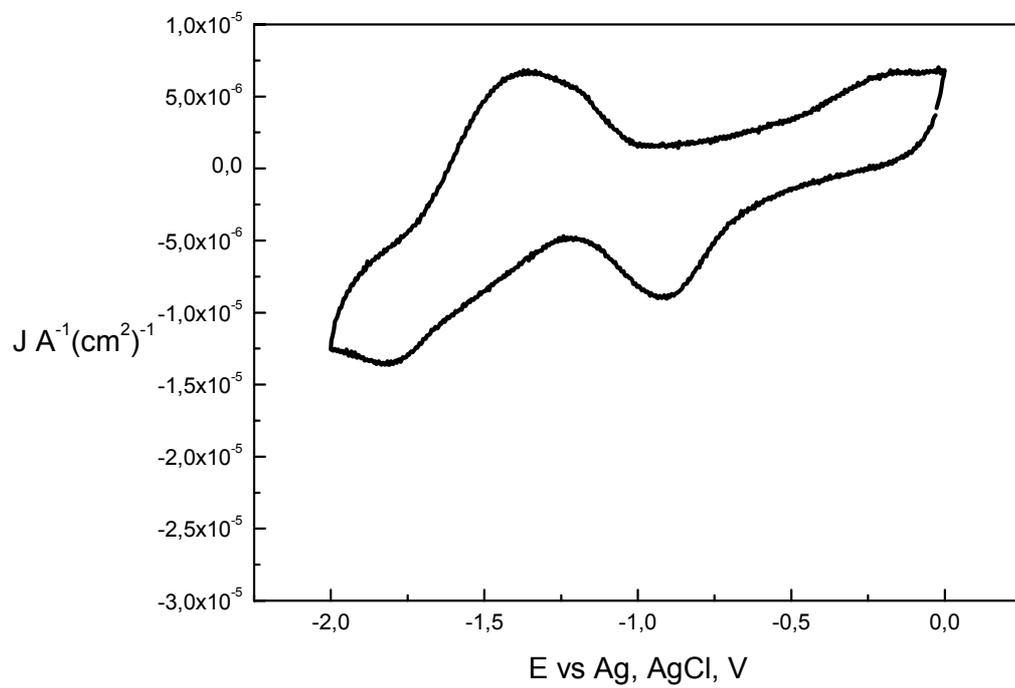


Figura 38- Voltamogramas cíclicos de ácidos húmicos isolados da camada 0,20-0,40 m de um Cambissolo sob cana-de-açúcar com longo tempo de cultivo usando a queima para a colheita.

Os valores da integração das áreas dos voltamogramas cíclicos (Quadro 7) foram superiores para os AH isolados de cana crua, em relação aos AH da área de cana queimada, em ambas as profundidades do solo amostradas (0-0,20 e 0,20-0,40 m). Na área de cana queimada a capacidade redox indicada pelos voltamogramas cíclicos foi maior em subsuperfície do que na camada superior do solo. A correlação entre os valores da COx e da integração dos voltamogramas foi positiva ($r = 0,99$) e significativa ($p < 0,01$). O manejo em cana crua resultou em AH de maior tampão redox.

Quadro 7- Dados dos voltamogramas cíclicos de ácidos húmicos

Manejo	Dados dos voltamogramas cíclicos			
	Par redox I	Par redox II	Par redox 3	Área integrada ⁽¹⁾
	----- V -----			
CC 0-0,20 m	-1,37 -0,85	-0,24 -0,57	0,56 0,56	$1,28 \cdot 10^{-4}$
CQ 0-0,20 m	-1,37 -0,85	-	-	$1,02 \cdot 10^{-5}$
CC 0,20-0,40 m	-1,37 -0,85	-0,25 -0,57	0,56 0,56	$1,60 \cdot 10^{-4}$
CQ 0,20-0,40 m	-1,37 -0,85	-	-	$1,62 \cdot 10^{-5}$

⁽¹⁾ Estreita relação com o caráter tampão redox dos ácidos húmicos (Stevenson, 1994).

5. DISCUSSÃO

5.1. Potencial do eletrodo

As curvas de titulação potenciométrica dos AH foram semelhantes às obtidas por Struyk e Sposito (2001), que usou três amostras-padrão de AH da IHSS. Assumiu-se a inflexão da curva como o ponto final da titulação potenciométrica, e, segundo Struyk e Sposito (2001), a pequena variação da $f.e.m_{\text{cela}}$ está associada à presença de resíduos de Fe(II) nos AH, não removidos mesmo após o processo de purificação recomendado pela IHSS.

Os dados das titulações redox dos AH estudados revelaram diminuição nos valores da $f.e.m_{\text{cela}}$ com o aumento do pH, de 5,0 para 7,0. Essa tendência foi também observada por Struyk e Sposito (2001) e por Matthiessen (1995). A equação 60, apresentada anteriormente, indica que a fem_{cela} varia inversamente com o pH do sistema redox. Todos os AH isolados no presente trabalho transferiram ao I_2 (aq), na reação de oxidação, aproximadamente um próton para cada três elétrons, ou seja, a relação q/n foi igual a 0,33. Esse valor médio também foi observado por Struyk e Sposito (2001).

Considerando a reação redox entre AH_{Red} e I_2 , com a relação q/n de aproximadamente 0,33 (1/3 de H^+ por e^- transferido), os resultados permitem

esperar que o par redox AH_{Ox} , AH_{Red} resulte na reação de redução genérica dependente do pH:



No presente estudo, os valores de $^F E_H^\circ$ obtidos para a semi-reação de redução dos AH foram em média 0,773 V e mostraram-se semelhantes aos 0,780 V determinados por Struyk e Sposito (2001). Os AH apresentaram $^F E_H^\circ$ e $\log K_c$ análogos aos de compostos o-quinona (Helburn e MacCarthy, 1994). No entanto, os pares redox diferenciam-se, pela mais ampla relação q/n verificada nos grupos o-quinona (1,00) em relação aos AH (0,33).

A comparação entre os valores das propriedades redox de alguns pares comuns nos sistemas naturais (Quadro 8) permitiu alocar o par redox AH_{Ox} , AH_{Red} , com a média de $^F E_H^\circ \sim 0,782$ V, na “seqüência redox” indicada por Stumm e Morgan (1996). Os resultados apresentados confirmaram que os AH podem reduzir Hg(II) e Mn(IV), conforme observaram, respectivamente, Alberts et al. (1974) e Sunda e Kieber (1994), incubando tais íons metálicos com bactérias redutoras e AH.

Quadro 8- Propriedades redox de alguns pares comuns em sistemas naturais

Pares redox	$^F E_H^\circ$ V	$\log K_c$	$pe_c^{(1)}$ (pH5)	pe_c (pH7)
$\frac{1}{2} MnO_2 (s) + 2H^+ + e^- = \frac{1}{2} Mn^{2+} (aq) + H_2O$	0,76	12,8	12,8	8,8
$Fe(OH)_2^+ (s) + e^- + H^+ = Fe^{2+} (aq) + H_2O$	0,90	15,2	10,2	8,2
$\frac{1}{2} Hg^{2+} (aq) + e^- = Hg^0 (g)$	0,85	14,4	14,4	14,4
$AH_{ox} + 1/3 H^+ + e^- = AH_{red}$	0,78	13,2	11,5	10,9
$FeOOH (s) + e^- + 3H^+ = Fe^{2+} (aq) + H_2O$	0,77	13,0	2,0	-4,0
$Fe^{3+} (aq) + e^- = Fe^{2+} (aq)$	0,77	13,0	13,0	13,0

⁽¹⁾ Os valores de pe foram calculados usando-se os valores de $\log K_c$, concentração de redutores e oxidantes = 10^{-4} mol L⁻¹ de espécies solúveis, atividade das fases sólidas iguais a 1 e $P_{O_2} = 0,21$ atm (Bass Becking et al., 1960). Os valores em negrito são as médias dos dados obtidos com os AH estudados.

