

Fracionamento químico do húmus

Introdução

Extração

Considerações gerais

Associações

Extratores: tipos, princípios, vantagens e desvantagens

Método internacional

Purificação para análises químicas e físico-químicas

Exemplos de fracionamento

Críticas e comentários

Fracionamento químico do húmus



Introdução

Extração

Considerações gerais

Associações

Extratores: tipos, princípios, vantagens e desvantagens

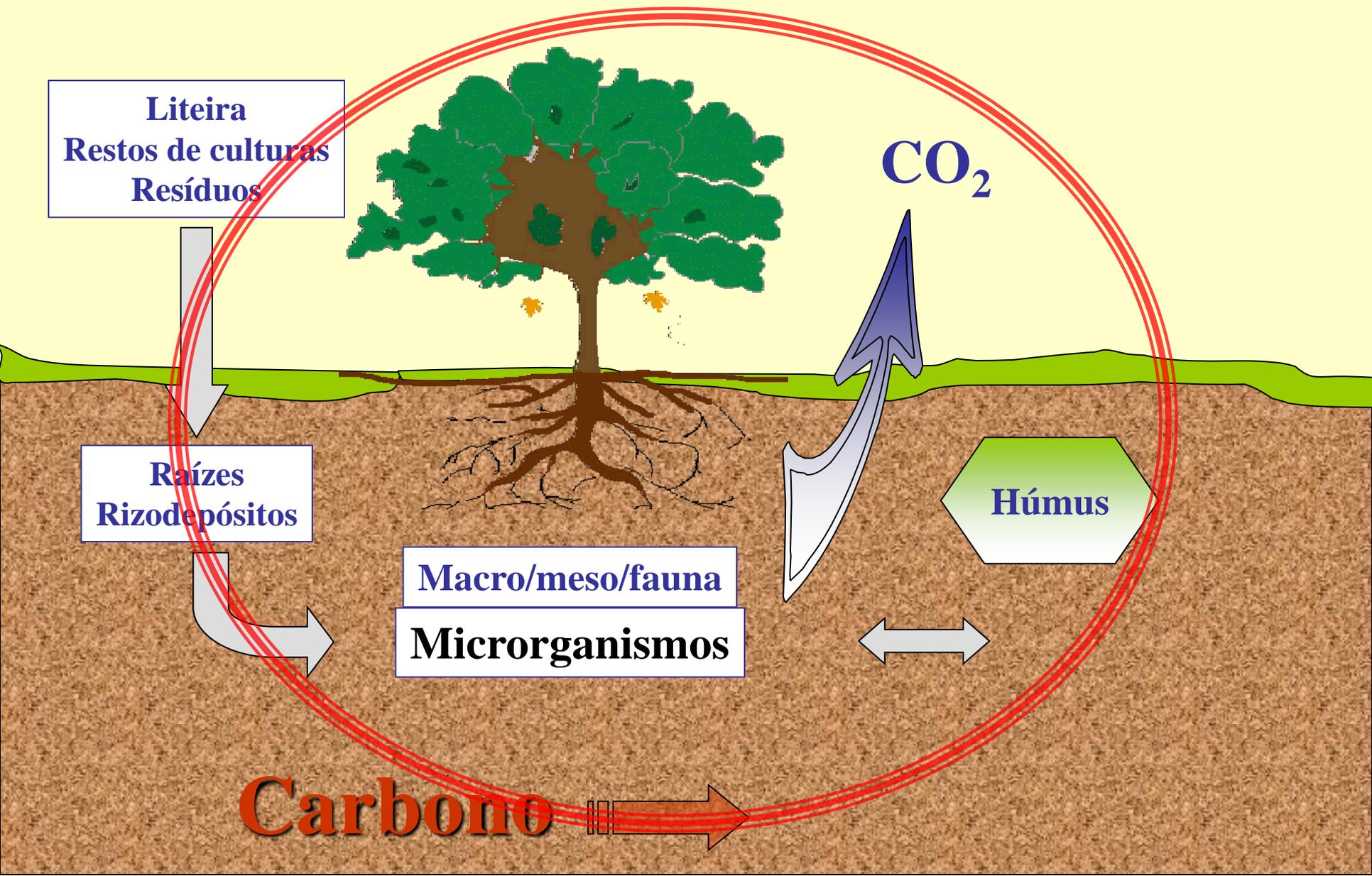
Método internacional

Purificação para análises químicas e físico-químicas

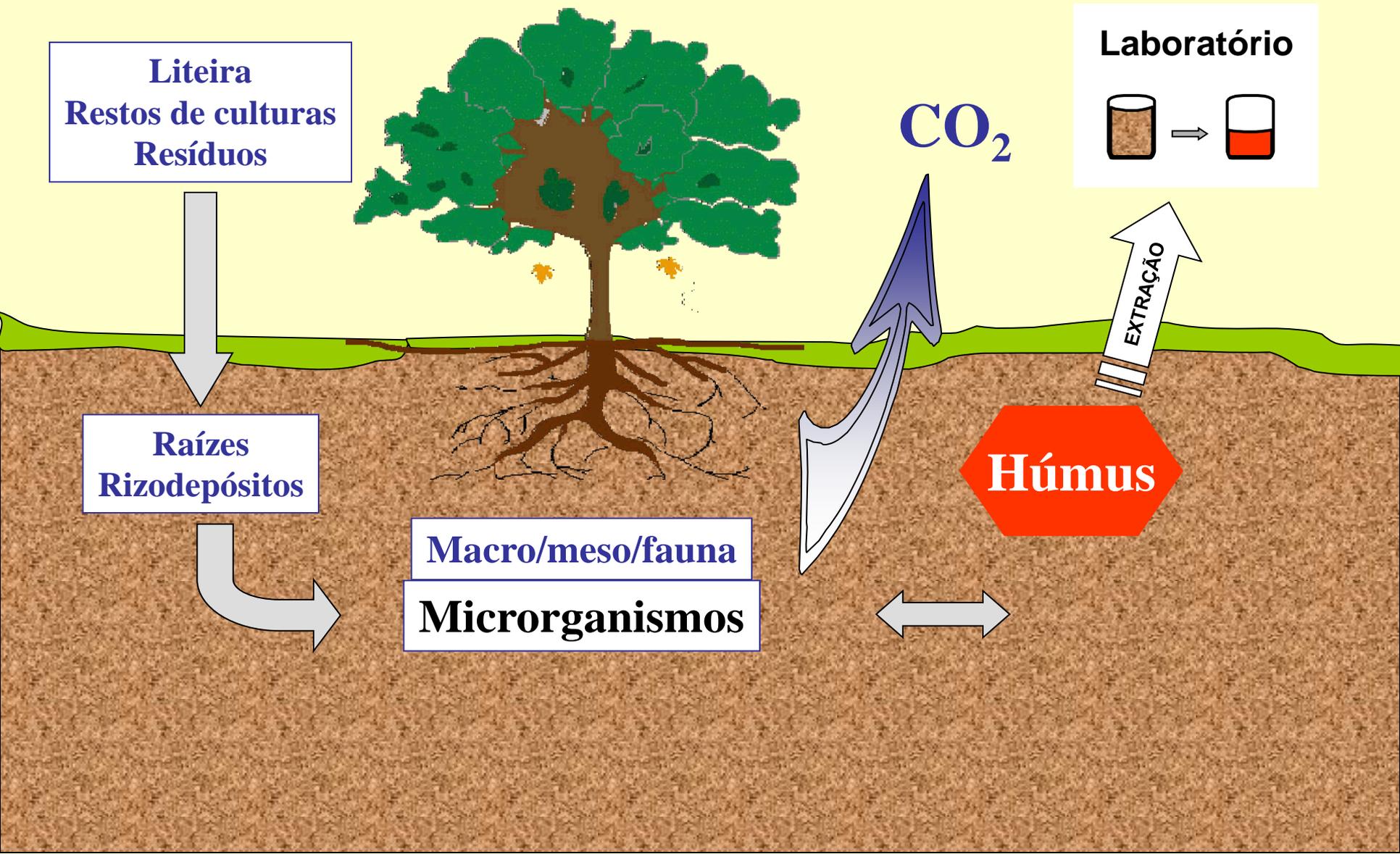
Exemplos de fracionamento

Críticas e comentários

Fracionamento químico do húmus: introdução



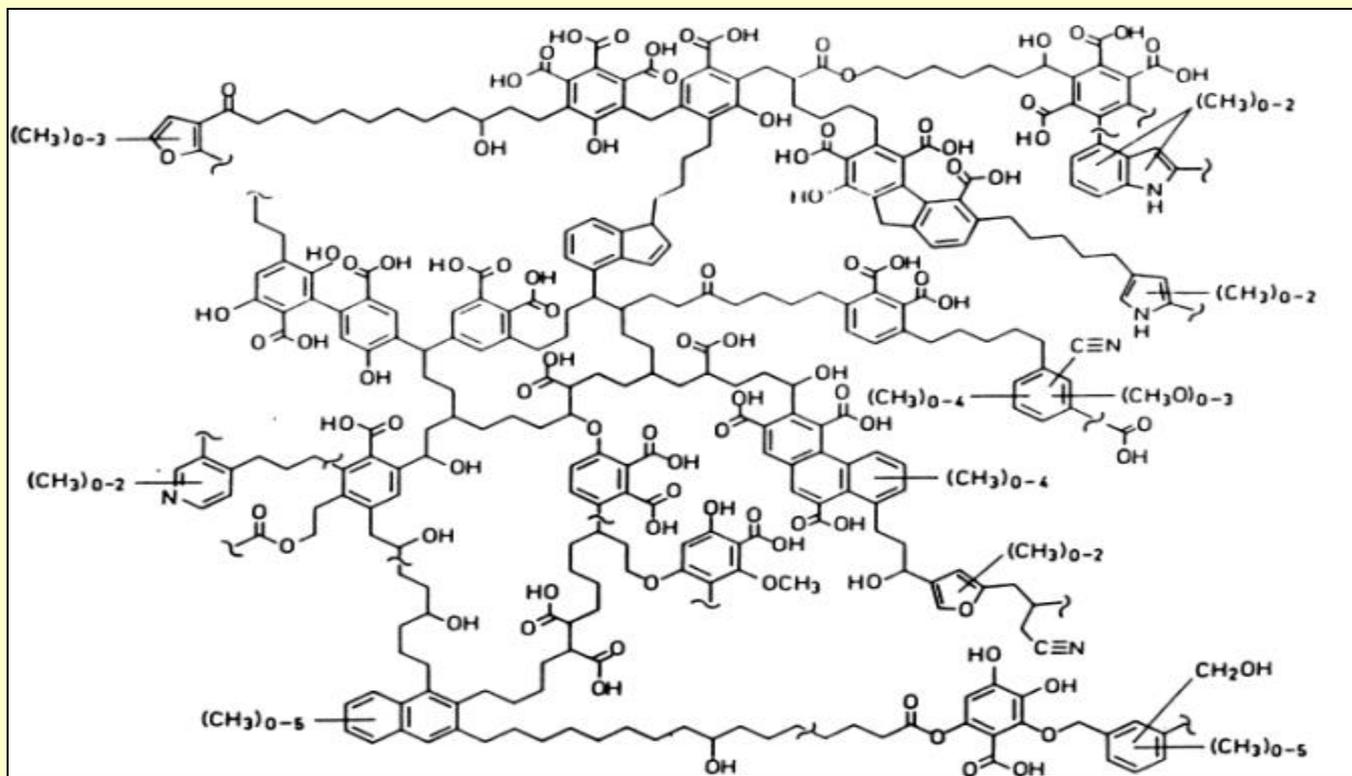
Fracionamento químico do húmus: introdução



Fracionamento químico do húmus: introdução

Definição (antiga) de substâncias húmicas

Mistura complexa e recalcitrante de substâncias orgânicas amorfas e coloidais de cor marrom ou marrom escuro, modificadas a partir de tecidos orgânicos ou de materiais orgânicos pelos organismos do solo (Stevenson, 1994)

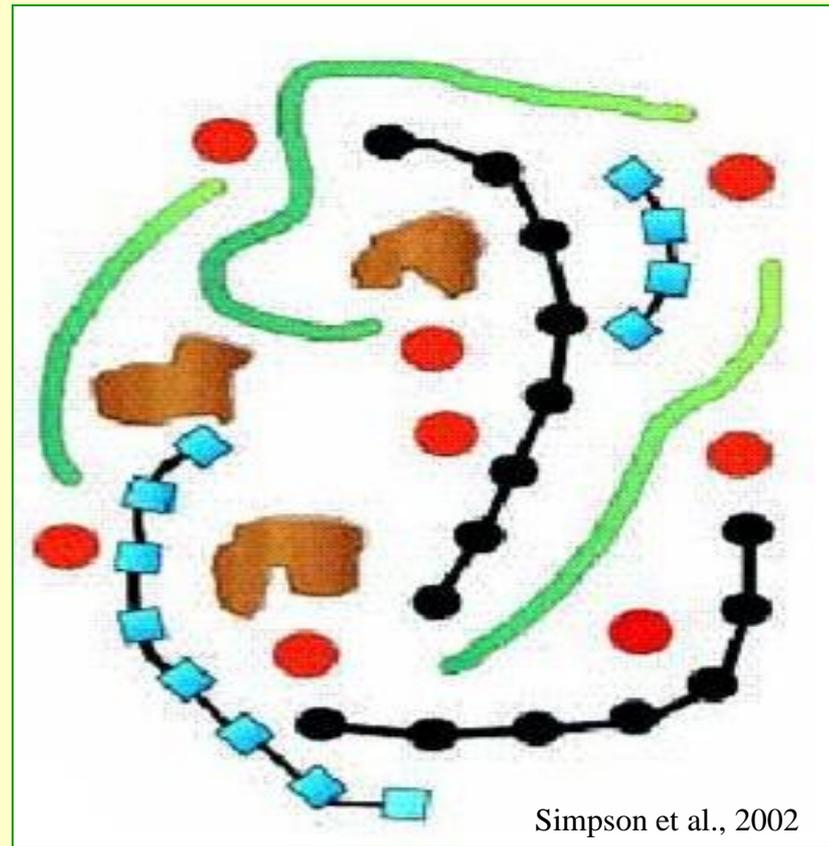


Schulten e
Schnitzer (1993)

Definição moderna de substâncias húmicas (SH)

Conjunto diversificado de componentes com relativamente baixo peso molecular, formando associações dinâmicas estabilizadas por interações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio (Sutton & Sposito, 2005).

