

Caracterização Química e Espectroscópica de Ácidos Húmicos Isolados de Solos de Veredas do Brasil Central

Chemical and Spectroscopic Characterization of Humic Acids Isolated from Veredas Soils in Central Brazil

Katharine Vinholte de Araújo,^{a,*} Ingrid Horák-Terra,^b Jader Galba Busato,^c Aline Lima de Oliveira,^d Alan Ribeiro Mol,^d Ianna Santana Souza,^a Hudson Rosemberg Poceschi e Campos^a e Leonardo Barros Dobbss^b

^a Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri-UFVJM, Campus Universitário JK, Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, CEP 39100-000, Diamantina-MG, Brasil

^b Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri-UFVJM, Campus Universitário Unaí, Instituto de Ciências Agrárias-ICA, CEP 38610-000, Unaí-MG, Brasil

^c Universidade de Brasília-UnB, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária-FAV, CEP 70910-970, Brasília-DF, Brasil

^d Universidade de Brasília-UnB, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Instituto de Química, CEP 70910-970, Brasília-DF, Brasil

*Email: katharine.vinholte@ufvjm.edu.br

Submissão: 10 de Julho de 2024

Aceite: 22 de Outubro de 2024

Publicado online: 12 de Novembro de 2024

Elemental analysis, total acidity and spectroscopic data (IF, UV-Vis and FTIR) were used to characterize the humic acid of the surface layer of soils from veredas in central Brazil, located in areas with different environmental conditions (V1 – vereda in conservation unit; V2 – vereda with agricultural use in the surroundings; V3 – vereda cut by road; and V4 – vereda in urban area). Analysis of the structural characteristics revealed differences between the HAs evaluated. HA-V1 had higher C contents and C/N ratios, indicating greater structural and biological stability. The H/C ratio showed a higher proportion of C in aromatic groups for HAs V1, V2 and V3, and a higher presence of C in aliphatic groups for HAs V4. Among the acid functional groups, the different HAs had a greater number of phenolic groups than carboxylic groups. High values of E₄/E₆ ratio were observed for HA-V4, compatible with its lower chemical complexity revealed by IF and FTIR spectra. The HA from vereda soil belonging to an undisturbed environment (V1) showed greater chemical evolution than those from anthropized environments (V2, V3 and V4). Among the different anthropic interventions in the surroundings of the veredas, land use with urban constructions (V4) showed the least evolved HA.

Keywords: Spectroscopy; humic substances; land use change; tropical wetlands.

1. Introdução

As veredas são ecossistemas tropicais úmidos associados a solos hidromórficos influenciados pela flutuação sazonal do lençol freático, constituindo-se em ambientes de oxirredução e de grande aporte de matéria orgânica.¹ Reservas significativas de carbono orgânico são armazenados em solos de zonas úmidas, onde 60-85% da matéria orgânica consistem em substâncias húmicas.² As substâncias húmicas (SH) formam a maior parte do componente orgânico do solo, turfa e águas naturais e originam-se de plantas e tecidos animais através da transformação química, bem como, da degradação biológica por microrganismos, resultando em estruturas químicas complexas que são mais estáveis do que o material original.³

A matéria orgânica humificada do solo é composta por diferentes frações e de acordo com sua solubilidade são classificadas como: ácidos húmicos (AH) solúvel em meio básico e insolúvel em meio fortemente ácido; ácidos fúlvicos (AF) solúvel em meio ácido ou básico; e as huminas (HU) fração residual insolúvel em qualquer valor de pH.⁴ Estas substâncias fazem parte de um sistema supramolecular extremamente heterogêneo, sendo diferenciadas de acordo com as variações na sua composição química, acidez, grau de hidrofobicidade, e associações de moléculas.⁵

Entre as frações humificadas (AF e AH), os AH apresentam maior estabilidade da matéria orgânica e são responsáveis pela fixação de carbono orgânico no solo.³ Os AH possuem compostos por associações, predominando compostos hidrofóbicos (cadeias polimetilênicas, ácidos graxos, esteroides) estabilizados em pH neutro por forças hidrofóbicas dispersivas.⁶ A composição química, tamanho molecular, estrutura e grupos funcionais dos AH são diferentes dependendo da origem e de seu modo de gênese.⁷

Estudos capazes de avaliar as características estruturais da matéria orgânica humificada, como AH, são fundamentais para entender a sustentação dos diferentes ecossistemas, e sua participação na ciclagem do solo, disponibilidade de nutrientes e sequestro de carbono.⁸⁻⁹⁻¹⁰ Bettiol *et al.*¹¹ retratam que as SH são adsorvidas hidrofobicamente na argila do solo e/ou

adsorvidas quimicamente por óxidos e, quando expostos a alterações conformacionais causadas por ácidos orgânicos liberados das raízes de plantas ou provenientes da degradação microbiana, regulam o grau de fertilidade do solo e as funções que exercem (bioatividade) sobre as plantas e organismos do solo. Bem como, a melhora da capacidade de troca catiônica, devido sua interação com argilas com as características estruturais heterogêneas compostas por agrupamentos funcionais com potencial para ionização.¹²

A relevância das frações húmicas não lábil para sustentabilidade do solo também está associada ao sequestro de carbono orgânico, devido suas interações hidrofóbicas e estabilidade química relacionada ao grau de aromaticidade das moléculas e sua resistência a decomposição que proporcionam bioresistência, ou seja, permanência por longos períodos no solo.⁸⁻¹³ Os AH são compostos estáveis, ou seja, de difícil degradação e exercem influência sobre os atributos químicos, físicos e biológicos do solo.² Constituindo, portanto, um indicador natural do processo de humificação e que reflete tanto a condição de gênese como a de manejo do solo.¹⁴ No processo de humificação ocorre a estabilização do carbono no solo, e isso incide da adição de compostos mais estáveis com alta energia de fluorescência, por exemplo, cadeias aromáticas (como grupos quinonas), ou pela preservação de compostos mais resistentes à degradação química, gerando grupos quimicamente estáveis.¹⁵

Devido intervenções humanas nas áreas de veredas, tais como, o aumento de áreas agrícolas, retirada (drenagem) de água, construção de canais e barragens, supressão da vegetação, e aumento de infraestruturas, como a expansão da urbanização, têm contribuído para descaracterização e perdas desse ecossistema.¹⁻¹⁶ Além disso, as mudanças climáticas e os incêndios apresentam uma grande ameaça no processo de degradação das veredas.¹⁷ Neste sentido, segundo Dodla *et al.*,¹⁸ o clima e meio ambiente, uso da terra e a composição da vegetação são fatores importantes no controle da formação e estabilidade dos AH.