Considerada a pequena variação entre os valores de $F_{E_H^0}$ e, conseqüentemente, de pe_c dos AH, introduziram-se os seus dados médios no diagrama pe - pH adaptado de Bartlett e James (1993), possibilitando obter algumas informações sobre a possível atividade das espécies oxidadas e reduzidas dos AH estudados nos sistemas naturais (Figura 39). De acordo com o diagrama pe - pH , pôde-se inferir sobre a capacidade de os AH estudados atuarem como doadores de elétrons nas reações redox em sistemas naturais.

Segundo Lovley et al. (1996, 1998) e Scott et al. (1998), os AH poderiam mediar a redução microbiológica de $Fe(III)$ a partir da fase sólida. O Fe^{3+} solúvel seria uma espécie termodinamicamente favorável à redução por AH, embora $Fe(OH)_2^+$ poderia ser a espécie predominante em solução nos valores de pH entre 5 e 7, respectivamente.

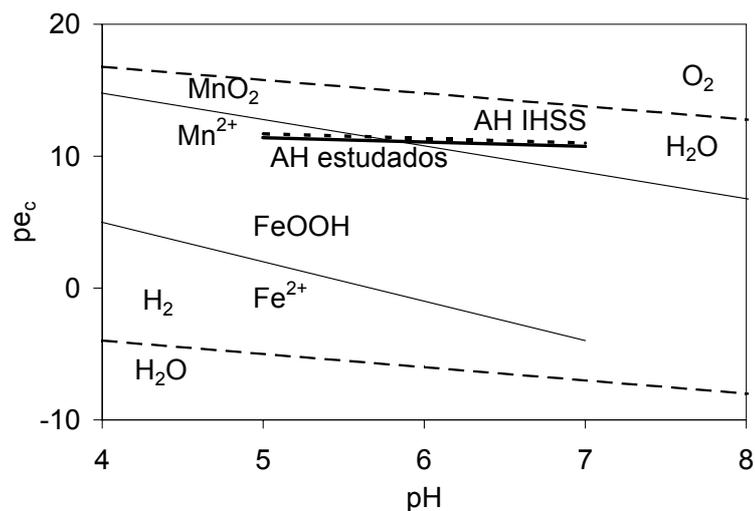


Figura 39- Diagrama pe - pH mostrando pares redox comuns em sistemas naturais, de amostras-padrão de ácido húmico da IHSS (Struyk e Sposito, 2001) e dos ácidos húmicos estudados. Adaptada de Bartlett e James (1993).

O par redox Fe^{2+} , $FeOOH$ está abaixo do par redox $AH_{Ox,Red}$ entre os valores de pH 5 e 7. Assim, $FeOOH$ e AH_{Red} poderiam predominar termodinamicamente. Se bactérias redutoras podem acessar $Fe(III)$ em óxidos

como por exemplo os da espécie FeOOH (Lovley et al., 1996, 1998, 2000; Scott et al., 1998), é possível que após a redução microbiológica os AH apresentem um potencial abaixo do determinado no presente estudo e no de Struyk e Sposito (2001), realizados na ausência de microrganismos.

5.2. Capacidade de oxidação e grupos funcionais

Os resultados indicaram que a COx dos AH variou do pH do sistema, como também foi observado nos estudos de Szilágyi (1973) e de Struyk e Sposito (2001). O aumento da COx com o pH pode ser entendido de acordo com a equação 59. Struyk e Sposito (2001) encontraram COx entre 1,09 a 6,5 mol_c kg⁻¹ e 3,30 a 11,50 mol_c kg⁻¹ nas titulações a pH 5,0 e a pH 7,0, respectivamente. Já Matthiessen (1995), em amostras de AH sintético e usando o I₂ como oxidante, encontrou valores médios um pouco maiores, ou seja, de 7,5 mol_c kg⁻¹ a pH 5,0 e de 10,5 mol_c kg⁻¹ a pH 7,0.

Scott et al. (1998) obtiveram correlações positivas e significativas entre a atividade redox e a concentração de quinonas de AH. Helburn e MacCarthy (1994) atribuíram os valores obtidos de COx nas titulações redox de AH sintéticos à presença de grupos fenólicos dada a estreita relação com a acidez fenólica dos AH estudados. Struyk e Sposito (2001) não estimaram as correlações, mas sugeriram a relação entre a COx e a concentração de grupos funcionais tipo semiquinonas dos AH. Todos os trabalhos também relataram a ausência de correlação entre a concentração de grupos carboxílicos e a COx dos AH.

Struyk e Sposito (2001) estimaram as contribuições de grupos funcionais semiquinonas no poder redutor dos AH e concluíram que os valores da COx dos três AH não foram suficientemente explicados pela CRLS. A mesma consideração pode ser feita para os AH do presente estudo. Por exemplo, a CRLS do AH isolado do vermicomposto, igual a $4,64 \cdot 10^{17}$ spins g⁻¹, indica que tais radicais livres contribuiriam com uma fração de aproximadamente $7,71 \cdot 10^{-4}$ mol_c (kg AH)⁻¹, muitíssimo aquém da COx determinada, igual a 7,89 mol_c kg⁻¹. Dados indiretos sobre o poder redutor dos AH, obtidos a partir da medição das espécies reduzidas de metais como o Fe (Scott et al., 1998; Wilson e Weber, 1979), após incubação com microrganismos e AH, indicaram que a CRLS poderia ser responsável por uma pequena fração dos elétrons transferidos (no máximo 10 %). Seguindo a

estimativa apresentada por Struyk e Sposito (2001), as titulações redox dos AH deste estudo também resultaram em valores de COx superiores à potencial contribuição da CRLS, determinada por RPE. Os resultados das correlações permitem, também, inferir sobre as contribuições de grupos quinonas e fenólicos dos AH na sua capacidade de transferência de elétrons.

Dois mecanismos, anteriormente usados, concomitantemente, na interpretação da capacidade redox das SH, foram usados para explicar a alta correlação obtida entre a COx e a CRLS dos AH, considerando, também, as relações da COx com grupos quinona e fenólicos: i) A redução de grupos quinonas e fenólicos a semiquinonas, proposto por Scott et al. (1998) e ii) A oxidação iodimétrica do complexo Fe-grupos fenólicos dos AH, gerando radicais livres semiquinonas, propostos por Struyk e Sposito (2001). Adicionalmente, o sinal de RPE para os radicais livres semiquinonas desaparece com as reações citadas anteriormente (Figura 3) para a formação de espécies hidroquinonas e benzoquinonas a partir de semiquinonas. Apesar de não serem determinados por RPE, estes radicais podem ter sido oxidados pelo I_2 nas condições especificadas no presente estudo, contribuindo para o aumento dos valores da COx dos AH.

Os dados da titulação redox dos derivados metilados e acetilados dos AH indicaram que a formação de radicais livres, a partir de fenóis e de resíduos de quinonas, podem explicar grande parte da COx dos AH aqui estudados. O monitoramento das reações de metilação e de acetilação dos AH, realizado por meio da espectroscopia na região do infravermelho, indicou que a metilação dos AH converteu grupos ácidos a ésteres, conforme descrito por Sachs et al. (2002). A acetilação “bloqueou” os grupos fenólicos e quinonas livres. Os espectros de IV-TF mostraram que a intensidade de absorção em $1735-1742\text{ cm}^{-1}$ aumentou consideravelmente com a metilação dos AH. A absorção, devida ao estiramento C-H ($2927-2942\text{ cm}^{-1}$), foi também aumentada pela metilação e acetilação.