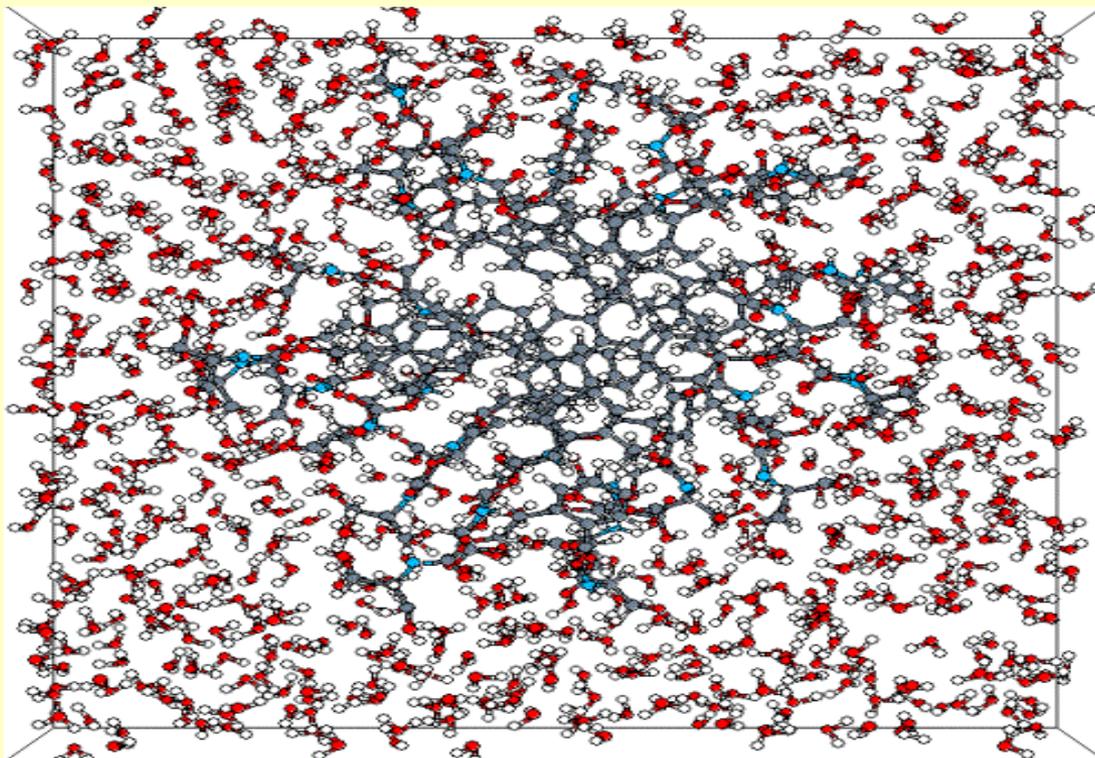
-  Cátions metálicos
-  polissacarídeos
-  polipeptídios
-  cadeias alifáticas
-  fragmentos aromáticos



Definição moderna de substâncias húmicas (SH)

Sutton & Sposito (2005) introduzem o conceito de estrutura micelar

Arranjo de moléculas orgânicas em solução aquosa para formar regiões exteriores de característica hidrofílica protegendo (do contacto das moléculas de água) regiões interiores de característica hidrofóbica



Oxigênio

Carbono

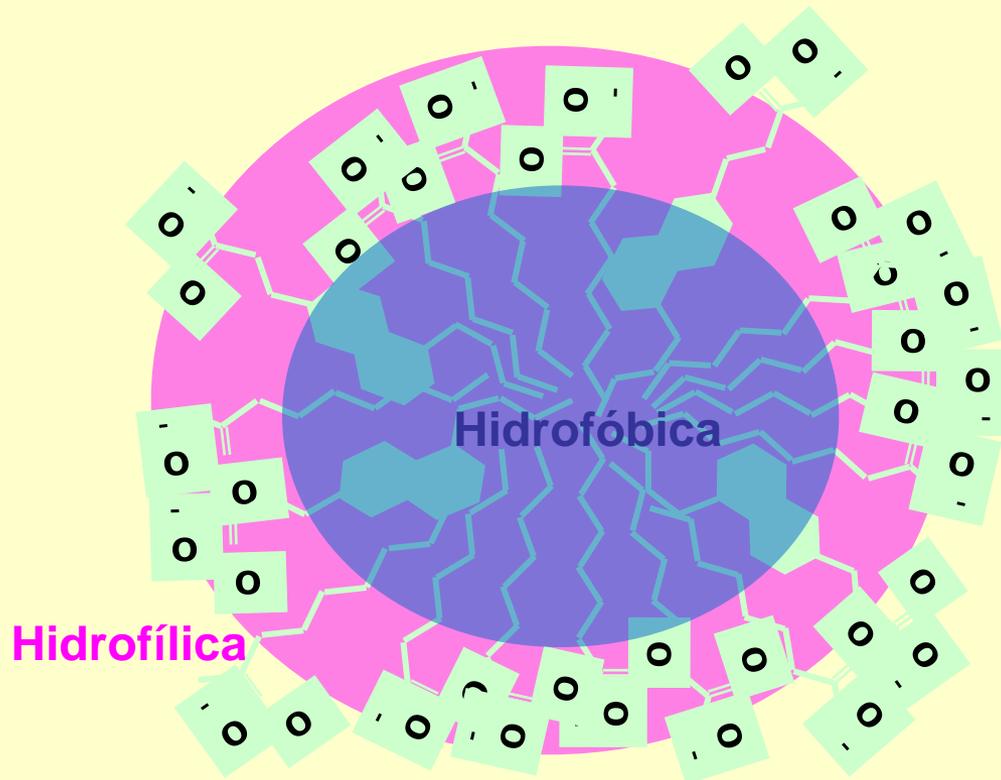
Nitrogênio

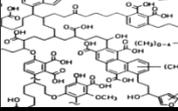
Hidrogênio

Definição moderna de substâncias húmicas (SH)

Sutton & Sposito (2005) introduzem o conceito de estrutura micelar

Arranjo de moléculas orgânicas em solução aquosa para formar regiões exteriores de característica hidrofílica protegendo (do contacto das moléculas de água) regiões interiores de característica hidrofóbica



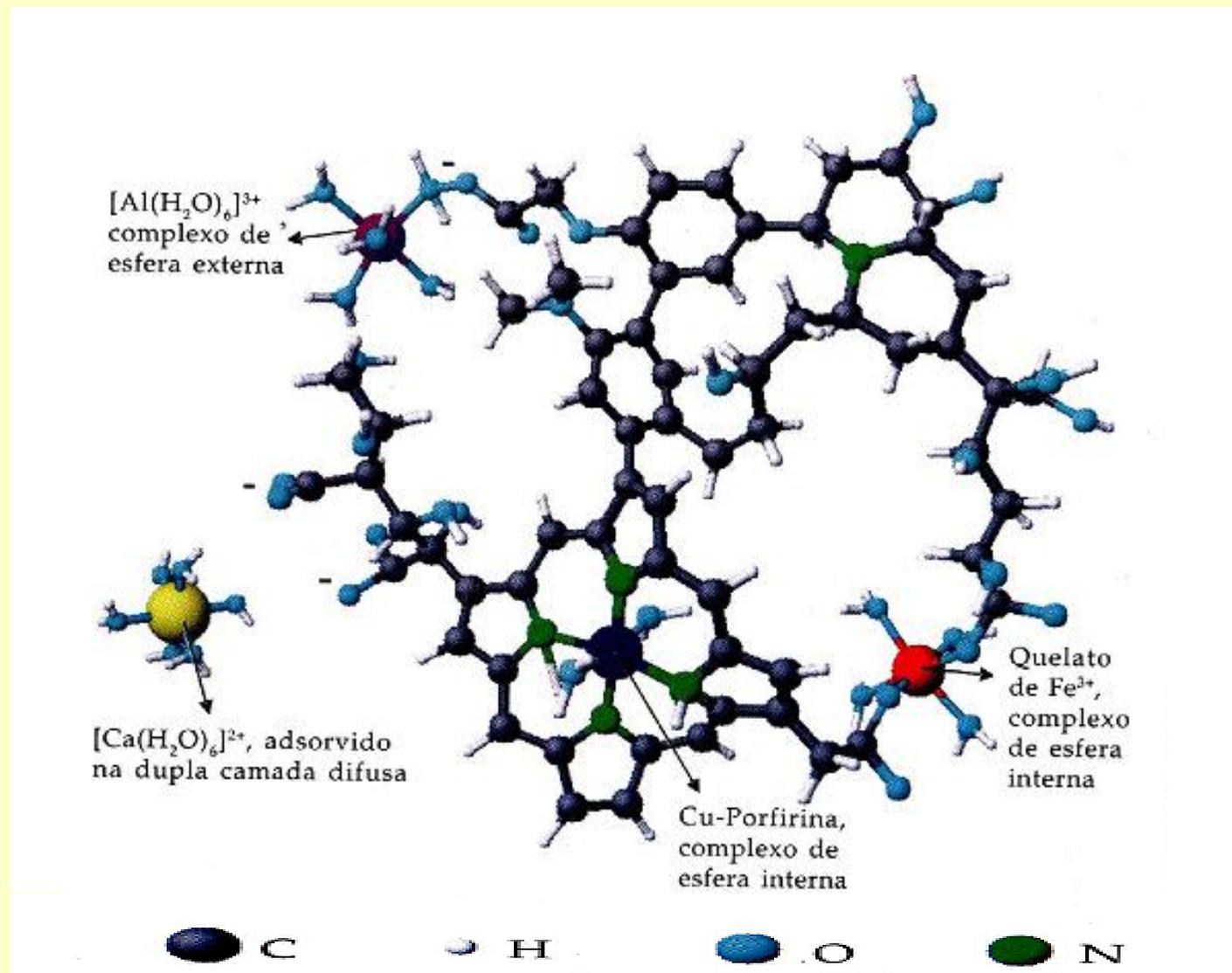
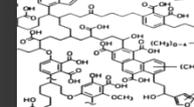


Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

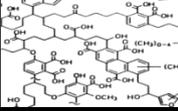
Morfologia dos ácidos húmicos e fúlvicos



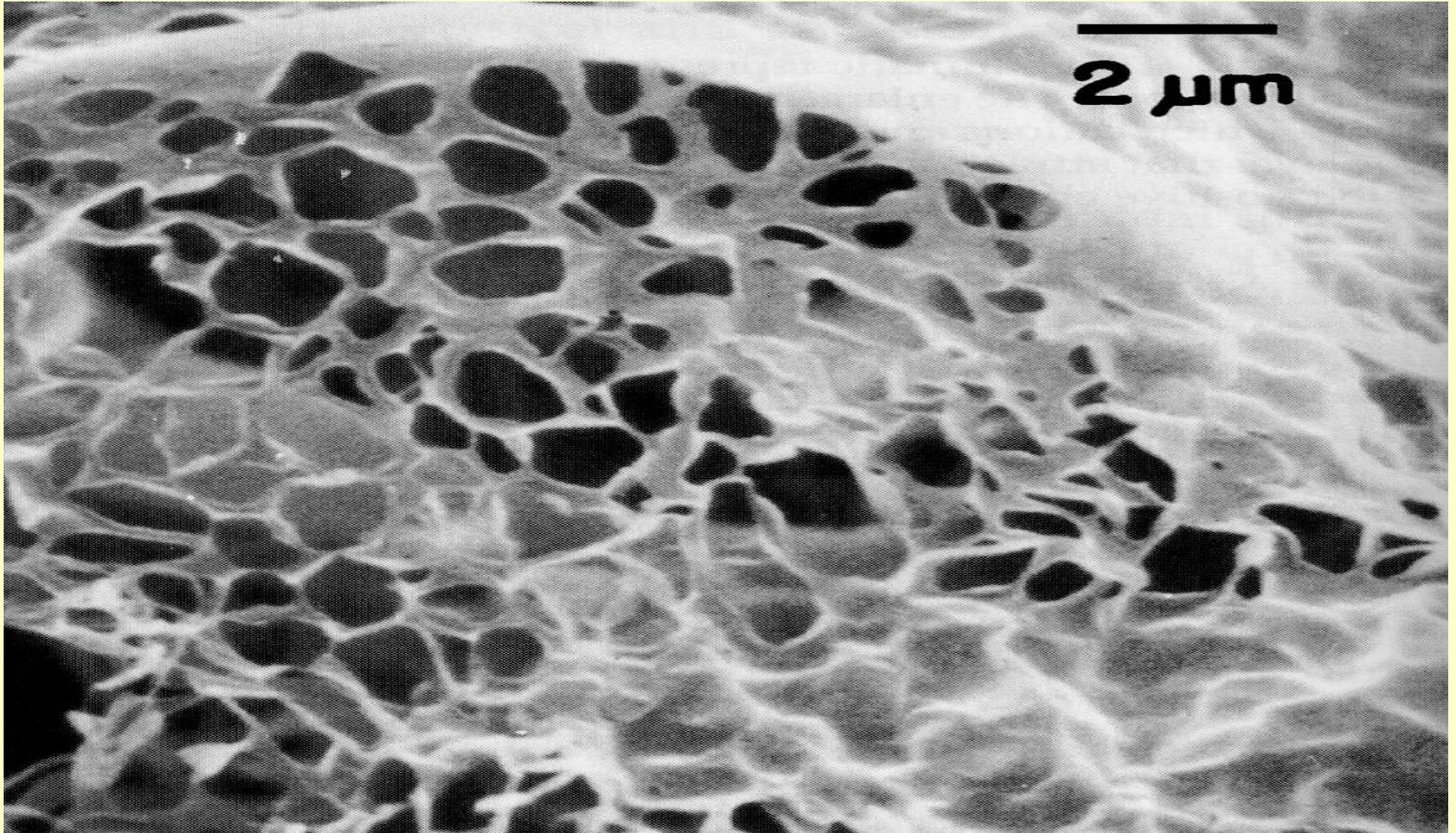
Técnicas analíticas de caracterização de substâncias húmicas



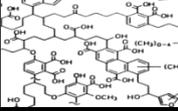
Adaptado de Dick et al. (2009)



Ácido fúlvico

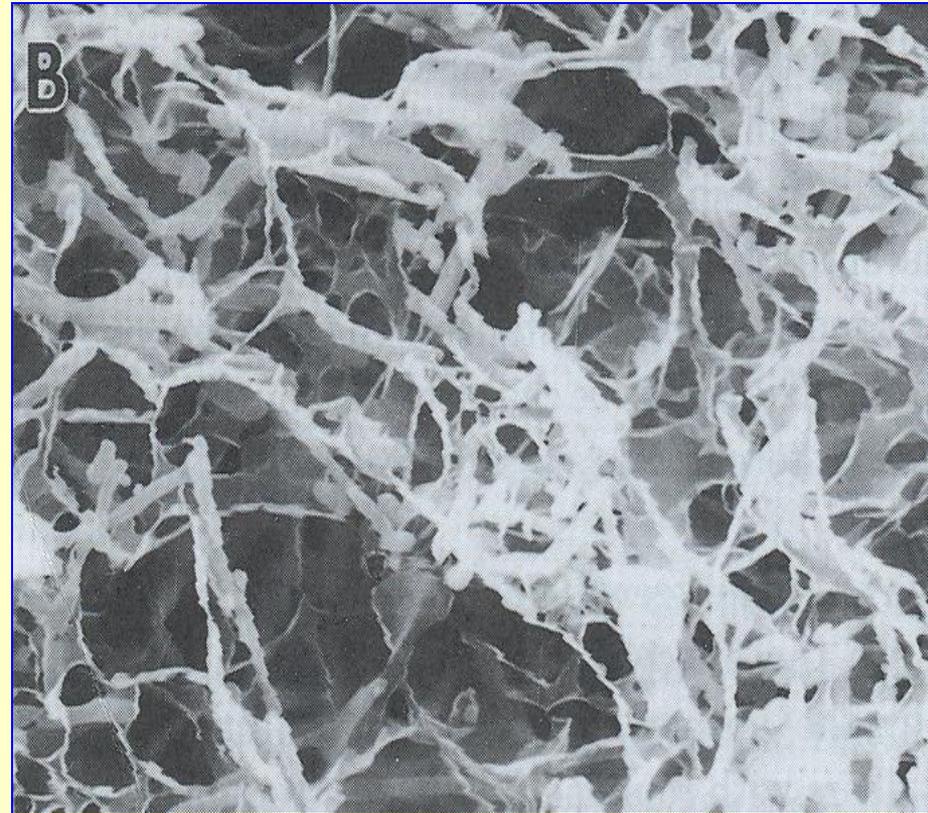
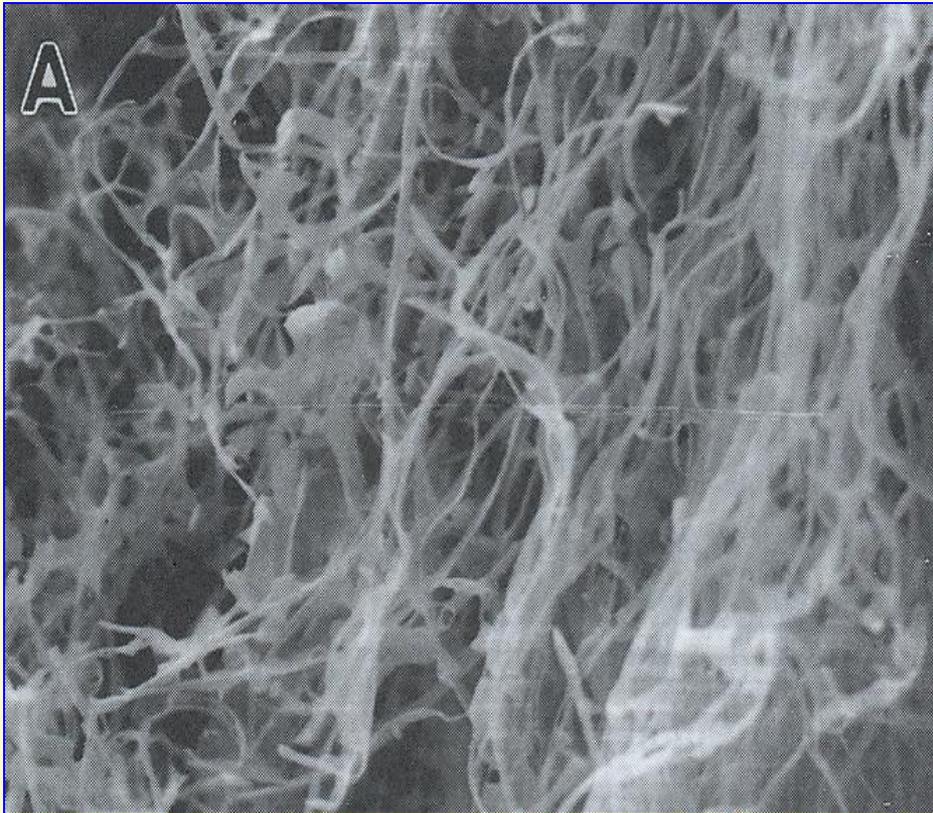