Técnicas químicas e espectroscópicas vêm sendo empregadas na caracterização e identificação dos diferentes materiais húmicos, que auxiliam na avaliação das mudanças estruturais e no grau de evolução química.¹⁻⁷⁻¹² Estas ferramentas são consideradas essenciais para avaliação da qualidade e das transformações na composição química/estrutural das SH e das interações desta com a matriz do solo.¹⁹

Dentre os diferentes procedimentos espectroscópicos destacam-se: a espectroscopia de fluorescência (465 nm), que está diretamente relacionado com o grau de humificação das SH, avaliado pelo incremento de estruturas conjugadas com ressonância de elétrons, tais como anéis aromáticos e radicais livres do tipo semiquinonas;¹³ a espectroscopia na região ultravioleta-visível (UV-Vis) empregada pela avaliação da razão E_4/E_6 , que está relacionada à condensação estrutural e a aromaticidade dos AH, podendo ser indicativo do grau de humificação;¹⁹ e em conjunto com

a técnica de espectroscopia na região do infravermelho (IV) utilizada para caracterizar e fornecendo informações estruturais e funcionais das SH, especialmente de grupos oxigenados, proteínas, polissacarídeos e proporção de grupos aromáticos/alifáticos e hidrofílicos/hidrofóbicos, permite obter informações sobre a natureza, reatividade e arranjo estrutural dos grupos funcionais oxigenados presentes nos materiais húmicos.⁶⁻¹⁹⁻²⁰

O emprego dessas técnicas permite correlacionar a qualidade e o processo de evolução dos materiais húmicos com as características do ambiente que são formados.⁷ As alterações no ecossistema de veredas devido às interferências antrópicas tornam estes ambientes mais suscetíveis aos processos de degradação da matéria orgânica, devido à intensa oxidação, que podem levar a mudanças nas características químicas dos AH.²¹⁻²² Essas mudanças no uso do solo, como o revolvimento e drenagem, resultam em um rápido declínio da matéria orgânica e da estabilidade de agregados, devido à maior acessibilidade dos decompositores a matéria orgânica.²³ Ao expor o material orgânico antes preservado pelas condições de saturação por água, a um ambiente rico em oxigênio se inicia a oxidação por microrganismos aeróbios e por queima do material vegetal, conseqüentemente, ocorre a perda de carbono das frações húmicas da matéria orgânica.²⁴

Deste modo, a hipótese desse estudo é que diferentes intervenções antrópicas ao ecossistema de vereda alteram as características estruturais dos ácidos húmicos de seus solos. Para testar essa hipótese foi proposto o objetivo de caracterizar, por meio de métodos químicos e espectroscópicos, os ácidos húmicos da camada superficial do perfil de solos pertencentes a veredas do Brasil central situadas em ambientes com diferentes condições ambientais.

2. Experimental

2.1. Localização e amostragem do solo

As veredas do presente estudo estão localizadas no Distrito Federal (V1) e na região noroeste do estado de Minas Gerais (V2, V3 e V4), inseridas no Bioma Cerrado, mas sob diferentes condições ambientais: preservada (V1 – vereda em unidade de conservação); e antropizadas (V2 – vereda com uso agrícola no entorno; V3 – vereda cortada por estrada; e V4 – vereda em área urbana) (Figura 1). A região amostral possui tipo Aw segundo a classificação climática de Köppen, ou seja, savana tropical com características de inverno seco e chuvas concentradas entre os meses de outubro a março.²⁵ Conforme o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos – SiBCS,²⁶ os solos das diferentes áreas de veredas foram classificados como: *Organossolo Háplico Sápico típico* em V1 e V2; *Organossolo Háplico Sápico típico* em V2; e *Neossolo Flúvico Tb distrófico típico* em V4.

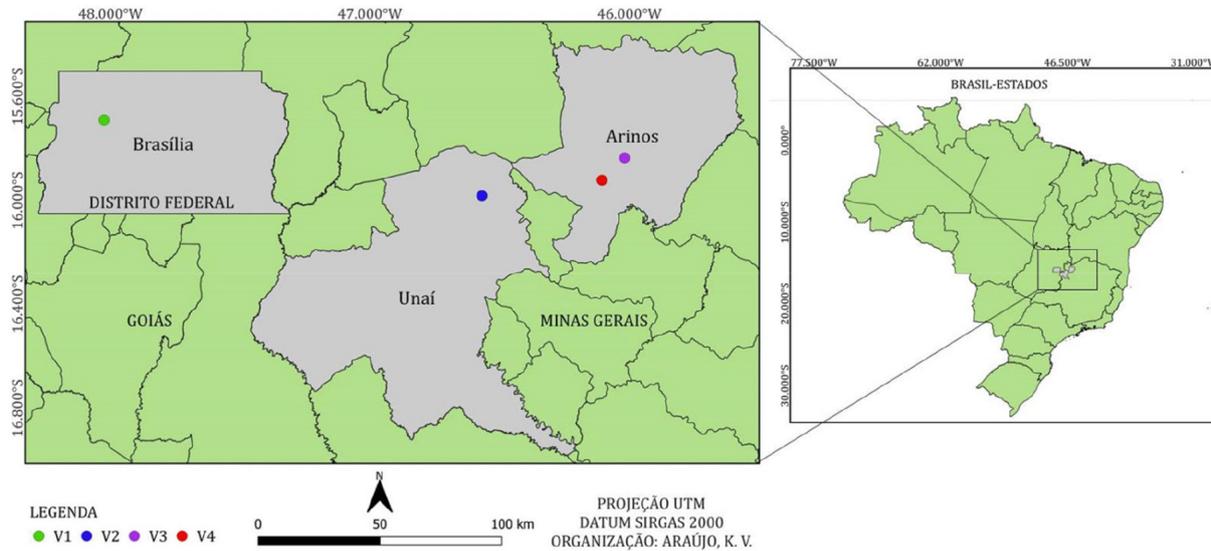


Figura 1. Mapa de localização das áreas estudadas (V1 – vereda em unidade de conservação; V2 – vereda com uso agrícola no entorno; V3 – vereda cortada por estrada; e V4 – vereda em área urbana)