A participação de grupos quinonas na COx dos AH foi, também, proposta por outros estudos (Lovley, 1995; Lovley et al., 1998; Scoott, 1998). No entanto, não se pode descartar a participação dos grupos fenólicos, mesmo que de forma indireta, nas propriedades redox avaliadas, indicando que a capacidade redox dos AH seja resultado da complexa combinação de diferentes grupos doadores ou das transformações entre estes para transferir elétrons, como descritos anteriormente nos modelos apresentados. Essas reações, previstas em ambos os

modelos, podem ocorrer no ambiente pela redução microbiológica dos AH e estabilização de radicais livres tipo semiquinonas ou durante a titulação redox, via oxidação do complexo grupos fenólicos-Fe(II) dos AH (Struyk e Sposito, 2001).

Os resultados das titulações redox dos derivados metilados e acetilados dos AH indicaram que, em média, 6 % da COx poderiam ser atribuídos, por exemplo, ao mecanismo do Fe(II) ligado aos AH. Sendo a média da COx dos AH igual a $6,91 \text{ mol}_c \text{ kg}^{-1}$ a pH 7,0, a porcentagem indicada resultou na COx de $0,41 \text{ mol}_c \text{ kg}^{-1}$. Struyk e Sposito (2001), com base no teor de cinzas de amostras-padrão de AH da IHSS, estimaram a participação do Fe na COx dos AH. Os autores consideraram um teor de cinzas nos AH de 3,10 %. Assim, usando os 6,25 mg de AH das titulações, e, assumindo que a espécie Fe_2O_3 determinava todo o teor de cinzas, indicaram que, aproximadamente $0,14 \text{ mol kg}^{-1}$ de Fe estavam presentes nos AH. Cada mol de Fe(II) pode transferir 1 mol_c para o I_2 . A partir de AH sintético, Aldrich®, Benz et al. (1998) determinaram teor de Fe de aproximadamente $0,20 \text{ mol kg}^{-1}$, indicando uma participação específica desse elemento nas SH.

De posse dos resultados da microscopia analítica, indicando a presença de Fe nos AH, usou-se o procedimento indicado por Struyk e Sposito (2001) para estimar a participação do Fe na capacidade de oxidação dos AH. As amostras estudadas apresentaram, em média, 3,6 % de cinzas, mostrando que esses AH poderiam apresentar COx proveniente do Fe(II), com magnitude de aproximadamente $0,17 \text{ mol}_c \text{ kg}^{-1}$. Os teores de cinza dos AH variaram de 3,45 a 3,82 % e correlacionaram-se com a COx em ambos os valores de pH ($r=0,89$ a pH 5 e $r= 0,97$ a pH 7, $P\leq 0,01$). Dessa forma, sendo ambas as estimativas citadas convergentes e provenientes de diferentes formas de aproximação, admitiu-se a sua semelhança.

Outras evidências dos grupos doadores foram obtidas nos voltamogramas cíclicos dos AH. A quantidade e a divergência entre os potenciais de oxidação e de redução observadas nos voltamogramas cíclicos dos AH comprovam a ocorrência de mais de um grupo redox e as modificações conformacionais após a oxidação e redução pelas correntes anódica e catódica, respectivamente. As modificações conformacionais resultaram em voltamogramas do tipo semi-reversíveis, com distintos potenciais de oxidação e de redução. Os

voltamogramas foram similares aos obtidos com quinonas (Nurmi e Tratnyek, 2002).

Os diferentes voltamogramas cíclicos caracterizaram o caráter tampão redox dos AH (Stevenson, 1994), indicado pela resistência a alterar seu estado de oxidação (integração das áreas dos voltamogramas). Tal capacidade tampão redox aumentou em concomitância com a COx e com a concentração de grupos funcionais redox dos AH.

Assumindo-se que o $F_{E_H^\circ}$ do par redox AH_{Ox}, AH_{Red} define o seu poder redutor, a soma das contribuições dos grupos semiquinonas dos AH, já presentes, ou alterados durante a titulação, poderiam explicar a magnitude dos valores obtidos para a COx dos AH. A relação direta entre a COx dos AH e a CRLS indica a oxidação de tais radicais pelo I_2 , permitindo a obtenção de modelos preditivos entre a quantidade de elétrons transferidos pelos AH e o seu grau de humificação.

A determinação da COx dos AH como estimador da CRLS também fornece a possibilidade do estudo das modificações nos sistemas naturais provocados pelas formas de manejo ambiental. A variável permite a caracterização e o monitoramento da MOS, além de proporcionar bases para a obtenção, a classificação e o uso do húmus, resultando-se em um indicador natural da qualidade dos solos.

5.2.1. Química e gênese

A COx dos AH se alterou segundo a origem das amostras de solo, ou seja, com a sua gênese. Assumindo-se que a CRLS indique o grau de humificação dos AH (Martin-Neto et al., 1994; Milori et al., 2002; Budziak et al., 2004) e que este reflita os fatores de sua gênese, os AH mais humificados foram os obtidos de resíduos orgânicos, em comparação aos isolados dos solos. Segundo modelo estrutural proposto por Piccolo e Nardi (1996a, b), a elevada massa molecular das SH é somente aparente. Em tal modelo as SH são formadas por unidades estruturais relativamente pequenas, estabilizadas por ligações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio, em um arranjo supramolecular (Piccolo, 2001). De acordo com esta concepção, não se pode excluir a inclusão de biomoléculas precursoras de radicais livres na estrutura das SH (Sutton e Sposito, 2005). A atividade otimizada dos microrganismos e a diversidade de compostos produzidos durante a

compostagem (e vermicompostagem) poderiam explicar a maior CRLS dos AH isolados dos resíduos orgânicos em relação aos obtidos de solos. Budziak et al. (2004) monitoraram a CRLS dos AH durante o processo de compostagem e encontraram aumentos do grau de humificação de AH isolados de resíduos orgânicos totalmente compostados. Apesar de não comparar com AH de solo, seus resultados evidenciaram a simultaneidade entre o avanço da humificação, a concentração de grupos fenólicos, quinonas e semiquinonas dos AH e, ainda, que é possível a estabilização de materiais orgânicos humificados via compostagem, como também demonstraram Rivero et al. (2004).

Com relação às amostras de AH isoladas de solos provenientes de uma seqüência típica de intemperismo, foi possível verificar que a permanência do C no solo, assim como a qualidade de suas formas humificadas, relacionaram-se com os fatores de formação de solos. Assim, material de origem, atividade biológica, clima e relevo interagem no tempo, resultando em solos distintos, marcados por diferenças quantitativas e qualitativas na sua fração orgânica. Os solos com menor grau de intemperismo apresentaram AH com maior COx e maior concentração de grupos funcionais fenólicos, quinonas e semiquinonas. Tais resultados acompanharam os aumentos significativos nos teores de C e na CTC dos solos. Os grupos funcionais doadores de carga da MOS contribuíram para a expressão do caráter eletronegativo na interface dos colóides das amostras superficiais de todos os solos estudados. A preservação e o incremento das formas humificadas de C podem contribuir para a retenção de cátions nos solos mais intemperizados, onde é maior a dependência da MOS para a geração de cargas negativas.

Registra-se, também, que a seqüência de intemperismo estudada, foi acompanhada, de forma geral, por modificações ordenadas na vegetação. Assim, as condições ecológicas do sistema e os aspectos qualitativos do ciclo do C podem indicar, de forma adicional, o estado de intemperismo do solo. A interligação de tais processos é natural e, por isso, as SH indicaram as diversas sucessões ecológicas (químicas, físicas e biológicas) nesses sistemas naturais, análogo ao relatado na literatura (Stevenson, 1994; Santos e Camargo, 1999; Canellas e Santos, 2005).