Microscopia Eletrônica de Varredura (aumento de 23.000 vezes)

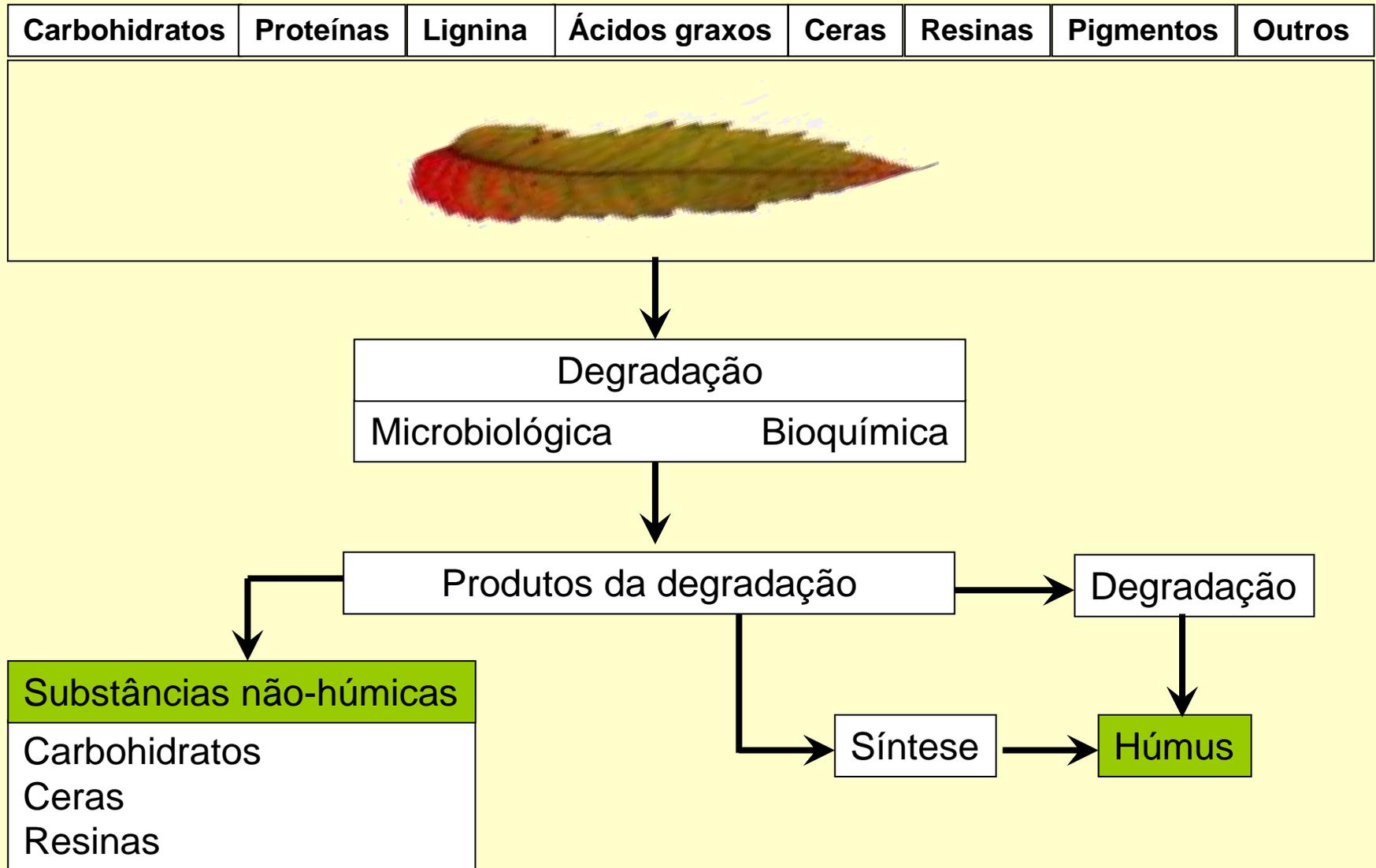


Ácido fúlvico

Ácido húmico

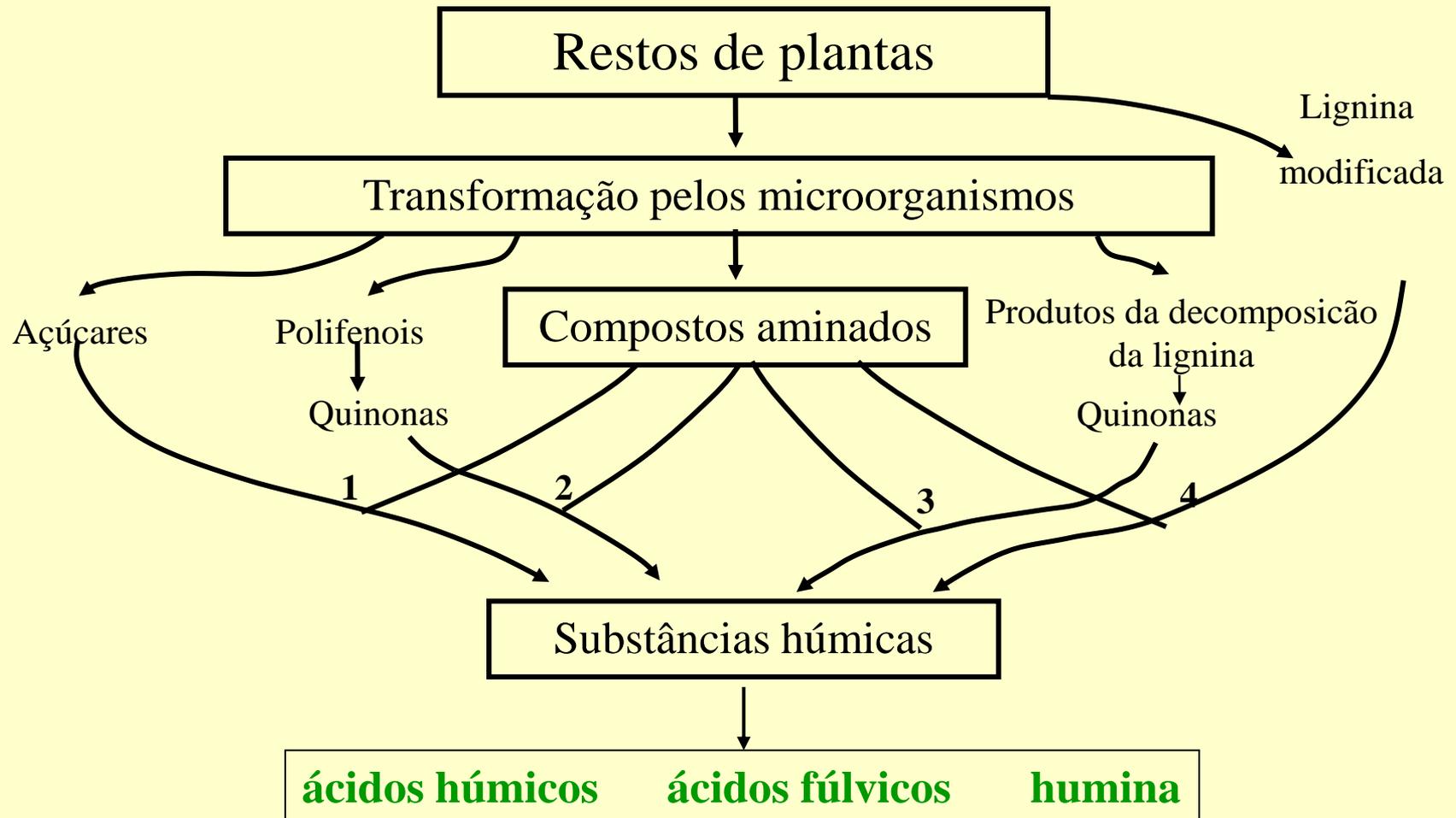


Gênese do húmus: bioquímica da formação de SH



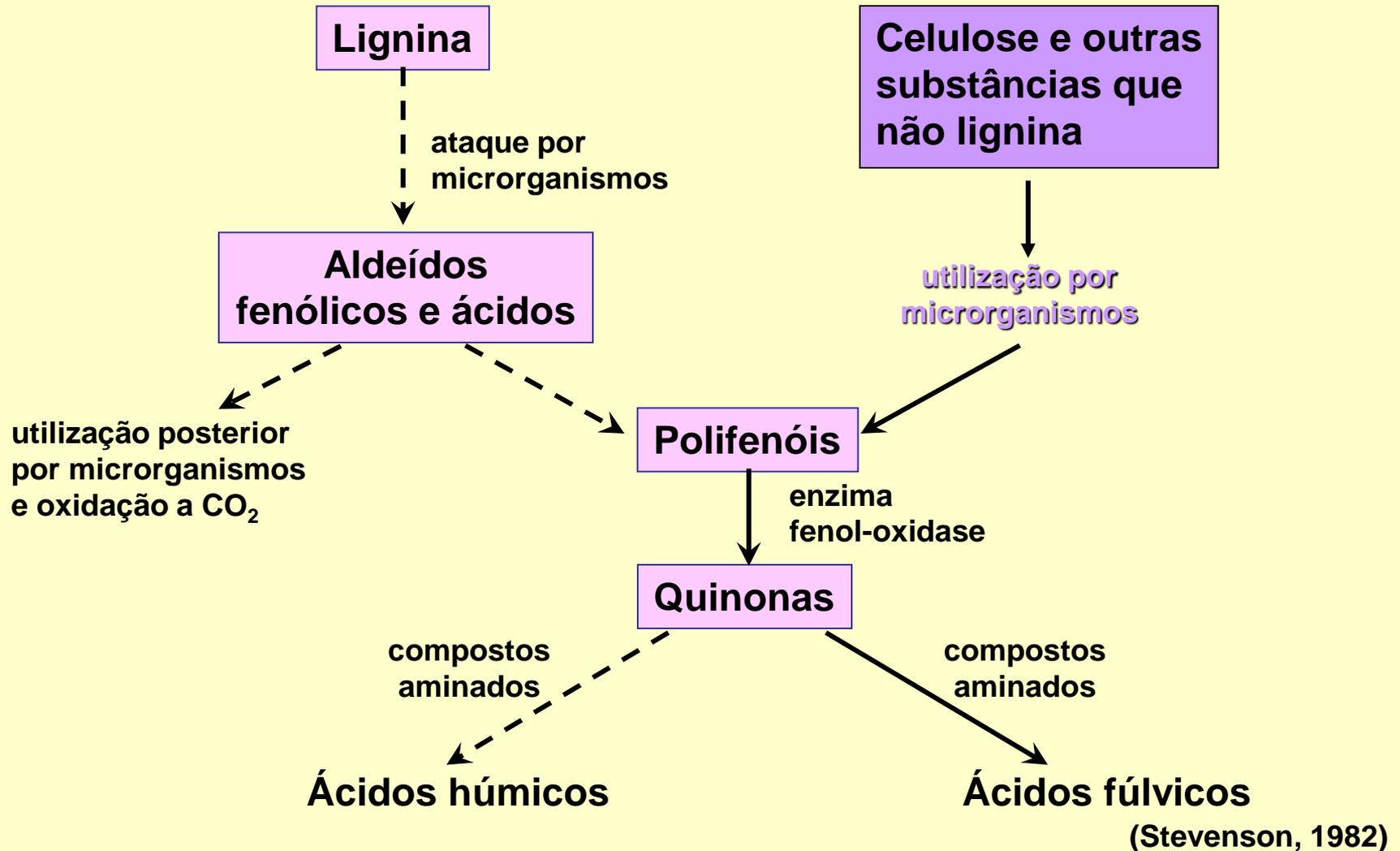
Gênese do húmus: bioquímica da formação de SH

Principais vias de formação das substâncias húmicas



Gênese do húmus: bioquímica da formação de SH

Teoria da formação do húmus via polifenóis



Fracionamento químico do húmus



Introdução

Extração

Considerações gerais

Associações

Extratores: tipos, princípios, vantagens e desvantagens

Método internacional

Purificação para análises químicas e físico-químicas

Exemplos de fracionamento

Críticas e comentários

Fracionamento químico do húmus: extração

Associações das substâncias húmicas no solo

Característica principal: insolubilidade em água

Métodos de extração devem considerar os diferentes tipos de retenção:

- 1) Complexos macromoleculares insolúveis
Exemplos: a) turfa
 b) horizontes ricos em matéria orgânica

Fracionamento químico do húmus: extração

Associações das substâncias húmicas no solo

Característica principal: insolubilidade em água

Métodos de extração devem considerar os diferentes tipos de retenção:

- 2) Complexos macromoleculares ligados a cátions di e trivalentes (Ca^{2+} , Fe^{3+} e Al^{3+})



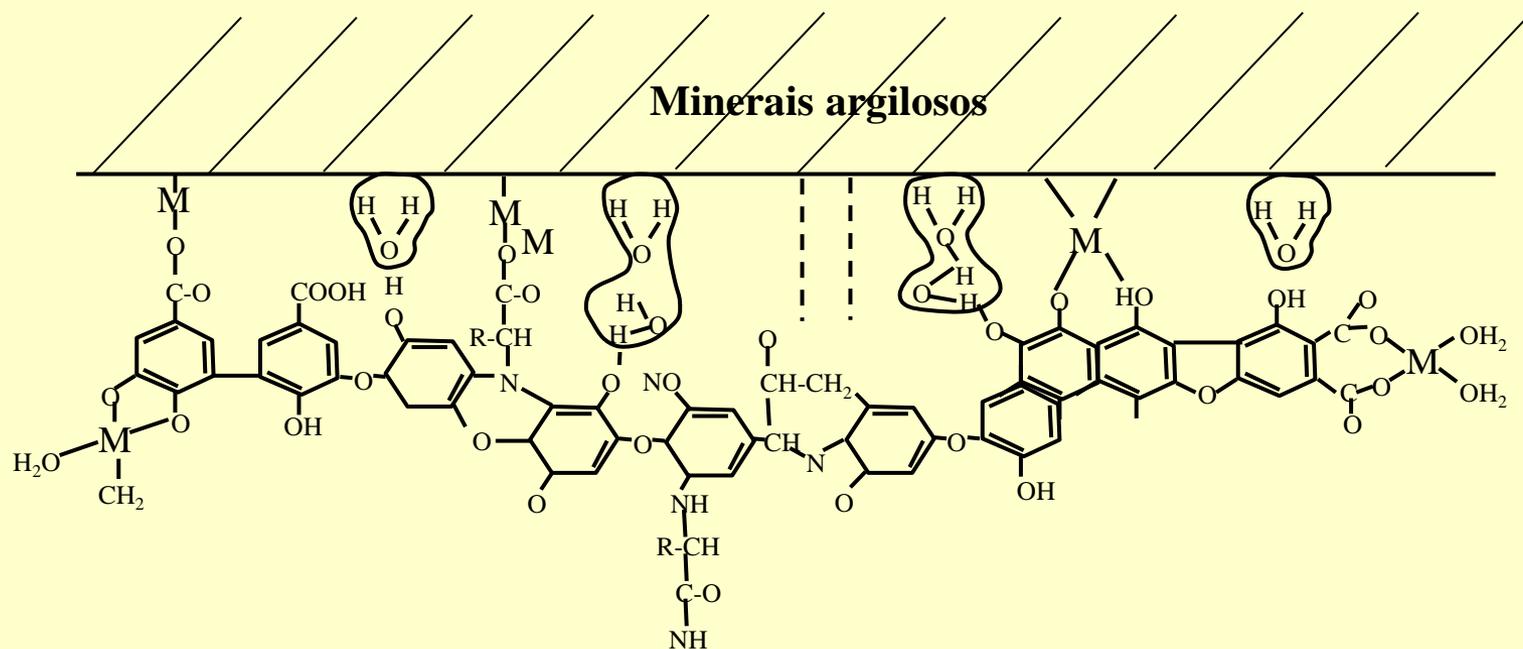
Fracionamento químico do húmus: extração