As amostras em triplicata foram coletadas na profundidade correspondente à camada superficial de 0 a 20 cm de três perfis de solo em padrão zigzag de aproximadamente 2 m de distância em uma área equivalente a 0,5 ha de cada vereda em torno de um ponto central (onde as condições de preservação ou degradação eram mais significativas), dentro do limite das veredas, definido pela vegetação distinta e próximo às áreas de recarga de água (fundo plano). As amostras de solo foram acondicionadas em sacos plásticos pré-identificados e transportadas para o Laboratório Multidisciplinar de Pesquisas em Sistemas Agropecuários da Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri onde foram homogeneizadas, secas ao ar e peneiradas por meio de uma malha de 2 mm.

2.2. Extração e purificação dos ácidos húmicos

Os ácidos húmicos foram extraídos e purificados conforme descrito por métodos convencionais da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS).²⁷ Resumidamente, 200 g das amostras de solo foram colocados em uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol L⁻¹, com relação solo:solvente de 1:10 (m/v). Após uma hora de agitação, a suspensão ficou em repouso por 24 h para permitir a separação do sobrenadante do resíduo por decantação. O sobrenadante foi recolhido e acidificado a pH ~1,0 com solução de ácido clorídrico (HCl) 6 mol L⁻¹ e os ácidos húmicos (precipitado) foram separados dos ácidos fúlvicos (sobrenadante) por centrifugação (20 min a 2000 rpm). Os ácidos húmicos foram reprecipitados por três vezes e o sobrenadante descartado. Posteriormente, o pH dos ácidos húmicos foi ajustado a 7,0 com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹, e imediatamente transferido para membrana de diálise (Spectra/Por® 7, MWCO:1,000), e colocados em recipientes de 5 L com água destilada (H₂O mili-Q). A água foi substituída duas vezes ao dia até que a condutividade

elétrica ($\mu\text{s cm}^{-1}$) fosse igual ou próxima a da água destilada. Em seguida, o material purificado foi seco por liofilização (Liofilizador L101, Liobras) e armazenado a 4 °C.

2.3. Caracterização dos ácidos húmicos

2.3.1. Composição elementar, acidez total, grupamentos COOH e OH fenólicos

A determinação da composição elementar (C, H, N e O) foi realizada com analisador elementar automático Perkin Elmer 2400 em amostras de 1,0 mg de AH em triplicata. O teor de O foi determinado por diferença, descontado o teor de cinzas.

A acidez total foi determinada conforme a metodologia de Schnitzer e Gupta.²⁸ Utilizou-se 50 mg de ácido húmico (triplicata) juntamente com 20 mL de solução de hidróxido de bário [Ba (OH)₂] 0,125 mol L⁻¹, que foram submetidos à agitação por 24 horas, isolada do ar. Em seguida, a suspensão foi filtrada em papel de filtro whatman #42, o resíduo lavado com água deionizada e a mistura (filtrado+lavado) foi titulada com uma solução padronizada de HCl 0,05 mol L⁻¹. A titulação foi acompanhada com auxílio de um pHmetro até pH 8,4. Foi realizado o preparo do branco, composto somente por 20 mL de solução de Ba(OH)₂ 0,125 mol L⁻¹.

A acidez total foi calculada empregando-se a Equação 1:

$$(VA1 - VA2) \times CB \times 1000 - mAH \quad (1)$$

onde: VA1 = volume usado para titulação do Branco; VA2 = volume usado para titulação da amostra; CB = concentração da base (mol L) (0,05) e mAH = massa de AH em mg (50).

Para a acidez carboxílica (COOH), utilizou-se 50 mg de ácido húmico (triplicata) juntamente com 50 mL de solução de 0,2 mol L⁻¹ de acetato de cálcio [Ca(CH₃COO)₂] que foram submetidos à agitação por 24 horas. Após esse

período, a suspensão foi filtrada em papel de filtro e o resíduo lavado com água desionizada, em seguida, a mistura (filtrado + água de lavagem) foi titulada com solução de NaOH 0,100 mol L⁻¹, e a variação do pH foi acompanhada com auxílio de um pHmetro até pH 9,8. Da mesma maneira, foi realizado o preparo do branco, constituído apenas por 50 mL de solução de Ca(CH₃COO)₂ 0,2 mol L⁻¹.²⁸

A acidez carboxílica foi calculada empregando-se a Equação 2:

$$(VB1 - VB2) \times CB \times 1000/mAH \quad (2)$$

onde: VB1 = volume usado para titulação do Branco; VB2 = volume usado para titulação da amostra; CB = concentração da base (mol L) (0,2) e mAH = massa de AH em mg (50).

A acidez fenólica (OH fenólica) foi obtida por diferença entre acidez total e a acidez carboxílica.²⁸

2.3.2. Espectroscopia de fluorescência e UV-Vis

Utilizou-se tanto para obtenção dos espectros de intensidade emissão de fluorescência (IF) quanto para o coeficiente E₄/E₆, o preparo das amostras conforme a metodologia de Chen *et al.*,²⁹ por meio da solubilização de 2,0 mg de AH em 10,0 mL de solução bicarbonato de sódio (NaHCO₃) 0,05 mol L⁻¹, com pH 8,0, mantendo sob refrigeração (~4°C) durante 24 h. A IF foi obtida em um espectrômetro de fluorescência (Lumina, Thermo Scientific) com excitação no comprimento de onda 465 nm (na região do azul) e com faixa de varredura de 485 a 800 nm, sendo essas condições experimentais para excitação da fluorescência as mesmas indicadas por Milori *et al.*,¹³. Para determinar a relação E₄/E₆ (espectros na faixa UV-Vis) dividiu-se a densidade ótica em 465 nm pela em 665 nm obtidas por leitura em espectrofotômetro (Cary 5000, UV-Vis-NIR, Varian).