Dentre os solos menos intemperizados, que melhor se assemelham aos solos de regiões temperadas, destaca-se a formação do horizonte A chernozêmico

em dois deles. Tal horizonte, de cor escura devido à estabilização das SH, é indicativo de solos com alta saturação por bases. A estrutura prismática dos agregados, usualmente superior a 30 cm, é coerente com a participação de rochas máficas, ricas em Mg e Fe, o que justifica a sua alta fertilidade natural. A estabilização das SH no horizonte A e a concentração de C em uma massa mineral relativamente pouco alterada e rica em nutrientes constituem-se no principal atributo diagnóstico dos Chernossolos. Dentre os AH isolados das amostras de solo os mais humificados foram observados em tais classes. Segundo Sposito (1989) a proteção do C nos solos menos intemperizados está associada à maior CTC de tais sistemas. A concentração do C no solo aumentou dos Latossolos para os Chernossolos. Os teores de C do solo variaram de 12,2 a 43,4 g kg⁻¹ e diminuíram com o grau de intemperização dos solos. Os resultados confirmam a relação entre o grau de intemperismo e a qualidade dos AH.

O Chernossolo Rêndzico, especificamente, possui sua gênese marcada pela presença do calcário e produtos da decomposição de anfibólitos. Sendo um metal divalente, o Ca pode ligar duas superfícies negativamente carregadas, orgânicas ou minerais. Tal elemento (e os fatores que condicionam sua presença) tem importante papel na reação dos solos (Sposito, 1989). A manutenção de um pH menos ácido nos solos pode condicionar um ambiente mais favorável à ação das bactérias e, por conseguinte, também contribuir para a humificação da MOS. A remoção do Ca pela lixiviação dos solos, entre outros fatores, condicionam a acidificação progressiva e, consecutivamente, avanço do intemperismo em meio mais ácido. Assim, a calagem pode, também, interferir na dinâmica das SH. Apesar da participação do Ca²⁺ no processo de humificação da MOS, ocorre, geralmente, uma gradativa diminuição nos teores da fração AH. Tal diminuição associa-se à redução da atividade do Al³⁺ após a calagem (Mendonça, 1995). Nos sistemas tropicais o Al³⁺ tende a se concentrar e, por isso, participa diretamente na estabilização da MOS. Além disso, os teores de Ca²⁺ incrementados com a calagem levam a uma rápida desestabilização das SH, via neutralização de parte do Al³⁺, sincronizada com o aumento da atividade microbiana com a elevação do pH, resultando em degradação parcial e, provavelmente, pontual (neutralização do Al³⁺ e união do Ca²⁺ ao ligante) da fração AH que contribui efetivamente com as cargas. Dessa forma, é comum uma pequena diminuição da MOS após a calagem. É importante ressaltar, entretanto,

que tal diminuição parece ser passível de resiliência, mantidas as entradas de C (Mendonça e Rowel, 1994). Baldotto (2003) estudou a calagem e a gessagem em solos do cerrado mineiro. Mesmo com a aplicação de altas doses (até 2,4 vezes a necessidade de calagem, reaplicadas anualmente) o autor verificou que os teores de C mantiveram-se por 3 anos consecutivos. O aumento da produtividade vegetal e do aporte de material orgânico tende a se contrabalançar parcialmente com as perdas após a calagem. As elevadas capacidade tampão e atividade biológica novamente estabeleceram o antigo panorama, indicando que a gênese das SH é um processo mais complexo, envolvendo outros fatores interligados e não somente a presença de bases no solo.

Nos solos muito intemperizados, como o Argissolo e o Latossolo, os fatores climáticos intensos e a baixa disponibilidade de nutrientes resultaram nos AH com menor grau de humificação. Nesses sistemas, os processos de perda tendem a superar os de ganho e a resultante confere um ambiente biológico menos diversificado e mais especializado, com ação regulada pelos ciclos climáticos, dadas as maiores variações a que este é submetido. Como exemplos pode-se citar a menor capacidade de retenção e de reposição de água e de nutrientes, a maior acidez e a deposição de materiais orgânicos menos diversificados. Tais fatores atuaram sobre a MOS do Argissolo e do Latossolo, com os menores valores da CRLS e da COx dos AH, indicando desfavorecimento à humificação. Esse fato indica que nos solos onde é maior a necessidade da MOS para o aumento da fertilidade, a sua quantidade e qualidade são, entretanto, inferiores.

Outros estudos (Longo, 1982; Cunha et al., 2003; Cunha, 2005) observaram baixo grau de humificação nos Latossolos brasileiros. O fracionamento da MOS em Latossolos Amarelos Distróficos nos ambientes de tabuleiros costeiros, realizado por Cunha et al. (2003), indicou a baixa tendência de estabilização na forma AH, conforme as relações AH/AF. Observa-se concordância entre os trabalhos com relação à ciclagem da MOS e os autores atribuem as maiores taxas de perdas, se comparados aos solos de regiões temperadas, à baixa concentração de bases e aos intensos efeitos dos fatores climáticos nos sistemas tropicais. Nos solos de clima temperado, as menores taxas de perdas de C estão associadas à sua maior capacidade de retenção nos solos com estágio de intemperismo menos avançado. De tal fato resultam os

maiores incrementos na formação de “precursores húmicos” via reações de condensação, seguidas pela estabilização no solo, quase sempre rico em nutrientes (Stevenson, 1994; Cunha, 2005; Cunha et al., 2006).

Volkoff et al. (1984) estudaram solos em estádios intermediários de intemperismo sob condições temperadas em campos de altitude e atribuíram a predominância de materiais mais humificados nas SH à mineralização menos intensa da MOS. No entanto, aumentos de fertilidade e da concentração de SH foram observados por Cunha (2005) em alguns solos antropogênicos da região Norte do Brasil. Em tais sistemas, os Latossolos sob ambientes favoráveis à decomposição da MOS (Amazônia) apresentaram horizonte A antrópico (Embrapa, 1999) enriquecido em bases trocáveis, com pH em torno de 6,5 e elevados teores de MOS. A natureza da estabilização do húmus nesses sistemas ainda não foi totalmente esclarecida. Existe, contudo, razoável convergência sobre a formação de estruturas condensadas.

Volkoff et al. (1984) estudaram diferentes solos brasileiros e indicaram que os principais fatores que se associaram à gênese das SH foram a temperatura, a disponibilidade de bases e a eficiência de drenagem dos solos. Cunha et al. (2005) ressaltam que estes são os mesmos fatores que mais influenciam a atividade microbológica dos solos. A humificação dos AH foi estudada por Cunha (2005) e se correlacionou positiva e significativamente com os valores da saturação por bases (V), CTC efetiva e teor de Ca^{2+} .

Em sistemas tropicais, o uso de estratégias de manejo que promovam a concentração de C na forma humificada resulta em melhorias na fertilidade do solo. Sendo a CO_x dos AH uma propriedade sensível às alterações qualitativas dos AH, é possível utilizá-la como um marcador natural do grau de humificação da MOS e de qualidade do solo.

Com relação ao manejo do solo pode-se inferir que, com o cultivo sucessivo por longos períodos, sobretudo usando-se práticas como as queimadas, favoreceram-se os fatores que levam à oxidação da MOS. Como resultado de tais perturbações observou-se, de forma geral, a perda de qualidade do solo.

O conteúdo de matéria orgânica é controlado pelos fatores de formação do solo. Fatores como clima, material de origem, relevo, atividade biológica e tempo condicionam o balanço de carbono em sistemas naturais não perturbados.

Com o cultivo há um novo equilíbrio dinâmico, sendo as condições para oxidação da matéria orgânica favorecidas. Um novo panorama é alcançado, geralmente, com menor conteúdo de matéria orgânica no sistema e acompanhado pela diminuição da fertilidade do solo.

Os AH isolados dos solos sob cultivo contínuo com a cana-de-açúcar indicaram que as principais evidências dos efeitos negativos do fogo foram a brusca queda no poder redutor dos AH, acompanhada pelas diminuições na diversidade de pares redox, como observado nos voltamogramas cíclicos, significativamente associados à redução nos teores de grupos funcionais fenólicos, quinonas e semiquinonas.