Associações das substâncias húmicas no solo

Característica principal: insolubilidade em água

Métodos de extração devem considerar os diferentes tipos de retenção:

3) Combinação com minerais de argila, tais como através de ligações por cátions polivalentes (argila-metal-humus) e ligações por Hidrogênio e outras



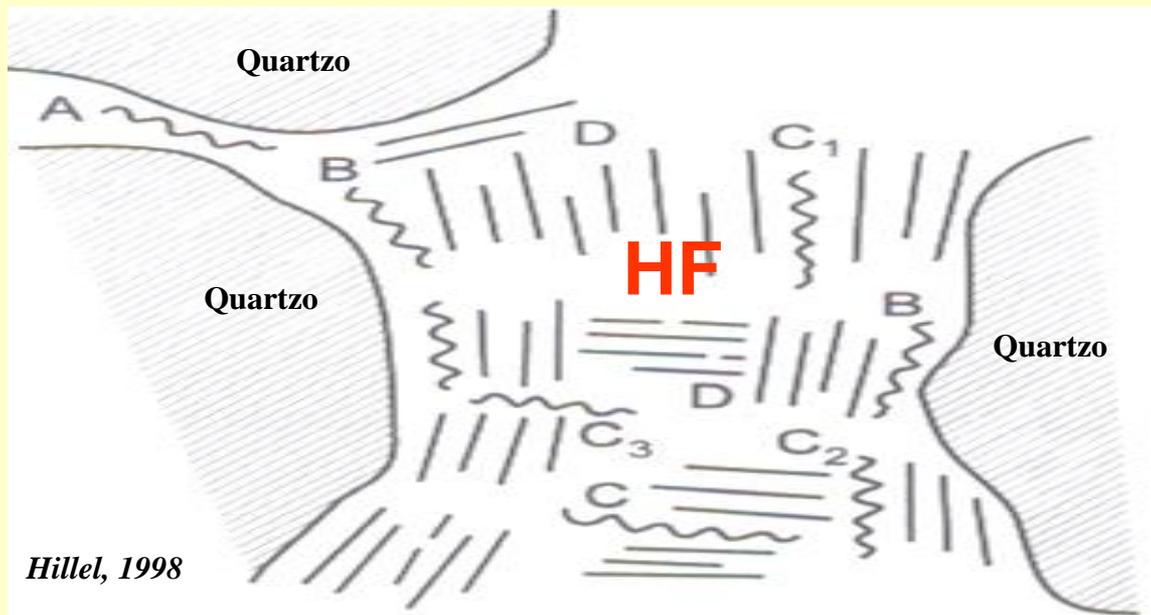
Fracionamento químico do húmus: extração

Associações das substâncias húmicas no solo

Característica principal: insolubilidade em água

Métodos de extração devem considerar os diferentes tipos de retenção:

- 4) Substâncias orgânicas presas nas interlamelas de argilo-minerais expansíveis.



A: quartzo - colóide orgânico - quartzo

B: quartzo - colóide orgânico - argila

C: argila - colóide orgânico - argila

C1: face - face

C2: face - extremidade

C3: extremidade - extremidade

D: argila face - argila extremidade

(negativo)

(positivo)

Fracionamento químico do húmus



Introdução

Extração

Considerações gerais

Associações

Extratores: tipos, princípios, vantagens e desvantagens

Método internacional

Purificação para análises químicas e físico-químicas

Exemplos de fracionamento

Críticas e comentários

Fracionamento químico do húmus: extração

Extratores e princípios

Reagentes mais empregados na extração de substâncias húmicas

Extrator	% de substância orgânica extraída
<u>Base forte</u>	
NaOH	até 80%
Na ₂ CO ₃	até 30%
<u>Sal neutro</u>	
Na ₄ P ₂ O ₇	até 30%
NaF	
Sal de ácido orgânico	até 30%
<u>Quelato orgânico</u>	
Acetilacetona	até 30%
8-hidroxiquinolina	até 55%
Ácido Fórmico	até 55%
Acetona-H ₂ O-HCl	até 20%

Fracionamento químico do húmus: extração

Extratores e princípios

Pré-tratamento

- **Reagentes:**

Ácido clorídrico (HCl 0,1 mol L^{-1})

ou

Ácido fosfórico (H_3PO_4 2 mol L^{-1}) densidade 1,2

- **Finalidade:**

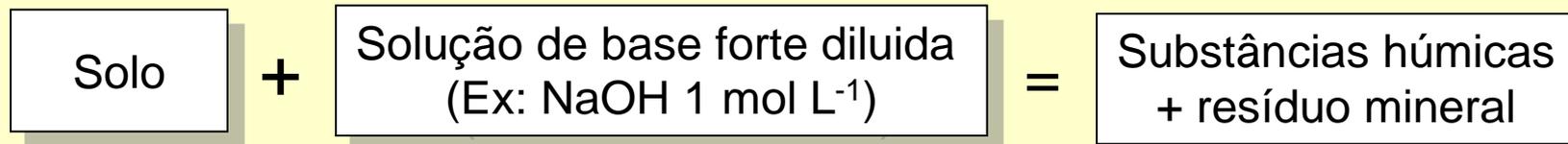
Facilitar o processo de extração pela remoção de cátions polivalentes (Ca^{2+} , Fe^{3+} e Al^{3+})

Evitar a formação de artefatos (SH formadas artificialmente pelos extratores) pela remoção de restos vegetais e animais

Fracionamento químico do húmus: extração

Extratores e princípios

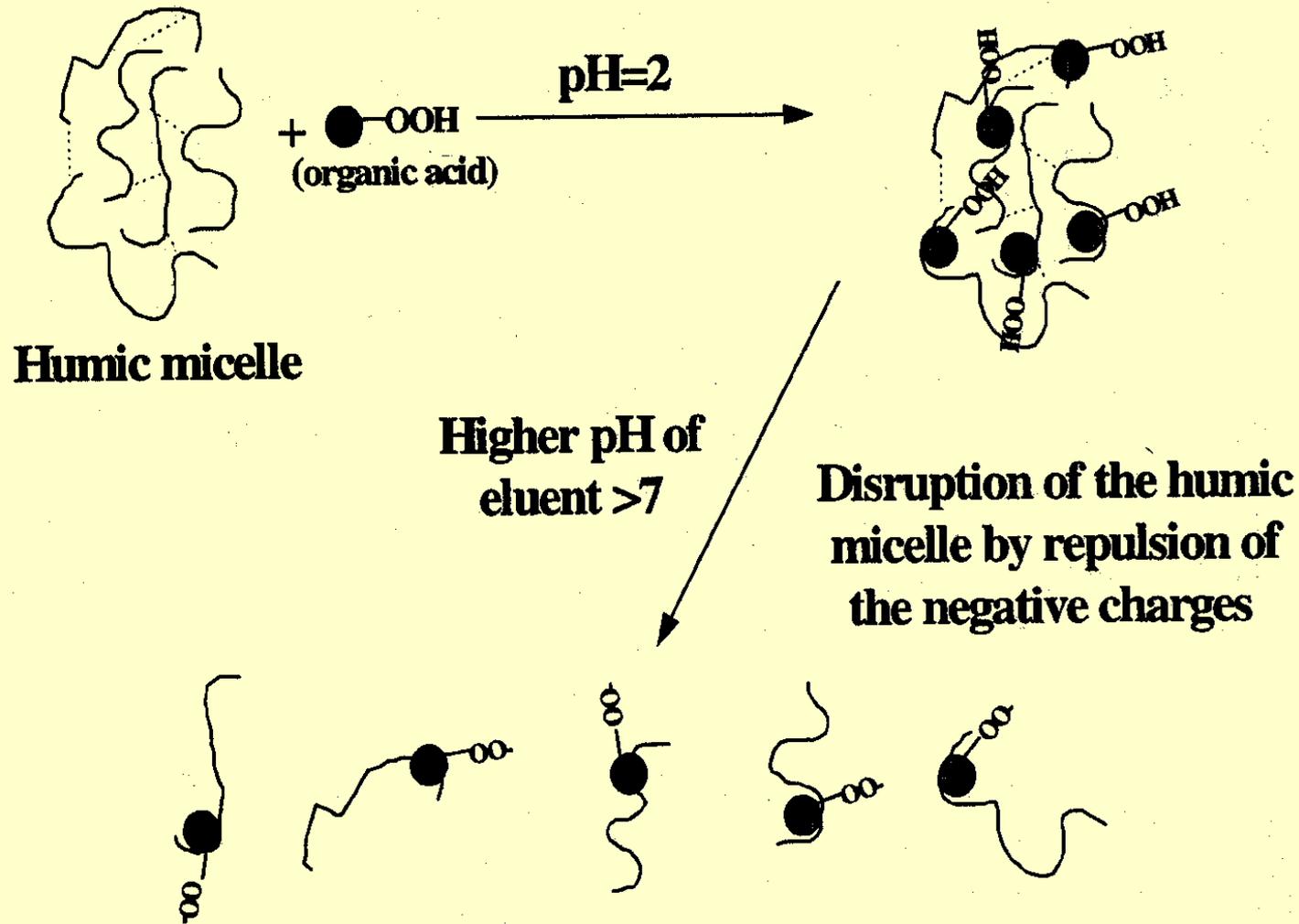
Extração com Base forte



Mecanismo

Repulsão eletrostática das cargas negativas dos grupos funcionais das substâncias húmicas

Fracionamento químico do húmus: extração



Fracionamento químico do húmus: extração

Extratores e princípios

Extração com Base forte

Vantagens:

- Maior capacidade de extração (~80%)
- Facilidade de retirada (purificação) do extrator
- Baixo custo
- Não exige cuidados especiais no laboratório

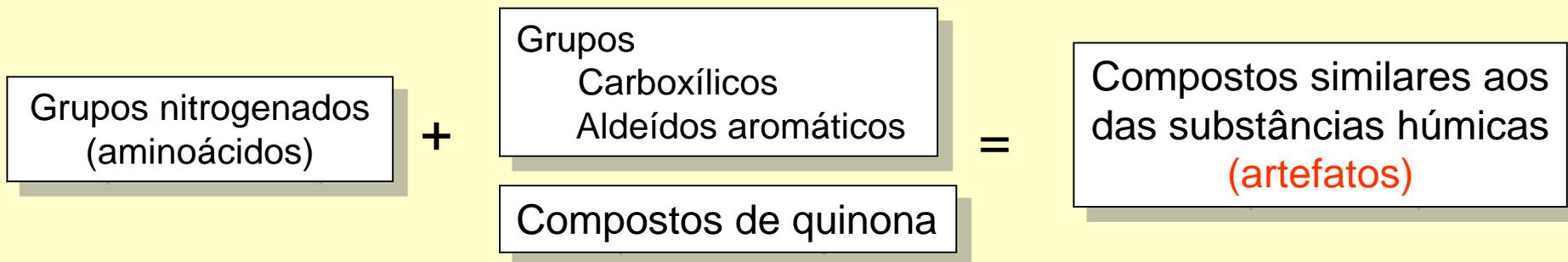
Fracionamento químico do húmus: extração

Extratores e princípios

Extração com Base forte

Desvantagens:

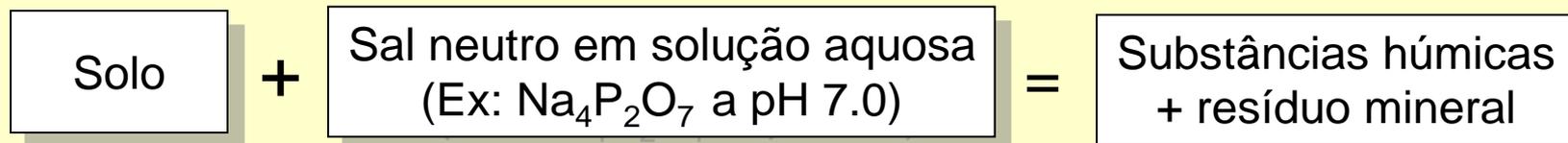
- Dissolução da sílica de material silicatado (contaminante nas análises seguintes)
- Dissolução de biopolímeros de tecidos vegetais frescos
- Condições alcalinas: artefatos na estrutura do material humificado através de reações de auto-oxidação e condensação entre:



Fracionamento químico do húmus: extração

Extratores e princípios

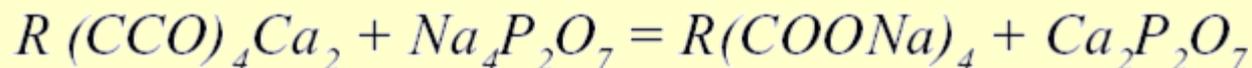
Extração com Sal neutro



Mecanismo

As substâncias húmicas estão presentes no solo na forma floculada ou em condições insolúveis devido a presença de Ca^{2+} ou outros cátions polivalentes (Fe^{3+} e Al^{3+})

Reagentes que inativam os cátions polivalentes formando precipitados insolúveis ou complexos solúveis conduzem a solubilização de SH em meio contendo Na^+ , K^+ , NH_4^+



Fracionamento químico do húmus: extração

Extratores e princípios

Extração com Sal neutro

Vantagens:

- Diminui a auto-oxidação e portanto, a quantidade de artefatos
- Baixo custo
- Não exige cuidados especiais no laboratório

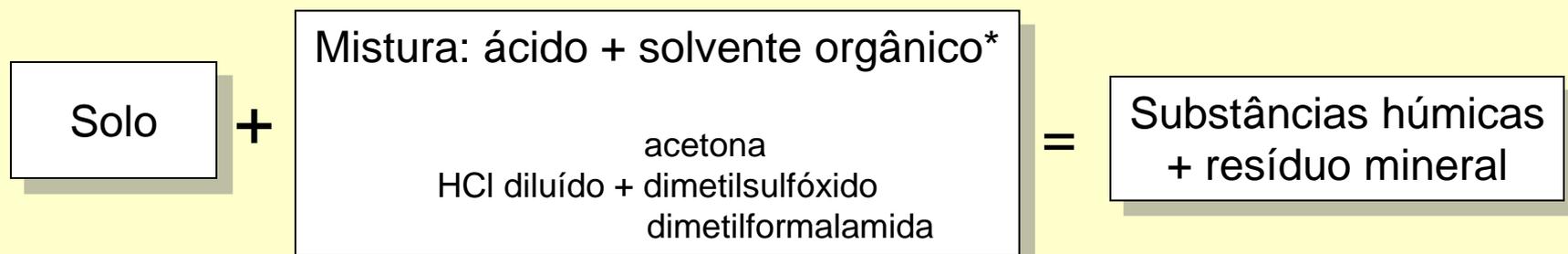
Desvantagens:

- Pouca quantidade de material extraído (~30%)
- Maior remoção de silício
- Incorporação de fosfato nas estruturas

Fracionamento químico do húmus: extração

Extratores e princípios

Extração com Quelato orgânico



Mecanismo

O HCl facilita a separação de colóides orgânicos da porção mineral do solo pela quebra das ligações dos sais polivalentes.