2.3.3. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

Para a obtenção dos espectros de infravermelho (FTIR) utilizou-se pastilhas, em triplicata, com 1,0 mg de AH homogeneizados em 100 mg de brometo de potássio (KBr) e realizada a leitura na faixa de varredura entre 400 cm⁻¹ a 4000 cm⁻¹ em espectrômetro (640-IR, Varian) operando com software Varian Resolution.

2.4. Análises dos dados

Utilizando o software R (versão 4.3.2)³⁰ os dados quantitativos foram testados quanto aos pressupostos de normalidade e homogeneidade das variâncias por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett (p>0,05). E uma análise de componentes principais (PCA) foi aplicada na matriz de dados dos atributos de composição elementar, grupos funcionais ácidos, intensidade de fluorescência e razão E₄/E₆, utilizando os pacotes FactoMineR e factoextra.³¹⁻³² Para os dados qualitativos (FTIR), os espectros foram comparados com relação a literatura pertinente.

3. Resultados e Discussão

Os resultados da análise de composição elementar dos AH e as razões atômicas (C/N, H/C e O/C) encontram-se na Tabela 1. A análise elementar mostrou AH-V1 com maiores teores de C e menores teores de O e N, enquanto, AH-V2 exibiu os maiores teores de O e N, e menores de C e H. Já AH-V4 se diferiu dos demais pelos maiores teores de H, assim como, pelos teores de N similares aos encontrados para AH-V2.

De maneira geral, os teores de C, H, N e O foram próximos aos valores para AH para solo turfoso fornecidos pela IHSS³³. Bispo *et al.*,³⁴ (Brasil), Chukhareva *et al.*,³⁵ (Rússia), Ebeling²⁴ (Brasil), Silva Neto *et al.*,³⁶ (Brasil), Silva *et al.*,³⁷ (Brasil), Soares *et al.*,³⁸ (Brasil), Soares *et al.*,³⁹ (Brasil) e Yustiawati *et al.*,⁴⁰ (Indonésia) estudando Organossolos, encontraram nas camadas superficiais teores médios de C de 28,9 a 66,4%, H de 2,7 a 6,3%, O de 15,1 a 40,7%. Entretanto, os teores de N encontrados nos diferentes AH foram mais elevados do que observados nos estudos citados anteriormente (0,7 a 3,7%), o que conferiu uma baixa razão C/N para os AH independentemente da origem.

A razão atômica C/N indica o grau de incorporação de nitrogênio na estrutura húmica e pode informar sobre o grau de humificação, sendo que, menores relações C/N indicam maior grau de humificação.⁴¹ A razão C/N nos AH-V1 encontram-se dentro da faixa (10-12), o que indica estabilidade biológica e sugere baixa mineralização secundária da matéria orgânica (nitrogênio presente nas cadeias alifáticas de moléculas orgânicas utilizado no

Tabela 1. Valores médios mais ou menos o desvio padrão da composição elementar (livres de cinzas e de água) e relações atômicas de ácidos húmicos isolados da camada superficial dos solos de veredas sob diferentes condições ambientais (V1 – vereda em unidade de conservação; V2 – vereda com uso agrícola no entorno; V3 – vereda cortada por estrada; e V4 – vereda em área urbana)

AH	%				Razão atômica		
	C	H	N	O	C/N	H/C	O/C
V1	61,23±1,07	2,31±0,08	6,25±0,26	30,22±0,89	11,45±0,66	0,45±0,01	0,37±0,02
V2	42,00±0,45	1,35±0,26	8,59±0,16	48,05±0,53	5,71±0,17	0,38±0,07	0,86±0,02
V3	46,63±0,60	1,82±0,16	7,64±0,17	43,91±0,27	7,13±0,25	0,47±0,05	0,71±0,01
V4	49,74±0,43	2,92±0,08	8,33±0,11	39,01±0,46	6,97±0,12	0,71±0,02	0,59±0,01

metabolismo dos microrganismos).¹⁵ Entretanto, os AH oriundos de veredas antropizadas (V2, V3 e V4) encontram-se abaixo da faixa sugerida, o que indica que o processo de mineralização secundária é maior e sugere baixa resistência destes AH a este processo.

A razão atômica H/C é considerada um parâmetro de aromaticidade dos AH, uma razão menor (<1,0) indica alta aromaticidade e/ou condensação dos anéis aromáticos.¹⁹ No presente estudo, esta razão variou de 0,38 a 0,71, o que indica maior proporção C em grupos aromáticos, especialmente, nos AH isolados dos Organossolos de V1 e V2. De acordo com Silva *et al.*,³⁷ a menor taxa de decomposição da matéria orgânica proporcionada pelas condições de anaerobiose nos Organossolos pode favorecer maiores quantidades de estruturas aromáticas. Nas características estruturais dos AH-V4 isolados de Neossolo Flúvico foram obtidos valores mais elevados na relação H/C, que indica para este, maior presença de C em grupos alifáticos.