A ausência de um par redox nos voltamogramas cíclicos dos AH obtidos da área sob cana queimada, associado à redução de grupos funcionais quinonas e fenólicos, precursores de radicais livres, pode ser atribuída ao efeito do fogo. A ausência desse par redox também foi acompanhada da diminuição dos valores da COx dos AH da área de cana queimada quando comparados aos do solo sob cana crua, em ambas as profundidades amostradas. A voltametria cíclica parece confirmar que o manejo pode influenciar quantitativamente e qualitativamente a COx dos AH, pela alteração na concentração e na diversidade dos grupos funcionais.

Comparando-se as áreas de cana crua e cana queimada, isoladamente na camada subsuperficial do solo, verificam-se, tanto pela titulação redox como pela voltametria cíclica, efeitos negativos na capacidade redox dos AH isolados da área de cana queimada. Os resultados indicam que efeitos do fogo por longo período podem ocorrer na camada 0,20 a 0,40 m, apesar de o efeito direto pelo aumento da temperatura ser bem menor que nas camadas superficiais. A movimentação de cinzas em profundidade e posterior adsorção aos colóides do solo (Cambissolo Ta), acumulando-se na camada subsuperficial, podem explicar a expressão de AH com menores concentrações de grupos funcionais e inferior atividade redox. González-Pérez et al. (2004) sugeriram caminhos na evolução das SH sob efeito do fogo, que passariam por aumento da aromaticidade e condensação, formando materiais policíclicos pouco reativos, com menor teor de grupos funcionais em sua estrutura, à semelhança do que foi encontrado no presente estudo.

Segundo Almendros et al. (2003), o efeito do fogo na MOS, além de diminuir as concentrações de grupos funcionais oxigenados, promove transformações nas SH, resultando em resistência à nova degradação microbiana, limitando reações químicas importantes na geração de grupos doadores de cargas no solo.

O uso do fogo para a colheita da cana-de-açúcar interrompe a seqüência de eventos no sistema. Assim, além dos efeitos da alta temperatura, acumulam-se as perturbações provenientes do revolvimento intenso do solo e da renovação mais breve dos canaviais, práticas que são mitigadas no manejo com cana crua. No manejo com cana crua, além do efeito direto da fixação e concentração de C no solo pela deposição gradual de material orgânico proveniente da palha da cana-de-açúcar, a renovação do canavial é protelada, quando comparada ao manejo convencional em cana queimada. O manejo com cana crua pode dobrar o período de renovação, minimizando a movimentação do solo para o cultivo (arações, gradagens e sulcamentos), desfavorecendo as reações de oxidação da MOS, resultando em concentração de C no solo e diminuindo a emissão de CO₂ para a atmosfera (Bayer et al., 2002).

As melhorias na qualidade da MOS, indicadas pelos AH isolados das áreas de cana-de-açúcar com ausência da queima e a manutenção da palhada sobre o solo, foram refletidas em aumento da CTC e diminuição do PCPLZ dos solos. Canellas et al. (2003), estudando estas mesmas áreas, verificaram significativos incrementos nos teores de nutrientes e na estabilidade e permanência das frações humificadas nos solos sob cana crua. A disponibilidade de nutrientes correlacionou-se significativamente com a fração AH, indicando a interligação entre os processos ecológicos que condicionam a melhoria da atividade biológica, a estabilização do C, a disponibilização dos nutrientes, entre outros, que podem ser monitorados pela fração AH e mais especificamente nesse estudo por sua atividade redox.

Os AH com maior COx, por exemplo, foram obtidos dos solos com os menores valores de PCPLZ. A redução do PCPLZ com o aumento da COx deve-se à maior estabilização dos AH sob aporte constante de matéria orgânica nas áreas de cana crua. Siqueira et al. (1990a, b) e Peixoto (1997) encontraram redução do PCPLZ com a adição de materiais orgânicos no solo. Os efeitos da MOS no abaixamento do PCPLZ são devidos, principalmente, ao próprio potencial

de desprotonamento (pK) dos grupos funcionais da MOS, que ocorre abaixo do pH normal da maioria dos solos tropicais (4,5 a 5,5), e também, à adsorção de ânions orgânicos aos sítios de carga positiva dos óxidos, que podem predominar nas mesmas condições de pH citadas. Vale ressaltar, que o efeito da MOS no abaixamento do PCPLZ dos solos aumenta com o aumento do intemperismo e a predominância de óxidos de Fe e Al na mineralogia do solo (Sposito, 1989; Siqueira et al., 1990a, b, c; Peixoto, 1997).

O material orgânico incorporado pela aplicação de vinhaça a longo prazo, aumentou o poder redutor da MOS. Esse aporte de material orgânico pode, além de beneficiar a tendência global à eletronegatividade nos colóides do solo, favorecer as reações químicas pela capacidade de transferir elétrons dentro dos valores de potenciais redox normalmente encontrados nos solos agricultáveis.

Os valores da COx dos AH foram aumentados com o uso da vinhaça para as duas profundidades estudadas. Na camada superficial, houve acréscimo de 17 % no teor de C do solo e de 34 % no teor de C dos AH sobre os teores da área sem vinhaça. Já na camada subsuperficial, estes mesmos teores aumentaram 11 e 62 %, respectivamente. A concentração de C no solo é um fator fundamental para a recuperação das propriedades químicas e físicas de solos sob intenso cultivo.

A CTC da camada superficial do solo na área sob a adubação com vinhaça apresentou aumento de 8 % sobre a CTC do solo sem vinhaça. Entretanto, não parece ter havido suficiente movimentação da vinhaça no perfil do solo para modificar a CTC em subsuperfície. Também não foi observada alteração do PCPLZ com o uso de vinhaça na dose e tempo estudados.

Em geral, as variáveis estudadas, fundamentais na caracterização química do solo e das SH, apresentaram significativas correlações com a COx dos AH, indicando a importância desta propriedade para a caracterização e predição da funcionalidade da MOS.

RESUMO E CONCLUSÕES

O potencial do eletrodo (E_H) e a capacidade de oxidação (COx) informam sobre os fatores intensidade e capacidade dos sistemas redox, respectivamente. Estudos prévios sugeriram a hipótese de que radicais livres presentes nos AH participam nas reações redox. Existem, entretanto, poucos dados disponíveis sobre medições diretas das propriedades redox dos AH. No presente estudo 20 amostras de AH foram tituladas com um oxidante (I_2), em atmosfera inerte e condições especificadas. Os AH apresentaram potencial formal padrão do eletrodo ($^F E_H^0$) com valores entre 0,773 e 0,794 V a 25 °C. A COx dos AH variou de 3,88 a 4,39 mol_c kg⁻¹ a pH 5,0 e a partir de 5,35 até 7,89 mol_c kg⁻¹ a pH 7,0. A COx dos AH apresentou correlação positiva e significativa com as concentrações dos grupos funcionais fenólicos, quinonas e semiquinonas em sua estrutura. Os resultados apresentados permitem concluir que:

1. O $^F E_H^0$ para a semi-reação de redução do par redox AH_{Ox}, AH_{Red} foi em média de 0,772 V. Tal valor indica que os AH estudados podem participar de reações redox nos sistemas naturais.
2. A COx dos AH variou em função do pH do sistema e da origem das amostras.

3. AH com maiores teores de grupos fenólicos, quinonas e semiquinonas apresentaram COx mais expressiva.

4. As reações de derivação química por metilação e acetilação reduziram a COx dos AH de forma semelhante e indicaram a participação de grupos funcionais fenólicos e de resíduos de quinonas na reação de transferência de elétrons.

5. Foi possível prever a CRLS e, assim, o grau de humificação dos AH estudados, a partir da sua COx.

6. A COx dos AH se relacionou estreitamente com o índice de intemperismo do solo. Solos menos intemperizados apresentaram AH mais humificados e com maior quantidade de elétrons transferíveis.