Após a ruptura das ligações iônicas, os solventes orgânicos competem com os colóides orgânicos nos locais de sorção.

* Solvente orgânico dipolar aprótico

Fracionamento químico do húmus: extração

Extratores e princípios

Extração com Quelato orgânico

Vantagens:

- Diminui a quantidade de sílica removida junto com as substâncias húmicas
- Obtenção de SH com características mais homogêneas e de dimensões moleculares menores
- A mistura ácido+solvente orgânico (acetona) é facilmente separada com evaporador rotativo e em baixas temperaturas

Desvantagens:

- Baixo rendimento da extração
- Alto custo
- Risco de contaminação e acidentes em laboratório convencional de análise de solo
- Substâncias húmicas com características funcionais distintas das preconizados pelo método internacional (IHSS)

Fracionamento químico do húmus

Introdução

Extração

Considerações gerais

Associações

Extratores: tipos, princípios, vantagens e desvantagens

Método internacional

Purificação para análises químicas e físico-químicas

Exemplos de fracionamento

Críticas e comentários

Fracionamento químico do húmus: extração

Método internacional IHSS (www.ihss.gated.edu)

Resumo (Canellas et al., 2005)

- 1) Extração inicial com HCl 0,1 mol L⁻¹ na razão 1:10 (m/v) (1 g : 10 mL) de terra fina seca ao ar com valor de pH ajustado entre 1-2. A suspensão é agitada por uma hora.
- 2) A separação do sobrenadante do resíduo é realizada por decantação (centrifugação a baixa velocidade). O sobrenadante é guardado para isolamento com resina XAD-8 (Extrato AF-1).
- 3) O resíduo é neutralizado com NaOH 1 mol L⁻¹ até pH 7,0 e adicionado NaOH 0,1 mol L⁻¹ sob atmosfera de N₂ na razão solo: extrator 1:10 (m/v).
- 4) A suspensão é agitada intermitentemente por pelo menos 4 horas sob atmosfera inerte de N₂. O sobrenadante é coletado através de decantação e/ou centrifugação.
- 5) O sobrenadante é acidificado a pH~1 com HCl 6 mol L⁻¹ e a suspensão resfriada e mantida em repouso por 12-16 horas.
- 6) Os ácidos húmicos (precipitado) são separados dos ácidos fúlvicos (sobrenadante – Extrato AF-2) por centrifugação.
- 7) A fração ácidos húmicos é redissolvida adicionando-se um volume mínimo de KOH 0,1 mol L⁻¹ sob N₂. É adicionado KCl sólido até concentração 0,3 mol L⁻¹ e o sistema centrifugado em alta velocidade para remoção de sólidos suspensos.
- 8) Os ácidos húmicos são reprecipitados como no passo 5. O sobrenadante é descartado.
- 9) O precipitado de ácidos húmicos é resuspenso em HCl 0,1 mol L⁻¹ – HF 0,3 mol L⁻¹ em frasco plástico e agitado à temperatura ambiente por uma noite.
- 10) Os ácidos húmicos são centrifugados e repetido o tratamento com HCl:HF se o teor de cinzas permanecer alto (> 1%). Lavagem dos ácidos húmicos com HCl 0,01 mol L⁻¹.
- 11) Transferir os ácidos húmicos para membrana de diálise e realizar a diálise contra água deionizada até teste negativo com AgNO₃ ou até a condutividade elétrica da água não apresentar mudanças.

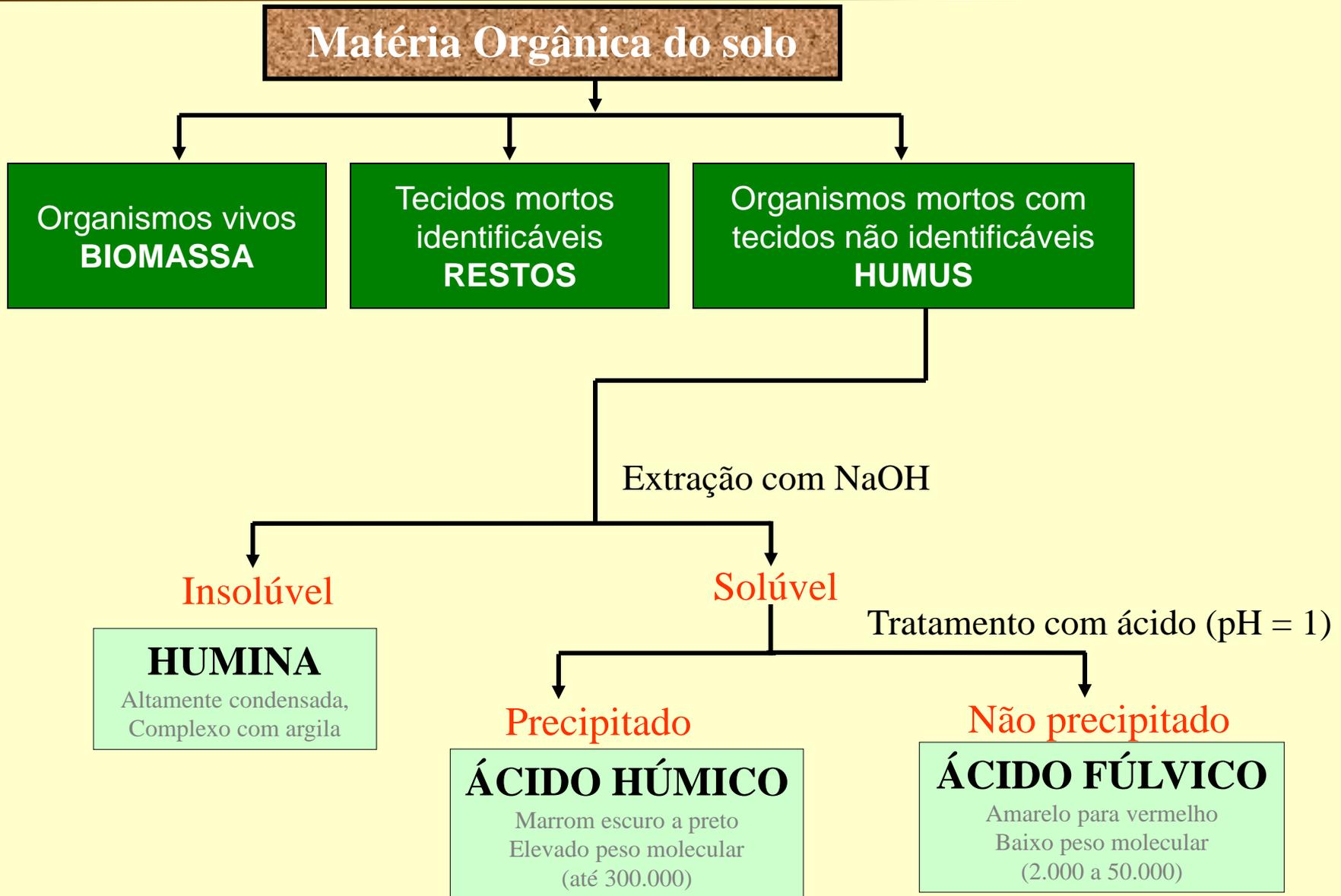
Fracionamento químico do húmus: extração

Método internacional IHSS (www.ihss.gated.edu)

Resumo (Canellas et al., 2005)

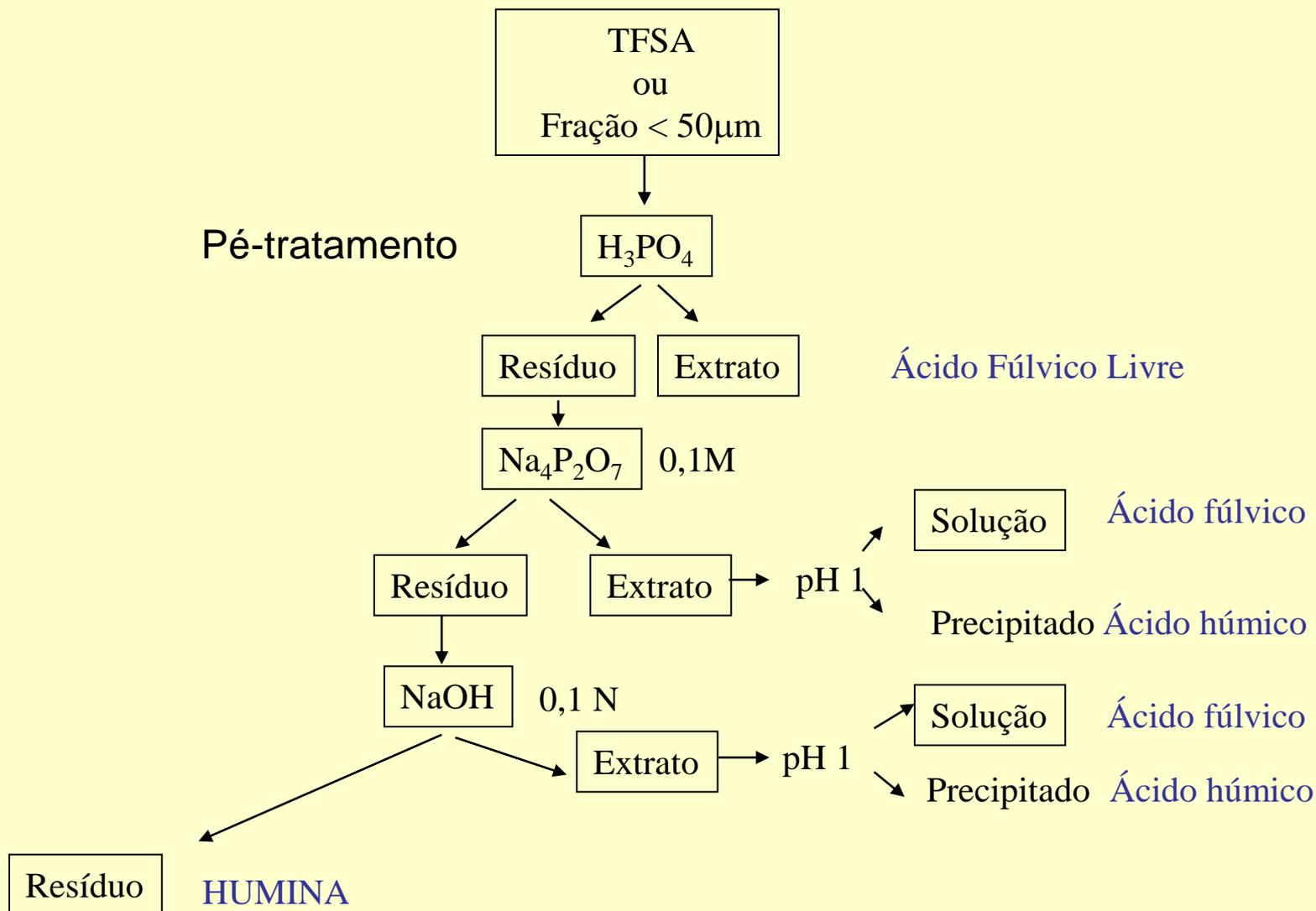
- 12) Os ácidos húmicos são secos por liofilização.
- 13) O sobrenadante do passo 2 é passado numa coluna de XAD-8 (0,15 mL de resina por grama de amostra de solo seco) com fluxo de 15 vol da resina por hora). O eluído é descartado, a coluna com ácido fúlvico adsorvido é lavada com água destilada (0,65 volume da coluna).
- 14) A coluna de XAD-8 é eluída com 1 volume da coluna de NaOH 0,1 mol L⁻¹, seguida de 2 a 3 volumes da coluna de água destilada
- 15) O eluído é acidificado imediatamente até pH~1 com HCl 6 mol L⁻¹ e adicionado HF até concentração final de 0,3 mol L⁻¹. O volume deve ser suficiente para manter os ácidos fúlvicos em solução.
- 16) Transferir o sobrenadante do passo 6 (AF-2) através da coluna de XAD-8 (1 mL de resina por grama de solo seco).
- 17) Repetir passos 14 e 15.
- 18) Combinar os eluídos em 15 e 17 e passar a solução através da resina XAD-8 numa coluna de vidro (volume da coluna deve ser 1/5 do volume da amostra). Lavar com água destilada (volume igual a 0,65 do volume da coluna).
- 19) Eluir com 1 volume da coluna com NaOH 0,1 mol L⁻¹ seguido de 2 volumes da coluna com água destilada. Passar através de uma resina de troca saturada com H⁺.
- 20) Liofilizar o eluído para recuperar os ácidos fúlvicos saturados com H⁺.

Fracionamento químico do húmus: extração



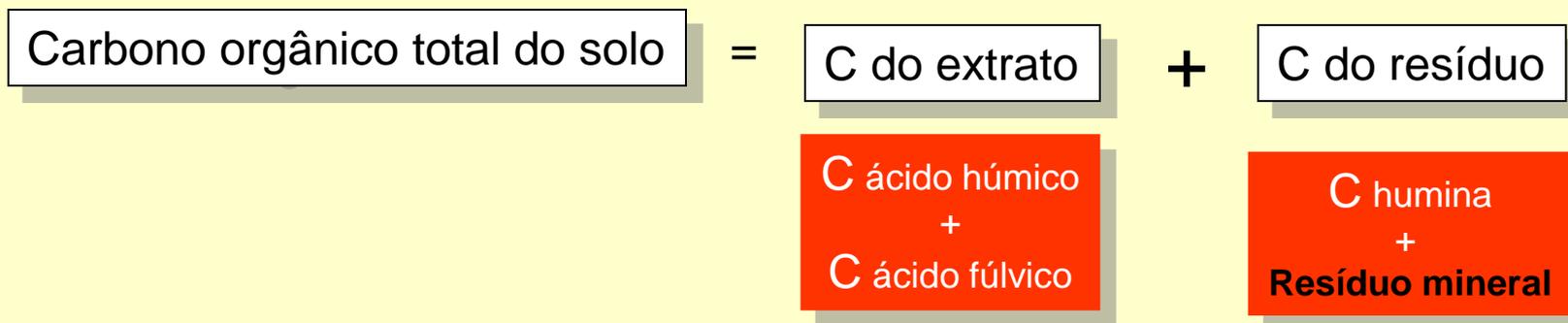
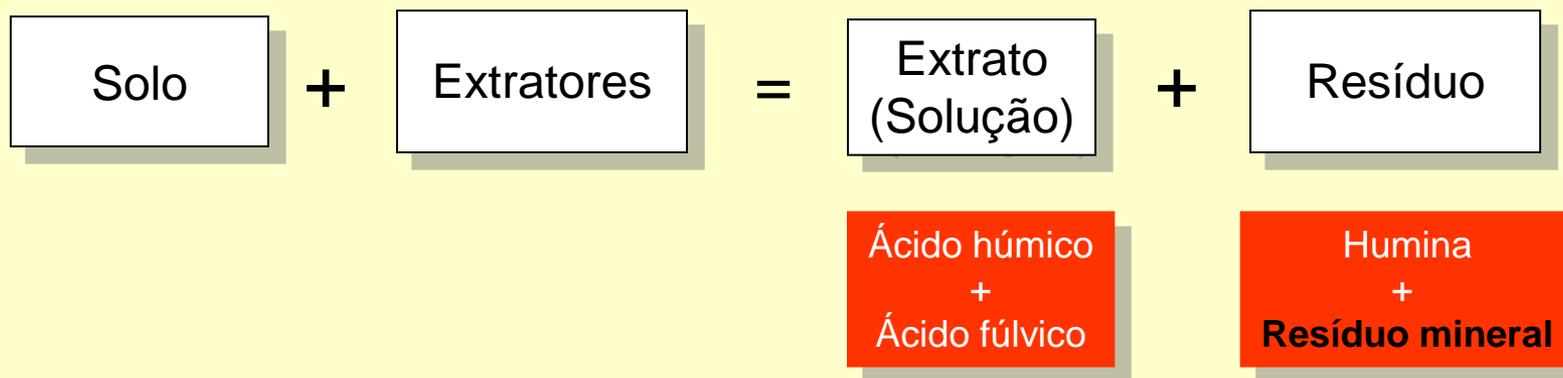
Fracionamento químico do húmus: extração