Com relação à razão atômica O/C, esta reflete o conteúdo relativo de grupos contendo oxigênio nos AH, e valores superiores a 0,5 indicam maior quantidade de grupos funcionais oxigenados, como COOH e carboidratos, observados para os AH de V2, V3 e V3, o que sugere uma alta acidez e uma capacidade elevada de formar complexos com metais.¹² No entanto, para os AH-V1 observa-se uma menor proporção de oxigênio em relação ao carbono, o que sugere ácidos húmicos menos oxidados e mais aromáticos.⁴²

Na Tabela 2, observa-se que dentre os grupamentos funcionais ácidos há uma maior quantidade de grupamentos fenólicos em relação a grupamentos carboxílicos nos AH das diferentes veredas. Para AH-V4 nota-se elevada acidez total, sendo representada por aproximadamente 87% de agrupamentos fenólicos. Cunha *et al.*⁴¹ encontraram acidez total de 712 cmol_c kg⁻¹ em solos antropogênicos sob cultivo agrícola, implicando baixo grau de evolução de AH oriundos de solos alterados. Logo, o conteúdo de grupos carboxílicos foi maior para os AH-V1, expondo menor acidez total em comparação aos solos de veredas antropizadas, o que sugere menor número de íons hidrogênio (H⁺) e maior evolução química para os AH-V1.¹³

Substâncias húmicas têm a capacidade de tamponar o pH do solo, ajudando a neutralizar variações no pH. Isso ocorre porque os grupos funcionais, como os grupos carboxílicos e

fenólicos, podem interagir com H⁺ e metais.⁴² Em geral, em solos ácidos, a concentração de substâncias húmicas pode ser reduzida devido à degradação acelerada, mas elas podem ajudar a tamponar a acidez e melhorar a disponibilidade de nutrientes. Em solos alcalinos, as substâncias húmicas são geralmente mais estáveis, e sua presença pode ajudar a manter a disponibilidade de nutrientes e melhorar a estrutura do solo.³

Ainda na Tabela 2, observa-se que a razão E₄/E₆ variou de 2,67 a 4,33, sendo que AH-V4 exibiu maior valor dessa relação e uma baixa relação foi observada em AH-V1, AH-V2 e AH-V3, sendo menor em AH-V2. A baixa razão E₄/E₆ indica massa molecular mais elevada e maior presença de estruturas aromáticas em comparação com as alifáticas, consequentemente, maior grau de humificação.²¹

Ácidos húmicos com uma estrutura mais aromática apresentam maior estabilidade no solo e exibem um estágio mais avançado de decomposição, ou seja, reflete na capacidade do solo de reter água e nutrientes, bem como sua resistência à erosão e poluição do solo.⁴² As alterações nessa relação em conjunto com diferentes indicadores, ao longo do tempo, podem indicar processos de mineralização ou humificação que afetam a qualidade do solo, fornecendo insights sobre a saúde e a sustentabilidade do ecossistema. De acordo com Pereira *et al.*,¹⁹ existe relação direta entre os valores da razão E₄/E₆ e os valores da relação atômica H/C, uma vez que, um grau elevado de alifaticidade conferem valores maiores para H/C. Esta relação foi observada neste estudo, onde as razões E₄/E₆ e H/C foram significativamente maiores para os AH-V4, o que implica na identificação da maior presença de estruturas alifáticas em relação as aromáticas.

Os espectros obtidos com excitação a 465 nm mostraram variações quanto a IF e apresentaram uma banda larga típica com picos de emissões posicionadas entre os comprimentos de onda 520-548 nm (Figura 2). Os valores mais altos de IF ocorreram nos AH-V1 com pico da intensidade máxima de 704,5 u.a, sendo 2,0 vezes maior que os AH-V4 (332,4 u.a). Os AH isolados de V2 e V3 apresentaram IF intermediária, sendo maiores para AH-V2. Milori *et al.*¹³ explicam que uma alta intensidade de fluorescência está correlacionada com elevada humificação dos AH, já que a excitação região do azul (λ_{exc}= 465 nm) é altamente seletiva com estruturas aromáticas mais complexas.

Tabela 2. Valores médios mais ou menos o desvio padrão da acidez total, carboxílica e fenólica, e relação E₄/E₆ de ácidos húmicos isolados da camada superficial dos solos de veredas sob diferentes condições ambientais (V1 – vereda em unidade de conservação; V2 – vereda com uso agrícola no entorno; V3 – vereda cortada por estrada; e V4 – vereda em área urbana)

AH	Grupos funcionais ácidos			E ₄ /E ₆
	Acidez total	COOH	OH fenólico	
	<i>cmol_c kg⁻¹</i>			
V1	481,67±68,54	247,47±9,29	234,20±73,20	3,50±0,01
V2	755,00±69,26	175,47±84,81	579,53±15,61	2,76±0,04
V3	749,00±112,20	159,20±18,75	589,80±127,03	3,24±0,03
V4	899,33±73,50	112,67±34,49	786,67±96,75	4,33±0,05

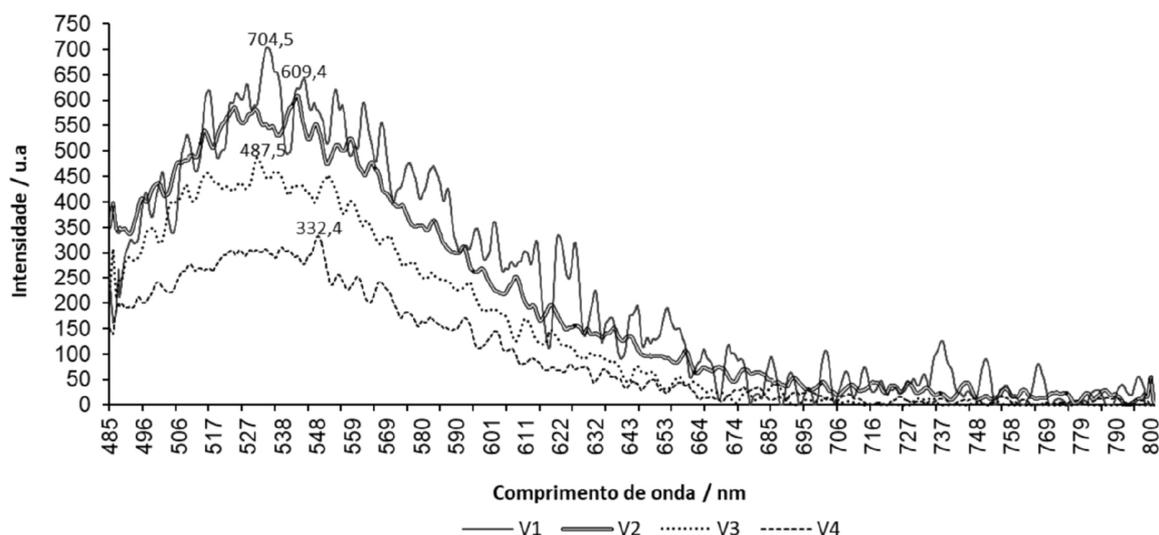


Figura 2. Espectro de emissão de fluorescência por excitação a 465 nm de ácidos húmicos isolados da camada superficial dos solos de veredas sob diferentes condições ambientais (V1 – vereda em unidade de conservação; V2 – vereda com uso agrícola no entorno; V3 – vereda cortada por estrada; e V4 – vereda em área urbana)