7. Os manejos da cana-de-açúcar com a preservação da palha sobre o solo e com a adição de vinhaça por longo tempo promoveram aumentos da COx, do grau de humificação e da fertilidade do solo em relação aos manejos usando a queima para a colheita e sem a adição de vinhaça, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberts, J. J., Schindler, J. E. E Miller, R. W. (1974) Elemental mercury evolution mediated by humic acid. *Science*, 184: 895–896.
- Almendros, G., Knicker, H., González-vila, F. J. (2003) Rearrangement of carbon and nitrogen forms in peat after progressive isothermal heating as determined by solid-state ¹³C- and ¹⁵N-NMR spectroscopies. *Org. Geochem.*, 34:1559–1568.
- Baldotto, M. A. Manejo da Calagem e da Gessagem para o Cafeeiro em Patrocínio, Minas Gerais. Viçosa: UFV. 119 p. (Tese de Mestrado).
- An, J., Hu, Y., Jiang, L. (1996) Reactivity of semiquinone radical anions of hydroxyperylenequinone with oxygen. *J. of Photochem. and Photobiol. B.*, 33: 261-266.
- Bard, A., Parson, R. e Jordan, J. Eds. (1985) *Standard Potentials in Aqueous Solution*. Marcel Dekker, New York. 185p.
- Bartlett, R. J., James, B. R. (1993) Redox chemistry of soils. *Adv. in Agron.*, 50:151-208.
- Bass Becking, L. G. N., Kaplan, I. R., Moore, D. (1960) Limits of the natural environment in terms of pH and oxidation-reduction potentials. *J. Geol.*, 68: 243-284.
- Bayer, C., Martin-Neto, L, Mielniczuk, J., Saab, S.C., Milori, D.M.P., Bagnato, V.S. (2002) Tillage and cropping system effects on soil humic acid characteristics as determined by ESR and fluorescence spectroscopy. *Geoderma*, 105: 81-92.

- Benz, M., Schink, B., Brune, A. (1998) Humic acid reduction by *Propionibacterium freudenreichii* and other fermenting bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64: 4507-4512.
- Budziak, C. R., Maia, C. M. B. F. e Mangrich, A. S. (2004) Transformações químicas da matéria orgânica durante a compostagem de resíduos da indústria madeireira. *Quím. Nova*, 27: 399-403.
- Button, R., Sposito, G. (2005) Molecular structure in humic substances: a new review. *Environm. Sci. & Technol.*, 23: 9009-9015.
- Canellas, L.P., Santos, G.A., Rumjanek, V.M., Moraes, A.A., Guridi, F. (2001) Distribuição da matéria orgânica e características de ácidos húmicos em solos com adição de resíduos de origem urbana. *Pesq. Agropec. Bras.*, 36: 1529-1538.
- Canellas, L. P., Velloso, A. C. X., Marciano, C. R., Ramalho, J. F. G. P., Rumjanek, V. M., Rezende, C. E., Santos, G.A. (2003) Propriedades químicas de um Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhico e adição de vinhaça por longo tempo. *R. Bras. de Ci. do Solo*, 27: 935-944.
- Canellas, L. P., Santos, G. de A. (2006) Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. <http://www.uenf.br/Uenf/Pages/CCTA/Lsol/> Atualizada em 31/07/06. Página mantida pela UENF. 309p.
- Chen, J., Gu, B., Royer, R. A., Burgos, W. D. (2003) The roles of natural organic matter in chemical and microbial reduction of ferric ion. *The Sci. of the Tot. Environ.*, 307: 167-178.
- Coates, J. D., Councell, T., Ellis, D. J., Lovley, D. R. (1998) Carbohydrate oxidation coupled to Fe(III) reduction, a novel form of anaerobic metabolism. *Anaerobe*, 4: 277-282.
- Curtis, G. P., Reinhard, M. (1994) Reductive dehalogenation for hexachlorethane, carbon tetrachloride, and bromoform by anthrahydroquinone disulfonate and humic acid. *Environm. Sci. & Technol.*, 28: 2393-2401.
- Cunha, T.J.F. (2005) Ácidos húmicos de solos escuros da Amazônia. Seropédica, UFRRJ, 140p. (Tese de doutorado).
- Cunha, T.J.F.; Ribeiro, I.p. Palmieri, f. Silva, E.F. da, Conceição, M. (2003) Caracterização e natureza do húmus de latossolos amarelos coesos de tabuleiro na região do recôncavo baiano. *Magistra*, 15: 147-154.
- Cunha, T. J. F., Canellas, L. P., Santos, G. de A., Ribeiro, L. P. (2006) Fracionamento da matéria orgânica humificada em solos brasileiros. In: Canellas, L. P., Santos, G. de A. (eds) Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas; <http://www.uenf.br/Uenf/Pages/CCTA/Lsol/> . Atualizada em 31/07/06. Página mantida pela UENF.

- Dunnivant, F. M., Schwarzenbach, R. P., Macalady, D. L. (1992) Reduction of substituted nitrobenzenes in aqueous solutions containing natural organic matter. *Environ. Sci. Technol.*, 26: 2133–2141.
- Embrapa (1980) Centro Nacional de Levantamento e Classificação de Solos. I Reunião de Classificação e Correlação de Solos - BT nº 62. EMBRAPA Produção de Informação, Rio de Janeiro, 79 p.
- Embrapa (1999) Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. EMBRAPA Produção de Informação, Rio de Janeiro, 412p.
- Fredrickson, J. K., Gorby, Y. A. (1996) Environmental process mediated by iron-reducing bacteria. *Environ. Biotechnol.*, 7: 287-294.
- Fukushima, M., Tatsumi, K. (1999) Light acceleration of iron (III) reduction by humic acid in the aqueous solution. *Colloids and Surfaces*, 155: 249-258.
- González-Pérez, J. A., González-Vila, F.J., Almendros, G., Knicker, H. (2004) The effect of fire on soil organic matter: a review. *Environ. Internat.I*, 30: 855-870.
- Helburn , R.S. e MacCarthy, P. (1994) Determination of some redox properties of humic acids by alkaline ferricyanide titration. *Anal. Chem. Acta*, 295: 263-272.
- Hernandez, M. E., Newman, D. K. (2001) Extracellular electron transfer. *Cell. and Molec. Life Sci.*, 58: 1562–1571.
- International Humic Substances Society-IHSS (2006) Products. Disponível em: <<http://www.ihss.gatech.edu/products.html>> Acesso em 30 julho. 2006.
- Kappler, A., Benz, M. Schink, B., Brune, A. (2004) Electron shuttling via humic acids in microbial iron (III) reduction in a freshwater sediment. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 47: 85-92.
- Keum, Y., LI, Q. X. (2004) Reduction of nitroaromatic pesticides with zero-valent iron. *Chemosphere*, 54: 255–263.
- Kim, S., Picardal, F. W. (1999) Enhanced anaerobic biotransformation of carbon tetrachloride in the presence of reduced iron oxides. *Environ. Toxicol. Chem.* 18: 2142-2148.
- Kirk, T. K. (1984) Degradation of lignin. *Microbiol. Series*, 13: 399-437.
- Kukkadapu, R. K., Zachara, J. M., Smith, S. C., Fredrickson, J. K., Liu, C. (2001) Dissimilatory bacterial reduction of Al-substituted goethite in subsurface sediments. *Geoch. et Cosmoch. Acta*, 65: 2913–2924.
- Labrador, J. (1996) La matéria orgánica en los agrosistemas. Madri, Ministéria Agricultura. 176p.