Extração das substâncias húmicas



Fracionamento químico do húmus: extração

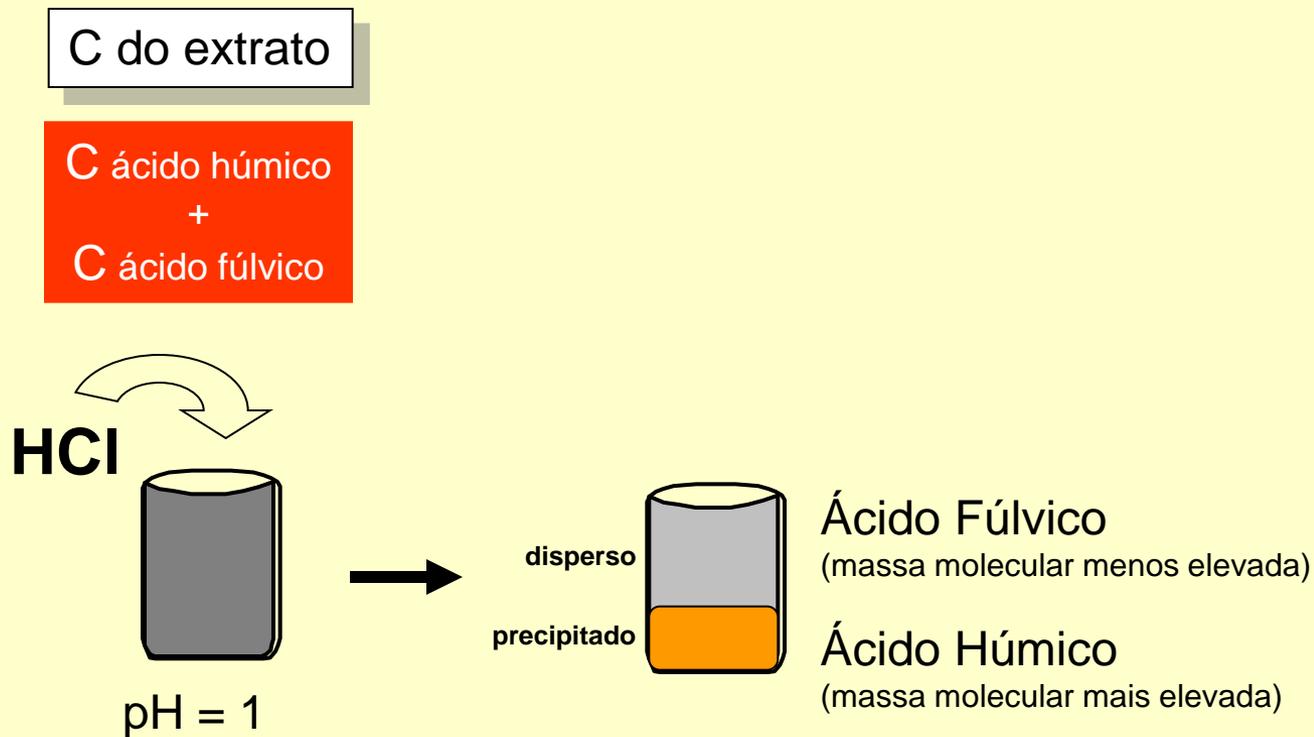
Extratores e princípios



?

Fracionamento químico do húmus: extração

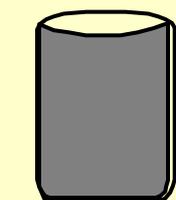
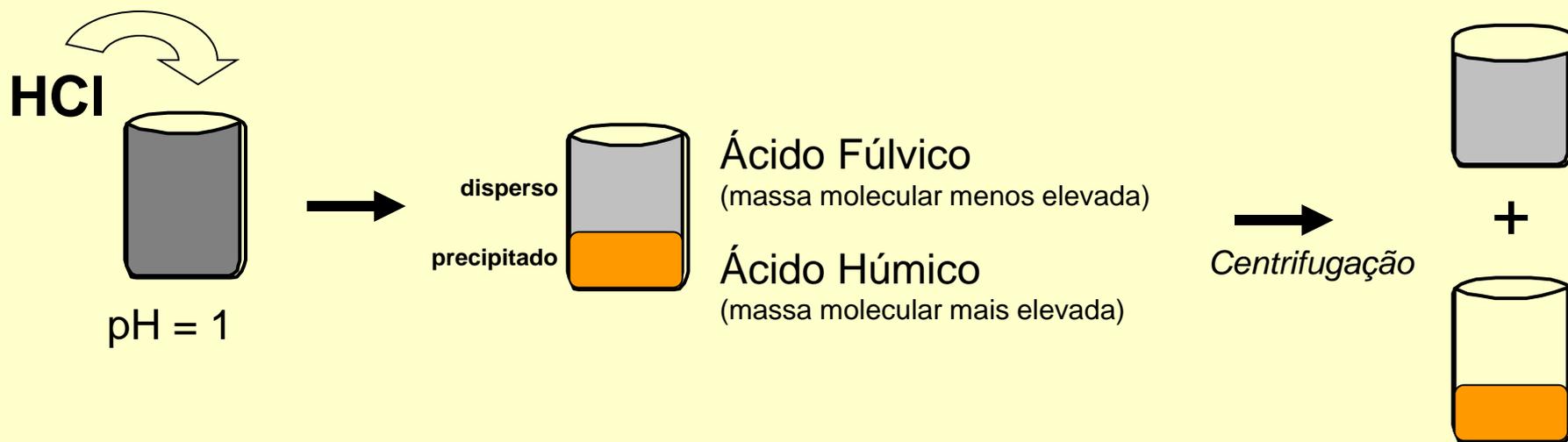
Quantificação de ácidos húmicos e fúlvicos



Como dosar o carbono ?

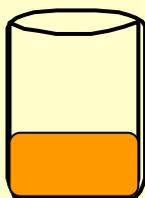
Fracionamento químico do húmus: extração

Quantificação de ácidos húmicos e fúlvicos



C extrato

=



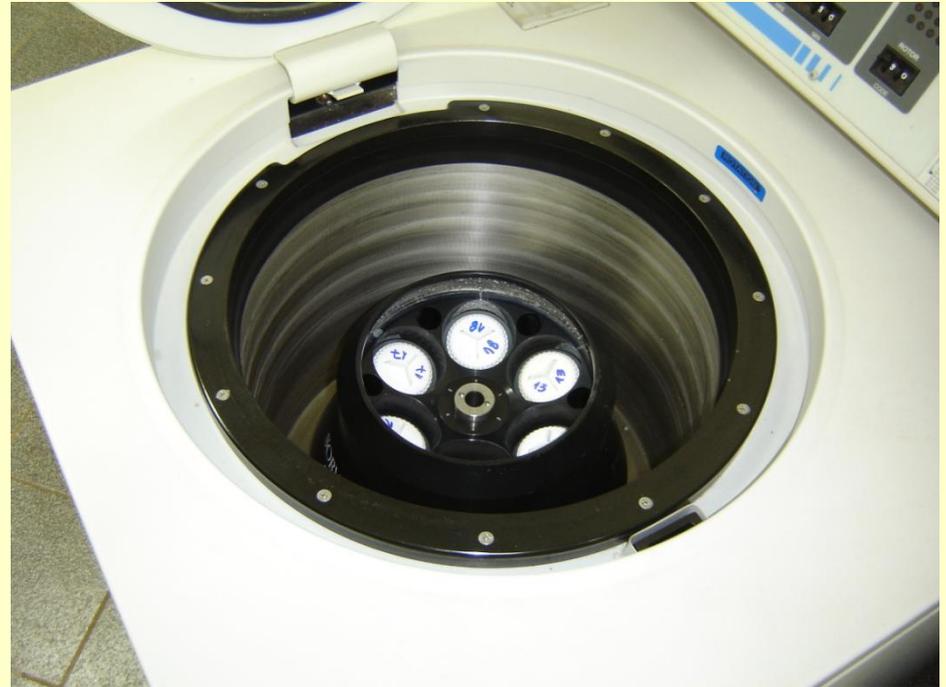
C ácido húmico

+

C ácido fúlvico

Por diferença
(C extrato – C ácido húmico)

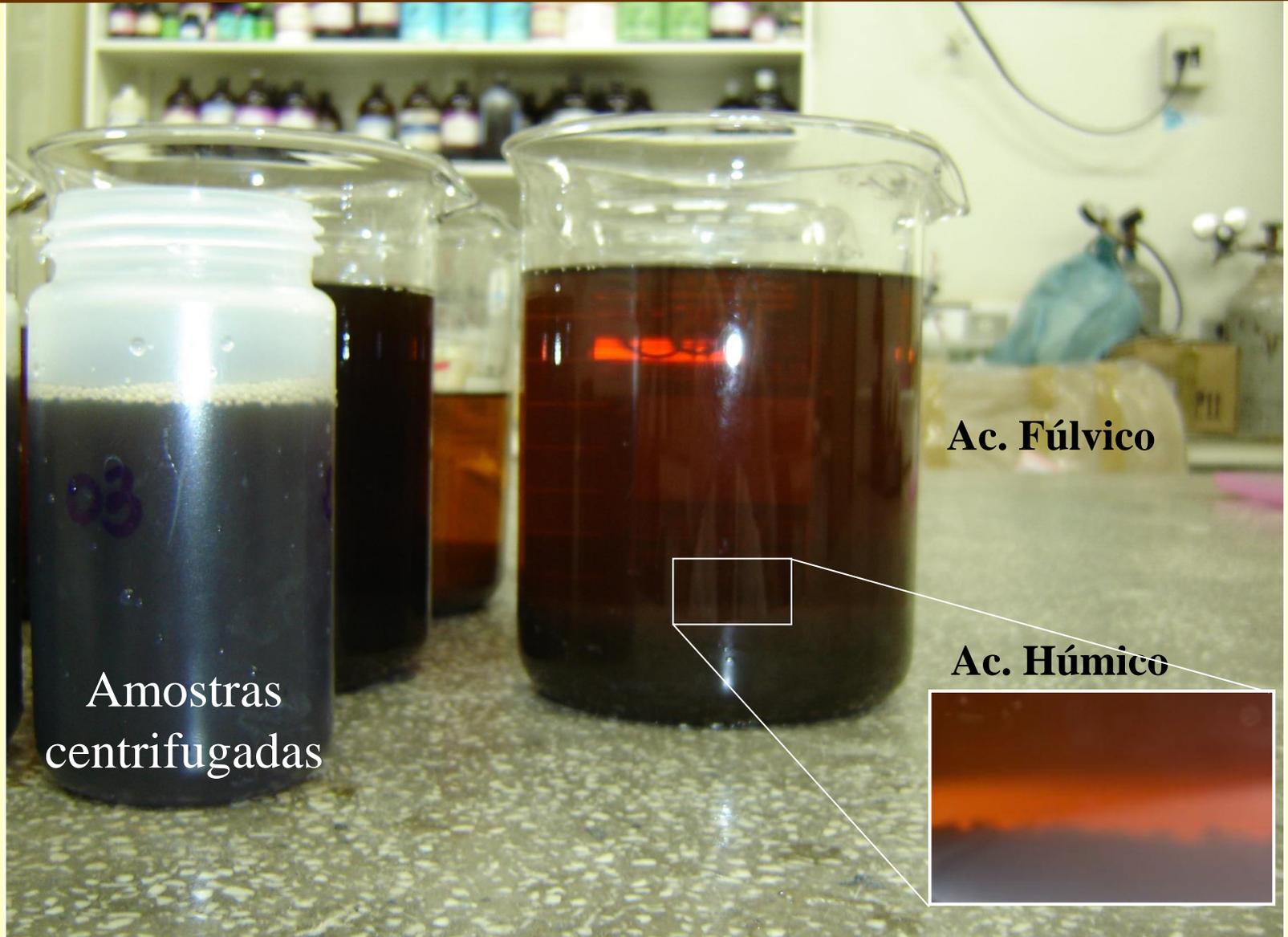
Fracionamento químico do húmus: extração



Fracionamento químico do húmus: extração



Fracionamento químico do húmus: extração



Amostras centrifugadas e após a redução do pH para 1 – 2

Fracionamento químico do húmus: extração



Fracionamento químico do húmus



Introdução

Extração

Considerações gerais

Associações

Extratores: tipos, princípios, vantagens e desvantagens

Método internacional

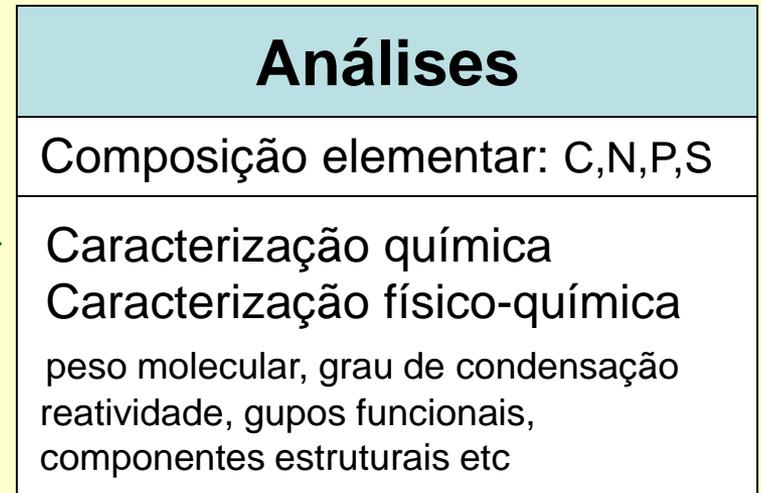
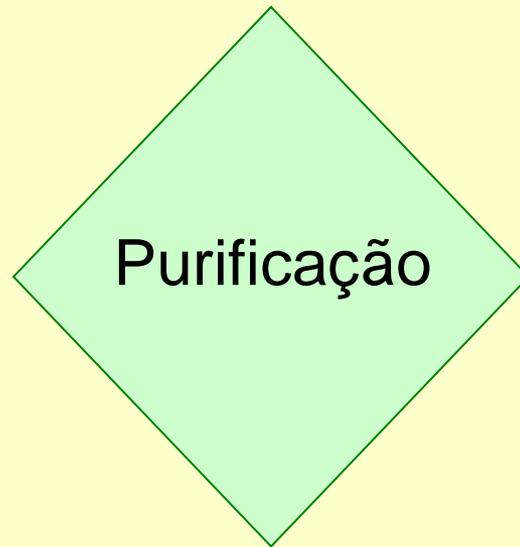
Purificação para análises químicas e físico-químicas