Picos de fluorescência em longos comprimentos de onda como observados em AH-V1 e AH-V2, indicam a presença de anéis aromáticos condensados e outros sistemas de ligações insaturados, com alto grau de conjugação com grupos substituintes doadores de elétrons, como grupos carboxílicos e carbonílicos.²⁹⁻⁴¹ Picos de fluorescência em curtos comprimentos de ondas, como verificados nos AH-V4, sugerem estrutura orgânica menos complexa (menor quantidade de anéis aromáticos condensados na sua composição), compatível com os resultados observados nas relações E_4/E_6 e H/C . Deste modo, avaliando os índices de humificação em conjunto, aponta-se previamente que AH-V1 é o que apresenta o maior grau de humificação, e AH-V4 sendo o menos humificado. A sequência mais provável de humificação seria então: AH-V1 > AH-V2 >

AH-V3 > AH-V4, ou seja, o solo de vereda com vegetação nativa conservada tem AH mais humificados do que os solos de veredas com interferências antrópicas em seus arredores. Da mesma maneira, Araújo *et al.*²¹ verificaram no estudo em Latossolos no bioma Cerrado, maior grau de humificação para AH isolados da camada superficial de solos em área com vegetação conservada em relação a aqueles localizados em ambientes perturbados.

A análise de componentes principais (PCA) apresentou dois componentes principais que explicam aproximadamente 99% da variância total dos dados. Para a análise de componentes principais foram usadas as variáveis de composição elementar, grupos funcionais ácidos, intensidade de fluorescência e razão E_4/E_6 (Figura 3).

O primeiro componente (PCA1) explicou 60,8% da

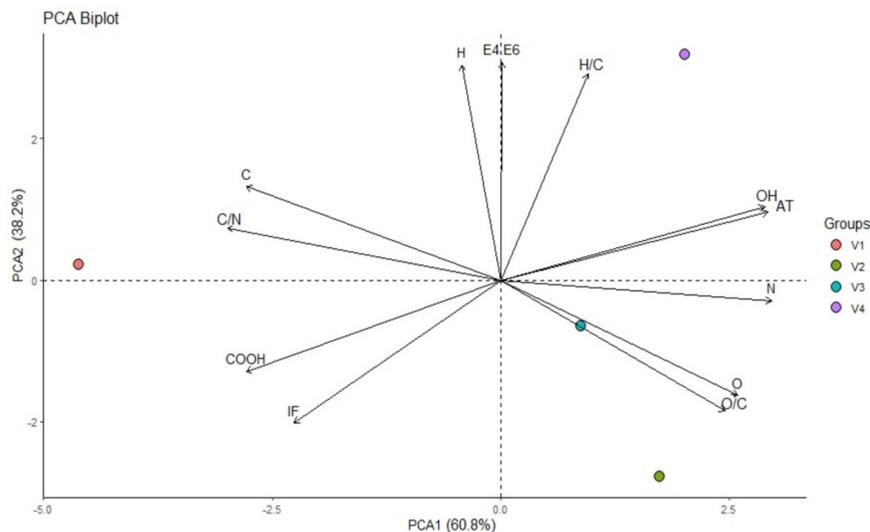


Figura 3. Biplot da análise de componentes principais (PCA) dos atributos químicos e espectroscópicos de ácidos húmicos isolados da camada superficial dos solos de veredas sob diferentes condições ambientais (V1 – vereda em unidade de conservação; V2 – vereda com uso agrícola no entorno; V3 – vereda cortada por estrada; e V4 – vereda em área urbana)

variância total, a partir da contribuição das variáveis N, AT, OH, O e O/C com carga fatorial positiva de 0,96 a 0,80 e negativa de -0,97 a -0,73 para C/N, COOH, C e IF. Logo, o segundo componente (PCA2) explicou 38,2% da variância dos dados e está correlacionado especialmente com a razão E_4/E_6 , H e H/C com carga positiva de 0,99 a 0,95.

Na Figura 3, observa-se que os AH provenientes dos solos alterados de V2 e V3 apresentaram comportamentos semelhantes. Ambos projetaram-se positivamente no PCA1, os quais estão relacionados ao teor de O e O/C, reflexo do maior conteúdo relativo de grupos oxigenados identificados em suas estruturas.

Em contrapartida, os AH de V4 foram relacionados positivamente com os atributos contribuintes do PCA2, em particular, mostra que a relação entre H/C, E_4/E_6 e a maior acidez total está atribuída a uma estrutura orgânica com grau elevado de alifaticidade. Este comportamento sugere que a menor estabilidade estrutural e grau de humificação dos AH-V4 é resultado do baixo aporte e evolução química da matéria orgânica, devido rápida oxidação, originada pelas mudanças na cobertura do solo na vereda V4. Ainda na Figura 3, em oposição a V4, os AH-V1 foram relacionados ao C e C/N, os quais são indicativos de que cobertura vegetal natural, de fato, favorece a evolução química da matéria orgânica, mesmo em condições de hidromorfismo do solo.