- Light, T. S. (1972) Standard solution for redox potential measurements. *Anal. Chem.*, 44: 1038-1039.
- Lindsay, W. L. (1979) *Chemical equilibria in soils*. New York: John Wiley Sons, 449p.
- Lovley, D. R. Microbial reduction of iron manganese, and other metals. (1995) *Adv. Agron.*, 54: 175-231.
- Lovley, D. R., Coates, J. D., Blunt-Harris, E. L., Phillips, E. J. P. , Woodward, J. C. (1996) Humic substances as electron acceptors for microbial respiration. *Nature*, 382, 445-448.
- Lovley, D. (1997) Microbial Fe (III) reduction in subsurface environments. *FEMS Microbiol. Rev.*, 20: 305-313.
- Lovley, D. R., Woodward, J. C., Blunt-Harris, E. L., Hayes, L., Phillips, E. J. P., COATES, J. D. (1998) Humic substances as mediator for microbially-catalized metal reduction. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 26: 152-157.
- Lovley, D. R., Kashefi, K., Vargas, M., TOR, J. M., Blunt-harris, E. L. (2000) Reduction of humic substances and Fe(III) by hyperthermophilic microorganisms. *Chem. Geol.*, 169: 289-298.
- Lu, X., Johnson, W. D., Hook, J. (1998) Reaction of vanadate with aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.*, 32: 2257-2263.
- Marschner, B., Kalbitz, K. (2003) Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma*, 113: 211-235.
- Martin-Neto, L., Andriulo, A. E. E Traghetta, D. (1994a) Effects of cultivation on ESR spectra of organic matter from soil size fractions of a Mollisol. *Soil Sci.*, 157: 365-372.
- Martin-Neto, L., Vieira, E. M. e Sposito, G. (1994b) Mechanism of atrazine sorption by humic acid: a spectroscopic study. *Environm. Sci. & Technol.*, 28: 1867-1873.
- Matthiessen, A. (1995) Determining the redox capacity of humic substances as a function of pH. *Vom Wasser*, 84: 229-235.
- Matthiessen, A. (1996) Kinetic aspects of the reduction of mercury ions by humic substances. *J. Anal. Chem.*, 354: 747-749.
- Medien, H. A. A., Zahran, A. A. (2001) Spectrophotometric kinetic and determination of quinones and barbiturates. *Spectroch. Acta*, 57: 2505–2511.
- Medonça, E. S. (1995) Oxidação da matéria orgânica e sua relação com diferentes formas de alumínio de Latossolos. *Re. Bras. Ci. Solo*, 19: 25-30.

- Milori, D. M. B. P., Martin-Neto, L., Bayer, C., Mielniczuck, J., Bagnato, V. S. (2002) Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy.. *Soil Sci.*, 167: 739-749.
- Motheo, A. J., Pinhedo, L. (2000) Electrochemical degradation of humic acid. *The Sci. of the T. Environ.*, 256: 67-76.
- Nurmi, J. T., Tratnyek, P. G. (2002) Electrochemical properties of natural orgânica matter (NOM), fractions of NOM, and model biogeochemical electron shuttles. *Environ. Sci. Technol.*, 36: 617-624.
- Osternberg, R., Shirshova, L. (1997) Oscillating, nonequilibrium redox properties of humic acids. *Geoch. et Cosmoch. Acta*, 61: 4599-4604.
- Peixoto, R. T. dos G. (1997) Matéria orgânica e a dinâmica das cargas elétricas dos solos: processos e conseqüências. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26., Rio de Janeiro, 1997. Anais. Rio de Janeiro, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo/EMBRAPA-CNPS. (CD-ROM).
- Pérez, M. G., Martin-Neto, L. , Saab, S. C. , Novotny, E. H. , Milori, D. M. B. P. , Bagnato, V. S. , Colnago, L. A. , Melo, W. J. , Knicker, H. (2004) Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, ¹³C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy. *Geoderma*, 118: 181-190.
- Piccolo, A., Campanella, L., Tetronio, B. M. (1990) Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of soil humic substances extracted by different mechanisms. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 54: 750-756.
- Piccolo, A., Nardi, S., Concheri, G. (1996a) Macromolecular changes of humic substances induced by interactions with organic acids. *European Journal of Soil Sci.*, 47: 319-328.
- Piccolo, A., Nardi, S., Concheri, G. (1996b) Micelle-like conformation of humic substances as reveled by size exclusion chromatography. *Chemosphere*, 33: 595-602.
- Piccolo, A., Conte, P., Cozzolino, A. (1999) Conformational association of dissolved humic substances as affected by interactions with mineral and monocarboxylic acids. *Europ. J. of Soil Sci.*, 50: 687-694.
- Piccolo, A., Conte, P. (2000) Molecular size of humic substances. Supramolecular associations versus macromolecular polymers. *Adv. in Environ. Res.*, 3: 508-521.
- Piccolo, A. (2001) The supramolecular structure of humic substances. *Soil Sci.*, 166: 810-832.
- Poole Jr., C. P. (1967) *Electron spin resonance: a comprehensive treatise on experimental techniques*. New York, Wiley-Interscience. 921p.

- Raij, B. Van., Peech, M. (1972) Electrochemical properties of some Oxisols and Alfisols of the tropics. *Soil Sci. Soc. of Am. Proc.*, 36: 587-593.
- Ramos-Tejada, M. M., Ontiveros, A. A., Viota, A. J. L., Durán, J. D. G. (2003) Interfacial and rheological properties of humic acid/hematite suspensions. *J. of Colloid and Interface Sci.*, 268: 85-95.
- Renard, C. M. G. C., Jarvis, M. C. (1999) Acetylation and methylation of homogalacturonans. II. Effect on ion-binding properties and conformations. *Carbohydrate Polymers*, 39: 209–216.
- Rivero, C., Chirenge, T., Ma, L. Q., Martinez, G. (2004) Influence of compost on organic soil matter quality under tropical conditions, *Geoderma*, 123:355-361.
- Rovira, P. A. S., G. Brunetti, G., Polo, A., Senesi, N. (2002) Comparative chemical and spectroscopic characterization of humic acids from sewage sludges and sludge-amended soils. *Soil Sci.*, 167:235-245.
- Rusling, J. F., Suib, S. L. (1994) Characterizing materials with cyclic voltammetry. *Adv. Materials.*, 6 (12): 922-930.
- Saab, S. C., Martin-Neto, L. (2003) Use of the EPR technique to determine thermal stability of some humified organic substances found in soil organic-mineral fractions. *Quí. Nova*, 26: 497-498.
- Sachs, S., Bubner, M., Schmeide, K., Choppin, G. R., Heise, K. H., Bernhard, G. (2002) Carbon-13 NMR spectroscopy studies on chemically modified and unmodified synthetic and natural humic acids. *Talanta*, 57: 999-1009.
- Santos, G. de A., Camargo, F. A. O. (1999) *Fundamentos da matéria orgânica: ecossistemas tropicais e subtropicais*. Porto Alegre: Gênese, 544 p.
- Schnitzer, M. Gupta, U. C. (1965) Determination of acidity in soil organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*: 29: 274-277.
- Schnitzer, M., Riffaldi, R. (1972) The determination of quinone groups in humic substances. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*: 36: 772-777.
- Schwarzenbach, R. P., Stierli, R., Lanz, K., Zeyer, J. (1990) Quinone and iron porphyrin mediated reduction of nitroaromatic compounds in homogeneous aqueous solution. *Environm. Sci. & Tencnol.*, 24: 1566-1574.
- Scott, D. T., Mcknight, D. M., Lovley, D. R. (1998) Quinone moieties act as electron acceptors in the reduction of humic substances by humics-reducing microorganisms. *Environ. Sci. Technol.* 32: 2984-2963.
- Senesi, N., Chen, Y., Schnitzer, M. (1977) The role of free radicals in the oxidation and reduction of fulvic acid. *Soil Biol. and Biochem.*, 9: 397-403.