Exemplos de fracionamento

Críticas e comentários

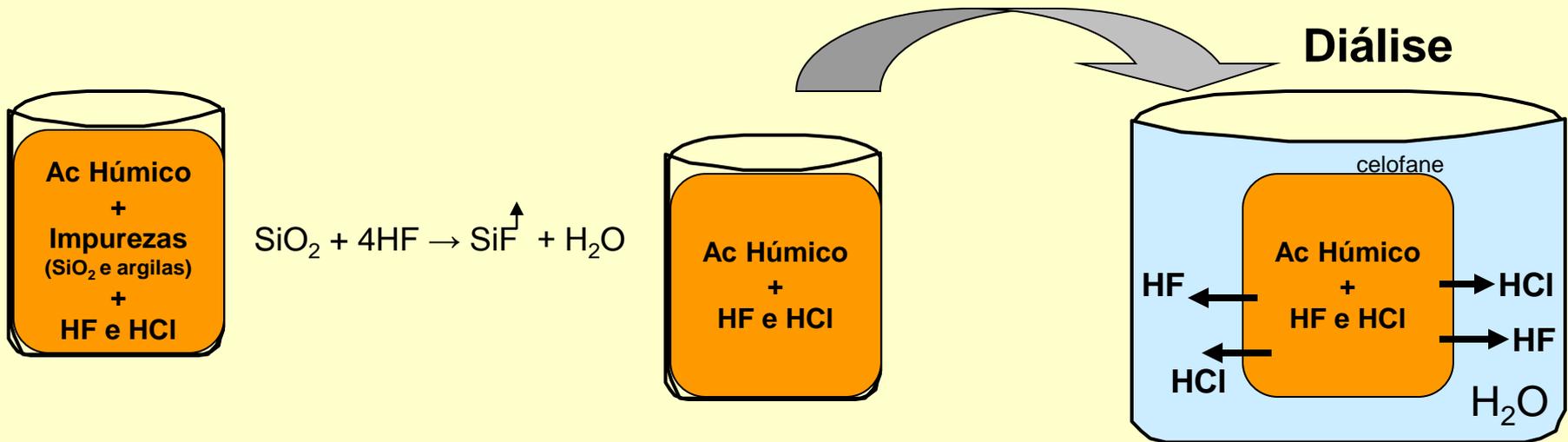
Fracionamento químico do húmus: purificação

Purificação de ácidos húmicos e fúlvicos

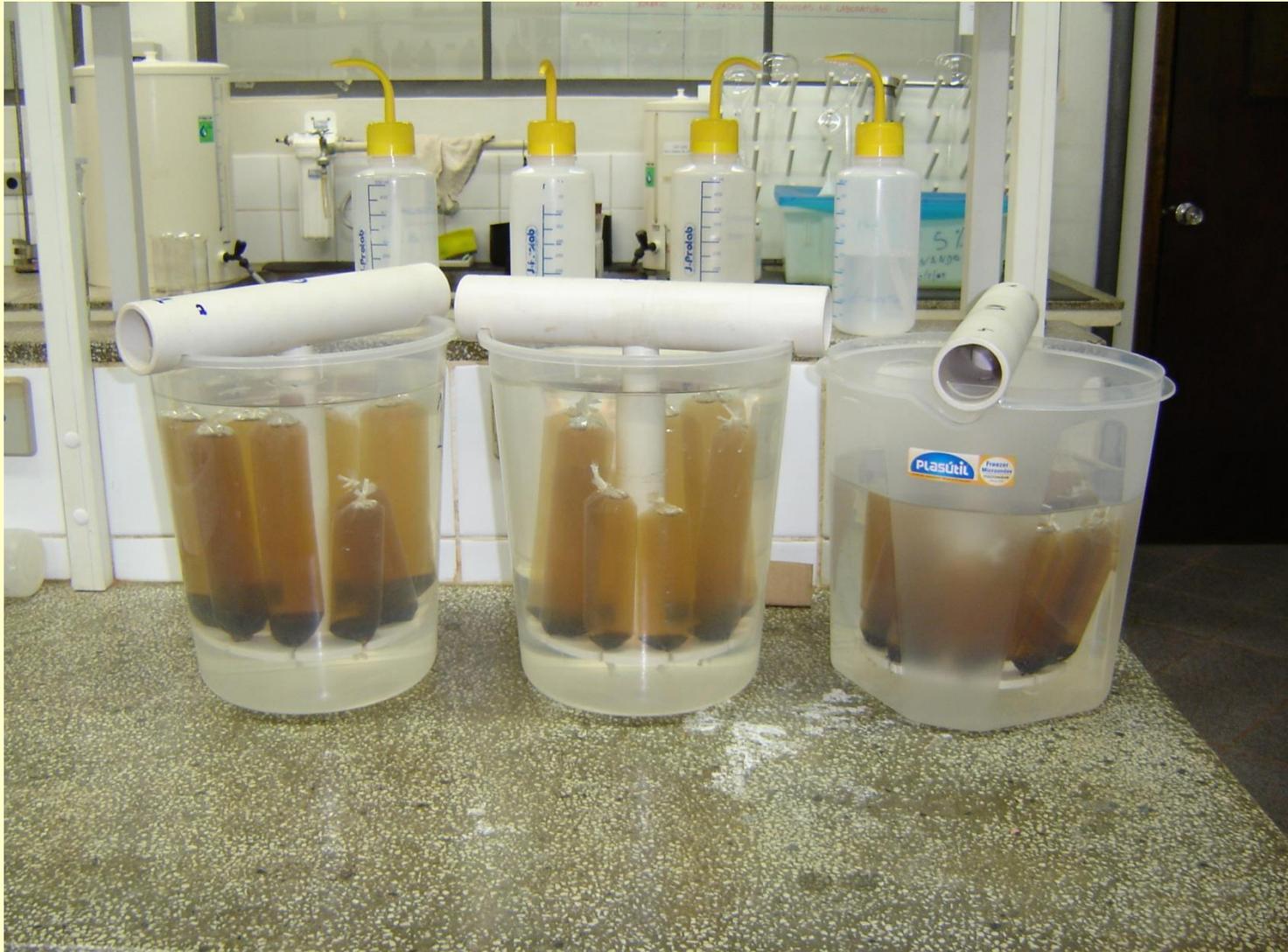


Fracionamento químico do húmus: purificação

Purificação dos ácidos húmicos



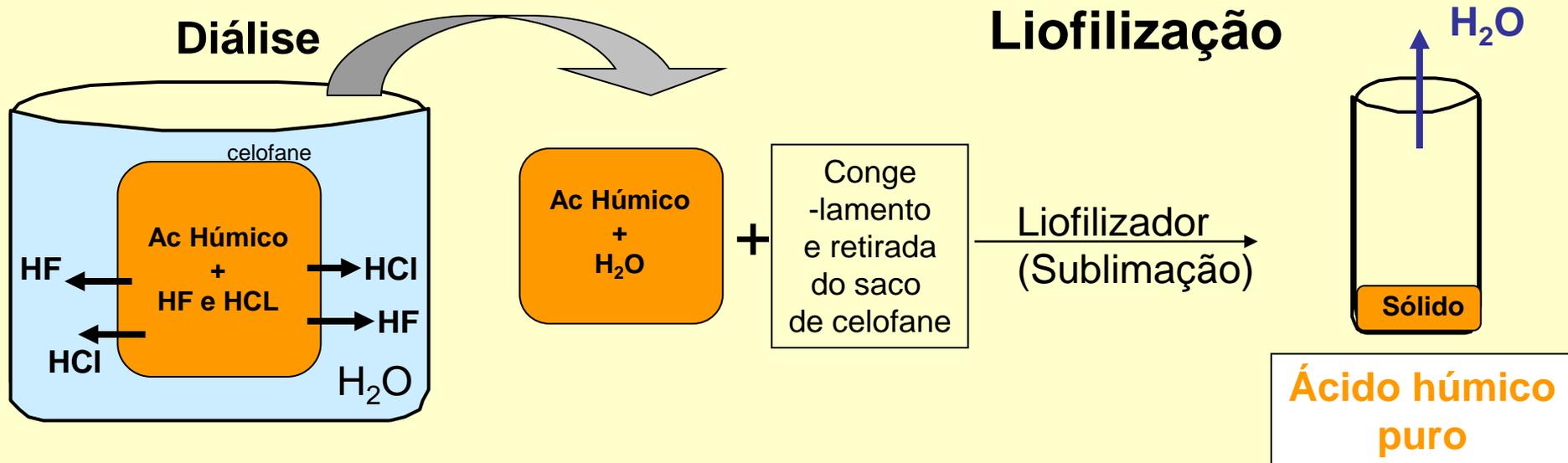
Fracionamento químico do húmus: extração



Diálise das substâncias húmicas

Fracionamento químico do húmus: purificação

Purificação dos ácidos húmicos



Pronto para
análise elementar
e caracterizações

Fracionamento químico do húmus: extração



Liofilização dos ácidos húmicos e fúlvicos

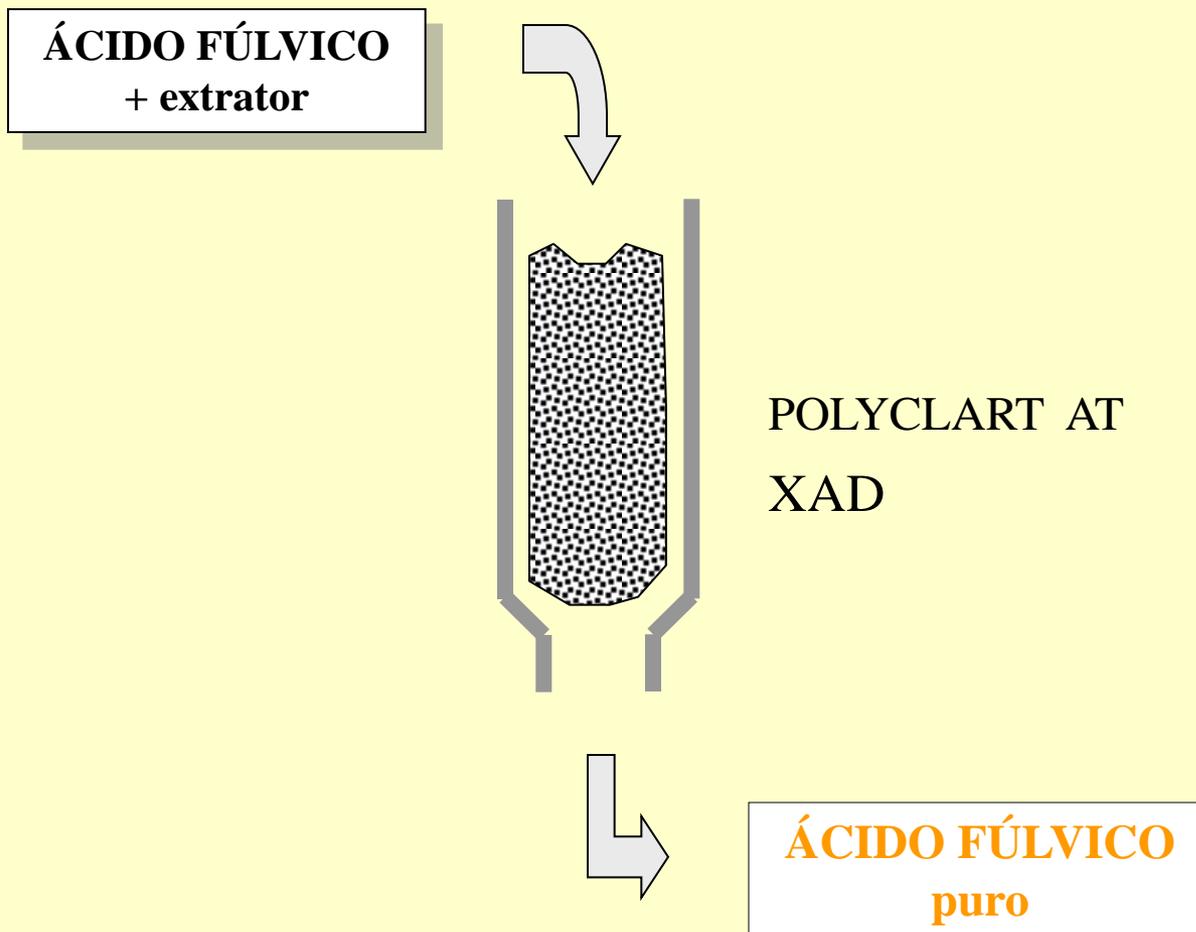
Fracionamento químico do húmus: extração



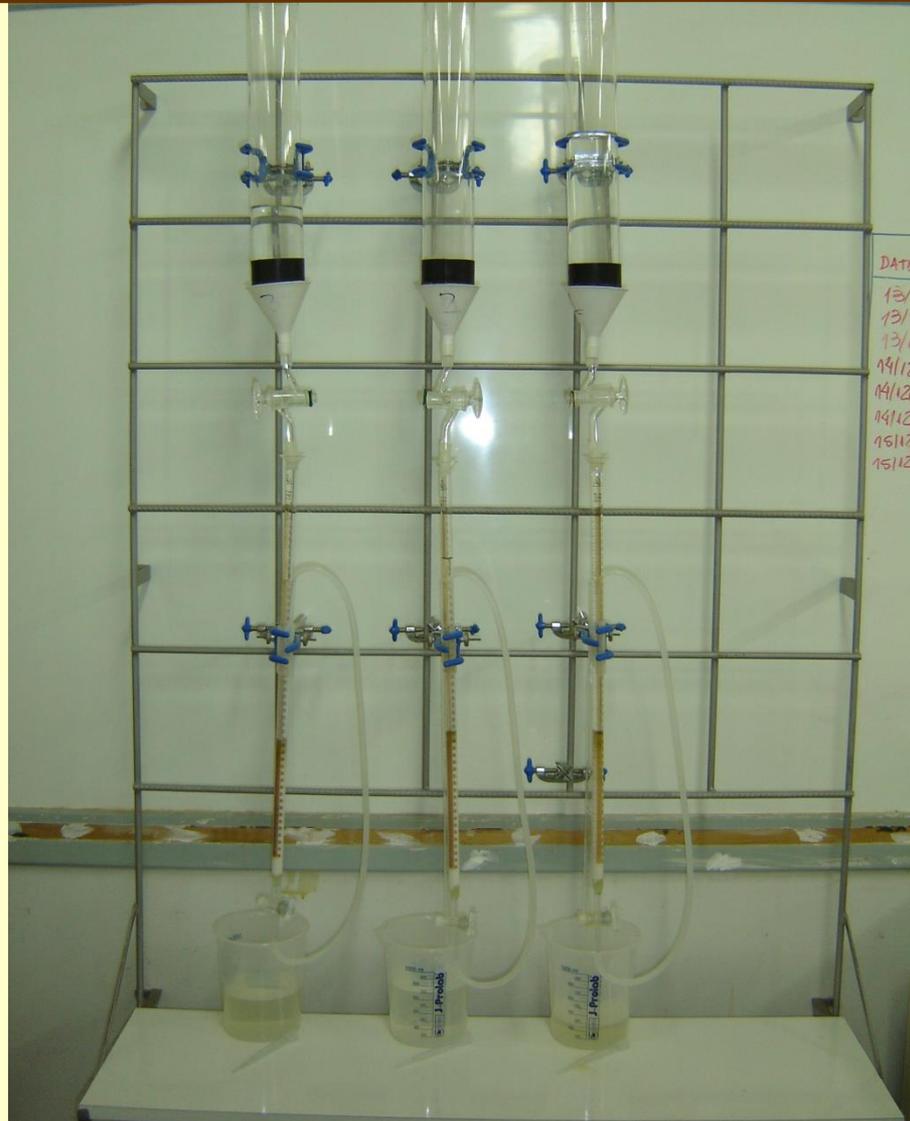
Ác. húmico liofilizado

Fracionamento químico do húmus: purificação

Purificação dos ácidos fúlvicos



Fracionamento químico do húmus: extração



Purificação dos ácidos fúlvicos (XAD-8)