As mudanças na composição da vegetação em veredas devido a atividades urbanas ou agrícolas podem levar a uma oxidação mais rápida e intensa da matéria orgânica acumulada. Uma vez que, sem uma cobertura vegetal adequada, a matéria orgânica é decomposta mais rapidamente devido as alterações na composição microbiana, o que resulta na formação de ácidos húmicos com uma estrutura menos complexa e menos eficaz na troca de cátions e na retenção de nutrientes e na sua capacidade de estabilizar a matéria orgânica.²³

Em complemento, foram analisados os espectros do FTIR dos diferentes AH que, em geral, apresentaram assinaturas espectrais semelhantes e picos característicos em determinadas regiões. As identificações de bandas de absorção foram realizadas com base nos estudos de Barancikova *et al.*,⁴³ Niemeyer *et al.*,⁴⁴ e Stevenson⁴.

Os espectros de FTIR, observados na Figura 4, assemelharam-se aos obtidos de AH originados de Organossolos por Souza *et al.*,¹⁴ Ebeling²⁴, Klavins e Purmalis⁴⁵, Landim⁴⁶, e Mafra *et al.*,⁴⁷. Nos AH das diferentes áreas de veredas foram verificadas entre oito a doze bandas de absorção, sendo possível observar uma banda bem definida, intensa e comum a todos centrada em 3.440 (variando de 3.480 a 3.440 cm^{-1}), atribuída ao estiramento de O-H de grupos fenóis, álcool e/ou ácido carboxílico, secundariamente, ao estiramento de N-H de amidas e aminas; uma banda de absorção menos visível centrada em 2.920 e 2840 cm^{-1} devido ao estiramento simétrico de ligações C-H ($-\text{CH}_2$ e $-\text{CH}_3$ alifáticos); uma banda de absorção intensa e larga com centro em 1.650 cm^{-1} (variando entre 1.660 cm^{-1} e 1.640 cm^{-1}), associadas ao estiramento de C=C de anéis

aromáticos, banda de Amida II e quinonas; uma banda intensa em torno de 1.440–1.400 cm^{-1} atribuída à deformação O-H e C-H ($-\text{CH}_2$ e $-\text{CH}_3$ alifáticos); uma banda de absorção centrada em 1.120 cm^{-1} correspondente ao estiramento de C-O de álcoois secundários e/ou éteres; uma banda aguda com centro em 1.040 cm^{-1} devida a estiramentos C-O em polissacarídeos, álcoois alifáticos, e C-O-C de ésteres e, por fim, a banda entre 800 e 900 cm^{-1} que pode ser atribuídas a deformações de C-H em grupos aromáticos e de impurezas inorgânicas e organometálicas.

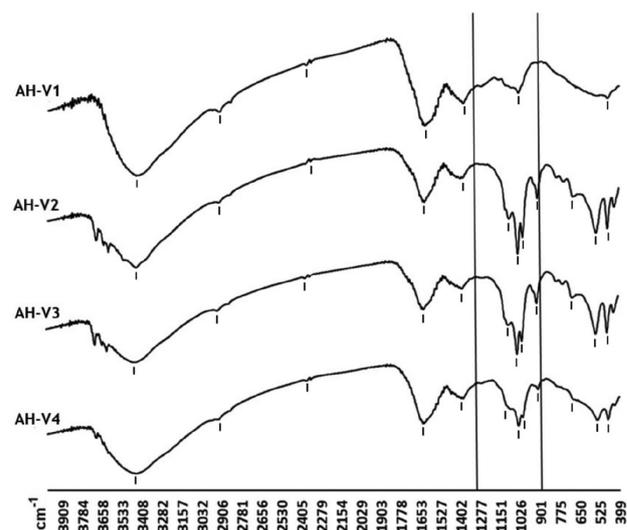


Figura 4. Espectros na região de infravermelho obtidos com transformada de Fourier (FTIR) de ácidos húmicos isolados da camada superficial dos solos de veredas sob diferentes condições ambientais (V1 – vereda em unidade de conservação; V2 – vereda com uso agrícola no entorno; V3 – vereda cortada por estrada; e V4 – vereda em área urbana)

Dessa maneira, nota-se similaridade na funcionalidade dos espectros dos AH independente da origem e indicam a presença de grupos funcionais essenciais em sua estrutura química, residindo as principais diferenças na maior intensidade da banda associada à presença de cadeias aromáticas (1.650 cm^{-1}) para AH-V1, que exibiu um espectro mais limpo, com menos impurezas e uma melhor relação sinal-ruído, principalmente, na região de impressão digital – “fingerprint” (entre 1.300 e 900 cm^{-1}). Destaca-se ainda que, uma diminuição significativa na área de impressão digital pode estar associada à sua maior estabilidade química⁴⁸, o que é um dos indicadores de maior qualidade no desenvolvimento do material orgânico em V1. Diferentemente, na região “fingerprint” os AH isolados de V2, V3 e V4 exibiram mais ruídos/impurezas nos espectros e uma maior intensidade na banda 1.040 cm^{-1} que está relacionada ao C-O em polissacarídeos e álcoois alifáticos, o que indica baixa aromaticidade para estes AH.¹⁹ Com esses resultados é possível identificar que há efeito do tipo de solo e/ou da vegetação na assinatura química dos diferentes AH.

Os resultados demonstram que as atividades antrópicas podem ter um impacto significativo nas estruturas dos AH.

Os AH desempenham papéis cruciais na fertilidade do solo, na qualidade da água e no sequestro de carbono e as alterações em suas estruturas podem afetar diretamente a funcionalidade desse ecossistema.¹

As veredas são ecossistemas que desempenham papéis importantes para o meio ambiente e agricultura, visto que, participam da regulação e armazenamento dos recursos hídricos, que pode beneficiar a agricultura, especialmente em regiões que dependem de fontes de água subterrânea para irrigação, e sua vegetação ajuda a prevenir a erosão do solo, mantendo a estabilidade dos solos ao redor e melhorando a fertilidade.²² Além da regulação hídrica, as veredas fornecem outros serviços ecossistêmicos, como a polinização, o controle de pragas e a ciclagem de nutrientes.¹⁷ E a preservação dessas áreas assegura a continuidade desses serviços essenciais para a saúde dos ecossistemas e das comunidades humanas. Desse modo, integrar a preservação das veredas com práticas antrópicas, políticas ambientais e pesquisas para entender melhor os impactos dessas atividades na qualidade dos solos das veredas são essenciais para sustentabilidade e manutenção dos seus serviços ambientais.