- Simpson, A.J., Burdon, J., Graham, C.L., Hayes, M.H.B., Spencer, N., Kingery, W.L. (2001) Interpretation of heteronuclear and multidimensional NMR spectroscopy of humic substances. *Europ. J. Soil Sci.*, 52: 495-510.
- Siqueira, C., Leal, J. R., Velloso, A. C. X., Santos, G. A. (1990a) Eletroquímica de solos tropicais de carga variável: I. Influência da matéria orgânica no tempo de equilíbrio pra a determinação das curvas de titulação potenciométrica. *Re. Bras. Ci. Solo*, 14: 7-11.
- Siqueira, C., Leal, J. R., Velloso, A. C. X., Santos, G. A. (1990b) Eletroquímica de solos tropicais de carga variável : II. Quantificação do efeito da matéria orgânica sobre o ponto de carga zero. *Re. Bras. Ci. Solo*, 14: 13-18.
- Siqueira, C., Leal, J. R., Velloso, A. C. X. (1990c) Eletroquímica de solos tropicais de carga variável: III. Erros na avaliação das cargas. *Re. Bras. Ci. Solo*, 14: 19-24, 1990c.
- Skorgerboe, R. K., Wilson, S. A. (1981) Reduction of ionic species by fulvic acid. *Anal. Chem.*, 53: 228-232.
- Sposito, G. *Chemistry of Soil*. New York: Oxford Univ. Press, 1989. 277 p.
- Steel, R. G. D., Torrie, J. H. (1960) *Principles and procedures of statistics with special referende to the biological sciences*. McGraw-Hill Book Company, New York, 453p.
- Stevenson, F. J., (1994) *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. New York, John Wiley e Sons, 2. ed. 496 p.
- Struyk, Z., Sposito, G. (2001) Redox properties of standard humic acids. *Geoderma*, 102, 329-346.
- Stumm, W., Morgan, J. J., (1996) *Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters*. New York: Wiley-Interscience, 3.ed. 1022 p.
- Sunda, W. G., Kieber, D. J. (1994) Oxidation of humic substances by manganese oxides yields low-molecular-weight organic substrates. *Nature*, 367: 62–65.
- Szilágyi, M. (1971) Reduction of Fe^{3+} ion by humic acid preparations. *Soil Sci.*, 111: 233-235.
- Szilágyi, M. (1973) The redox properties and the determination of the normal potential of the peat-water system. *Soil Sci.*, 115: 434-437.
- Szilágyi, M. (1974) Valency changes of metal ions in the interaction with humic acids. *Fuel*, 53: 26-28.
- Taiz, L., Zeiger, S. (1991) *Plant physiology*. Redwood City, The Benjamin Cummings Publishing Company. 690p.

- Thurman, E. M., Malcolm, R. L. (1981) Preparative isolation of aquatic humic substances. *Environm. Sci. & Technol.*, 15: 463-466.
- Tratnyek, P. G., Macalady D. L. (2000) Abiotic reduction of nitro aromatic pesticides in anaerobic laboratory systems. *J. Agric. Food Chem.*, 3: 248–254.
- Velloso, A. C. X., Leal, J. R., Oliveira, C. de. (1993) Propriedades redox em Glei Húmico do Estado do Rio de Janeiro: II. Avaliação pelo parâmetro $p_e + pH$. *Re. Bras. Ci. Solo*, 17: 23-26.
- Volkoff, B., Cerri, C.C., Melfi, A.J. (1984) Húmus e mineralogia dos horizontes superficiais de três solos de campos de altitude dos estados de Minas Gerais, Paraná e Santa Catarina. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 8: 277-283.
- Visser, S. A. (1964) A physico-chemical study of the properties of humic acids and their changes during humification. *J. Soil Sci.*, 15:202-219.
- Vidal-Torrado, P., Macias, F., Calvo, R., Carvalho, S. G., Silva, A. C. (2006) Gênese de solos derivados de rochas ultramáficas no sudoeste de Minas Gerais. *R. Bras. Ci. Solo*, 30: 523-541.
- Wang, K., Xing, B. (2004) Proton correlation times and segmental mobility of humic acids in two solvents. *Soil Sci.*, 169: 168-175.
- Wilson, S. A., Weber, J. H. (1979) An EPR study of the reduction of vanadium (V) to vanadium (IV) by fulvic acid. *Chem. Geol.*, 26: 1240-1246.
- Zech, W., Senesi, N., Guggenberger, G., Kaiser, K., Lehmann, J., Miano, T.M. Miltner, A., Schroth, G. (1997) Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. *Geoderma*, 79: 117-161.

APÊNDICE

APÊNDICE A. Titulação redox iodimétrica de ácido húmico

Quadro 1A. Força eletromotriz (f.e.m.) de acordo com a adição de solução oxidante (I₂) ao titulado preparado com 4,15 mg de ácido húmico, referência “vermicomposto”, suspenso em 125 mL de tampão fosfato a pH 7,00, contendo KCl 0,05 mol L⁻¹

I ₂ ⁽¹⁾	f.e.m.										
μL	mV										
0	101	92	120	184	174	276	218	368	287	460	347
2	101	94	121	186	175	278	220	370	290	462	350
4	101	96	125	188	175	280	223	372	291	464	351
6	101	98	124	190	175	282	223	374	295	466	354
8	102	100	123	192	176	284	224	376	295	468	355
10	102	102	123	194	179	286	225	378	296	470	359
12	102	104	122	196	179	288	225	380	296	472	362
14	103	106	125	198	183	290	225	382	298	474	362
16	103	108	123	200	185	292	225	384	298	476	362
18	102	110	125	202	185	294	228	386	299	478	362
20	103	112	128	204	187	296	229	388	301	480	366
22	104	114	128	206	187	298	231	390	304	482	366
24	104	116	130	208	190	300	231	392	305	484	366
26	105	118	135	210	190	302	231	394	305	486	372
28	105	120	135	212	192	304	231	396	306	488	372
30	107	122	138	214	193	306	233	398	307	490	374
32	107	124	138	216	195	308	235	400	308	492	374
34	107	126	141	218	195	310	240	402	308	494	381
36	107	128	141	220	197	312	242	404	311	496	381
38	109	130	146	222	197	314	242	406	311	498	388
40	109	132	146	224	199	316	244	408	313	500	388
42	109	134	148	226	199	318	244	410	314	502	389
44	109	136	152	228	199	320	247	412	316	504	394
46	110	138	152	230	201	322	247	414	316	506	394
48	110	140	154	232	201	324	247	416	318	508	396
50	110	142	154	234	205	326	250	418	321	510	396
52	112	144	154	236	205	328	253	420	321	512	399
54	111	146	155	238	205	330	253	422	322	514	402
56	112	148	155	240	209	332	255	424	324	516	402
58	112	150	155	242	209	334	255	426	324	518	405
60	114	152	155	244	210	336	259	428	326	520	408
62	114	154	155	246	211	338	259	430	326	522	411
64	114	156	155	248	211	340	259	432	327	524	411
66	115	158	160	250	212	342	261	434	327	526	469
68	116	160	160	252	212	344	261	436	327	528	469
70	116	162	161	254	212	346	263	438	330	530	469
72	117	164	163	256	211	348	265	440	330	532	469
74	117	166	165	258	211	350	265	442	332	534	469
76	118	168	166	260	212	352	269	444	332	536	469
78	119	170	167	262	212	354	274	446	335	538	469
80	120	172	167	264	212	356	275	448	339	540	469
82	120	174	167	266	215	358	279	450	339	550	469
84	120	176	170	268	214	360	279	452	339	600	469
86	120	178	170	270	215	362	280	454	344	650	469
88	120	180	170	272	215	364	281	456	344		
90	120	182	174	274	216	366	287	458	347		

⁽¹⁾ Molinidade = 0,0308 mol kg⁻¹ e Densidade = 1,099 kg L⁻¹.