Fracionamento químico do húmus



Introdução

Extração

Considerações gerais

Associações

Extratores: tipos, princípios, vantagens e desvantagens

Método internacional

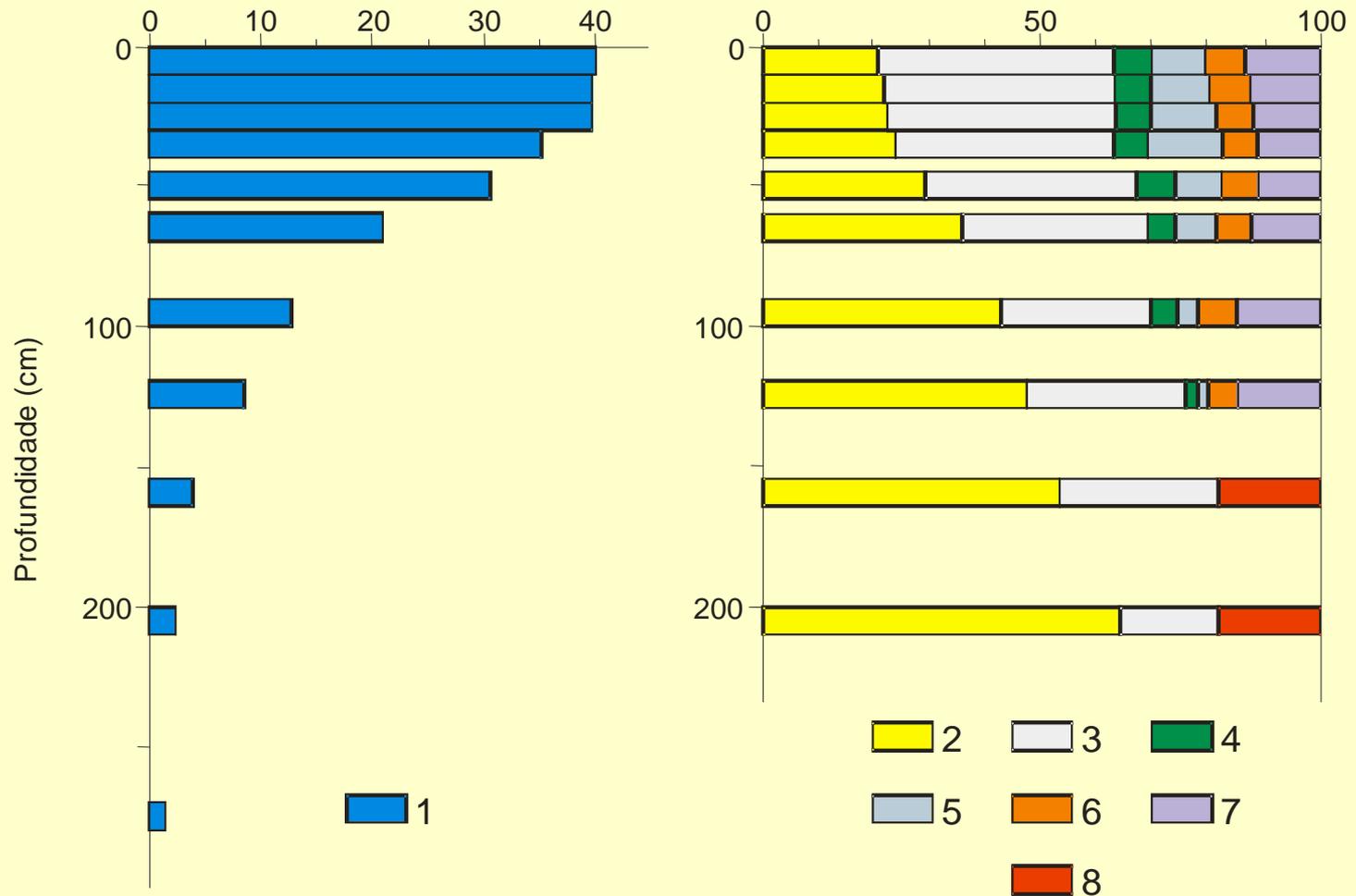
Purificação para análises químicas e físico-químicas

Exemplos de fracionamento

Críticas e comentários

Fracionamento químico do húmus: exemplo

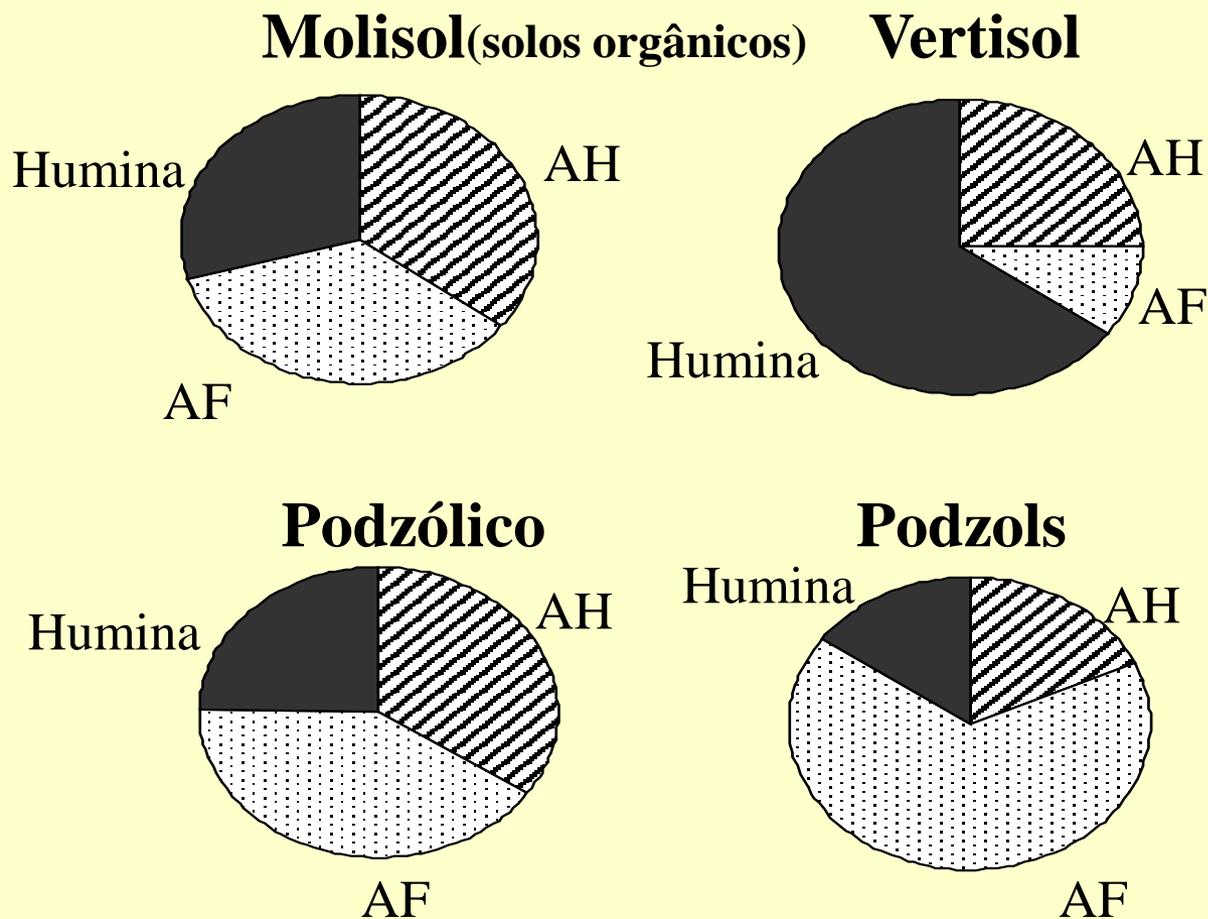
Exemplo fracionamento



1: Carbono Total; 2: ácidos fúlvicos livres; 3: humina; 4: ácidos húmicos soda; 5: ácidos húmicos pirofosfato; 6: ácidos fúlvicos soda; 7: ácidos fúlvicos pirofosfato; 8: ácidos húmicos e fulvicos não diferenciados

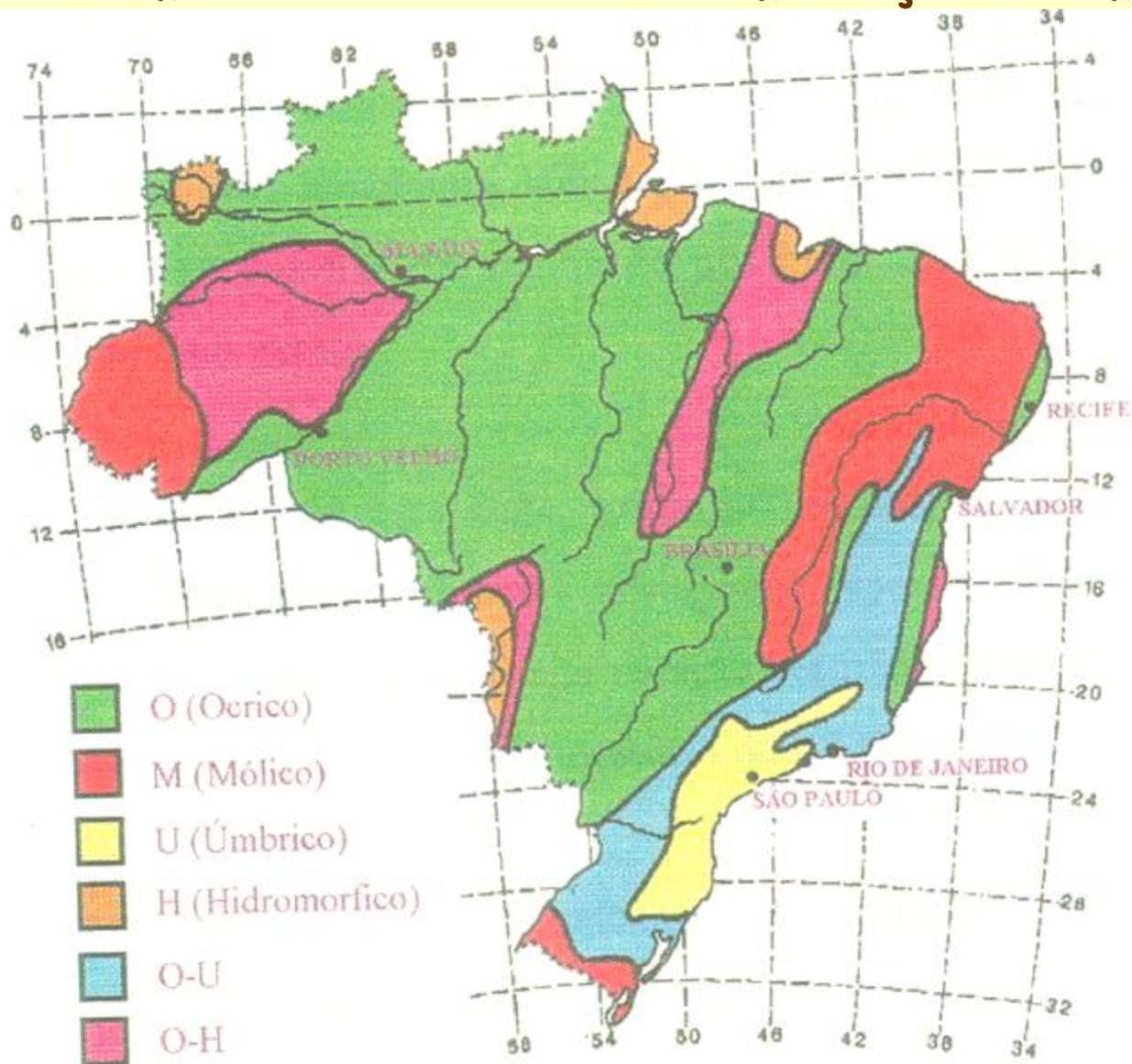
Fracionamento químico do húmus: exemplo

Distribuição de ác.fúlvicos, ác.húmicos e huminas em 4 tipos de solos



Fracionamento químico do húmus: aplicação

Tipos de húmus dos solos do Brasil em relação ao ambiente

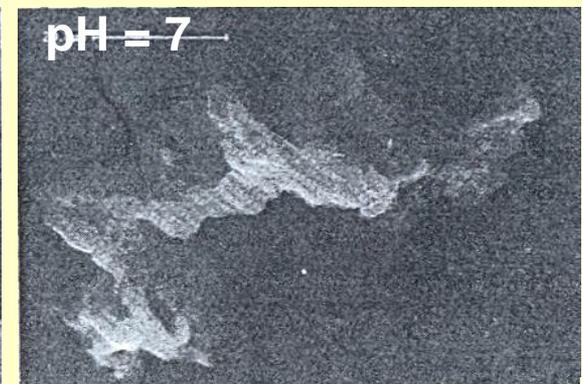
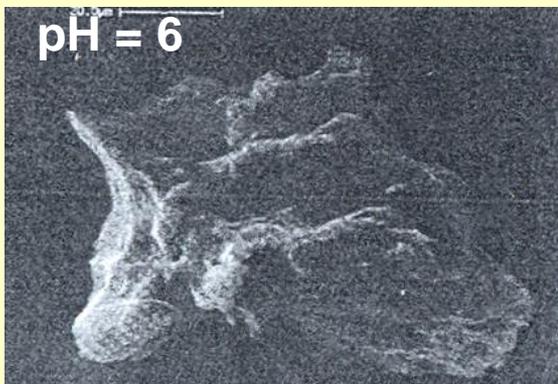
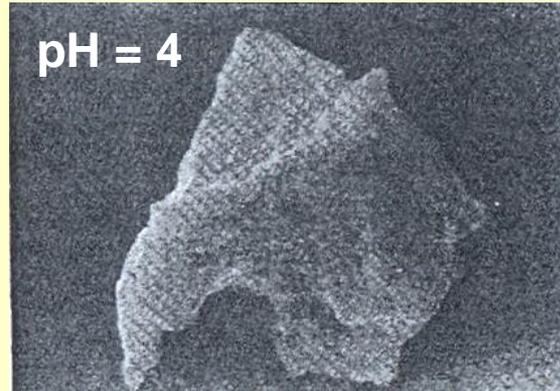
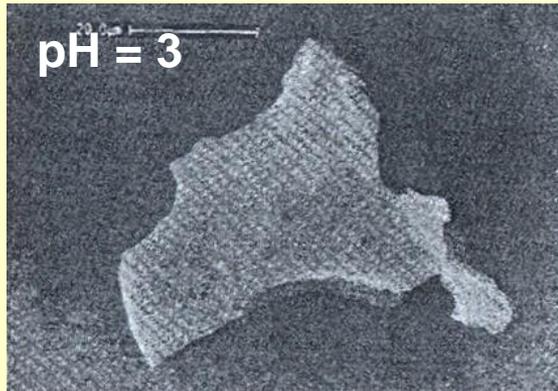


Críticas e comentários

Críticas e comentários

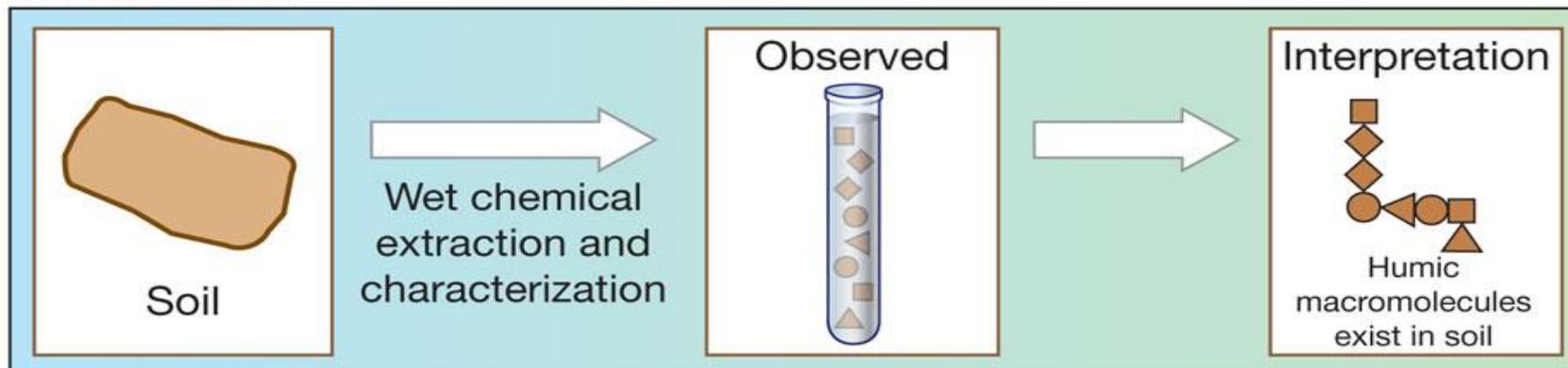
Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Ácido húmico a diferentes valores de pH



Críticas e comentários

a Historical view



b Emerging understanding