4. Conclusões

As mudanças no uso do solo por atividades agrícolas ou urbanas entorno ou sob as veredas alteraram as características estruturais dos AH. A partir dos resultados as principais conclusões que puderam ser obtidas foram:

AH oriundos do solo da vereda pertencente ao ambiente não alterado (V1) apresentaram maior evolução química (grau de humificação) do que aqueles de ambientes antropizados (V2, V3 e V4).

Dentre as diferentes intervenções antrópicas, o uso do solo para edificações urbanas no entorno da vereda V4 foi que exibiu AH com características mais alifáticas, o que demonstra para este a presença de compostos menos complexos.

Agradecimentos

Agradecemos ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e ao Parque Nacional de Brasília (PNB) por nos permitirem utilizar a área de estudo e a Universidade de Brasília (UnB) pelo auxílio no uso de seus laboratórios para realização das análises.

Declaração de Financiamento

Este trabalho contou com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES-001), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq-305255/2020-7), da

Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP 01.22.0118.00) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG - APQ-00437-21 e FAPEMIG - APQ-00422-23).

Referências Bibliográficas

- Rosolen, V.; De-Campos, A. B.; Govone, J. S.; Rocha, C.; Contamination of wetland soils and floodplain sediments from agricultural activities in the Cerrado Biom (State of Minas Gerais, Brazil). *Catena* 2015, *128*, 203. [Crossref]
- Sire, J.; Klavins, M.; Influence of the humification process on the properties of peat humic acids. *Proceedings of the Latvian academy of sciences* 2010, *64*, 167. [Crossref]
- Canellas, L. P.; Santos, G. A.; *Humosfera: Tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas*. UENF: Rio de Janeiro, Campos dos Goytacazes, 2005.
- Stevenson, J. F.; *Humus chemistry: Genesis, composition, reactions*, 2a. ed., Wiley: New York, 1994.
- Rosa, D. M.; Nóbrega, L. H. P.; Mauli, M. M.; Lima, G. P.; Pacheco, F. P.; Substâncias húmicas do solo cultivado com plantas de cobertura em rotação com milho e soja. *Revista Ciência Agronômica* 2017, *48*, 221. [Crossref]
- Dobbss, L. B.; Rumjaneck, V. M.; Baldotto, M. A.; Velloso, A. C. X.; Canellas, L. P.; Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e fúlvicos isolados da camada superficial de Latossolos brasileiros. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 2009, *33*, 51. [Crossref]
- Enev, V.; Pospíšilová, L.; Klučáková, M.; Liptaj, T.; Doskočil, L.; Spectral characterization of selected humic substances. *Soil & Water Res.* 2014, *9*, 9. [Crossref]
- Nobili, M.; Bravo, C.; Chen, Y.; The spontaneous secondary synthesis of soil organic matter components: a critical examination of the soil continuum model theory. *Applied Soil Ecology* 2020, *154*, 103655. [Crossref]
- Novotny, E. H.; Turetta, A. P. D.; Resende, M. F.; Rebello, C. M.; The quality of soil organic matter, accessed by ¹³C solid state nuclear magnetic resonance, is just as important as its content concerning pesticide sorption. *Environmental Pollution.* 2020, *266*, 115298. [Crossref]
- Tadini, A. M.; Xavier, A. A. P.; Milori, D. M. B. P.; Oliveira, P. P. A.; Pezzopane, J. R.; Bernardi, A. C. C.; Martin-Neto, L.; Evaluation of soil organic matter from integrated production systems using laser-induced fluorescence spectroscopy. *Soil & Tillage Research* 2021, *211*, 105001. [Crossref]
- Bettiol, W.; Silva, C. A.; Cerri, C. E. P.; Martin Neto, L.; Andrade, C. A.; *Entendendo a matéria orgânica do solo em ambientes tropical e subtropical*, 1a ed., Embrapa: Brasília, 2023. [Crossref]
- Zhang, Y.; Li, Y.; Chang, L.; Zi, C.; Liang, G.; Zhang, D.; Su, Y.; A comparative study on the structural features of humic acids extracted from lignites using comprehensive spectral analyses. *RSC Advances* 2020, *10*, 22002. [Crossref]
- Milori, D. M. B. P.; Martin-Neto, L.; Bayer, C.; Mielniczuk, J.; Bagnato, V.; Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. *Soil Science* 2002, *167*, 739. [Crossref]

14. Souza, C. C. B.; Oliveira, D. F.; Souza, R. S.; Souza, A. F. F.; Costa, T. G. A.; Lima, B. R.; Souza, W. S.; Santos, O. A. Q.; Pinheiro Junior, C. R.; Leite, F. F. G. D.; Moura, O. V. T.; Aguiar, T. C.; Lázaro, M. L.; Lima, A. C. B. P.; García, A. C.; Diferenciação de ácidos húmicos de diferentes origens mediante RMN de ¹³C via CP/MAS e ATR-FTIR aliado a quimiometria. *Revista Virtual de Química* 2021, *13*, 371. [[Crossref](#)]
15. Senesi, G. S.; Martin-Neto, L.; Villas-Boas, P. R.; Nicolodelli, G.; Milori, D. M. B. P.; Laser-based spectroscopic methods to evaluate the humification degree of soil organic matter in whole soils: a review. *J. Soils Sediments* 2016, *18*, 1292. [[Crossref](#)]
16. Brasil, M. C. O.; Magalhães Filho, R.; Espírito-Santo, M. M.; Leite, M. E.; Veloso, M. D. D. M.; Falcão, L. A. D.; Land-cover changes and drivers of palm swamp degradation in southeastern Brazil from 1984 to 2018. *Applied Geography* 2021, *137*, 102604. [[Crossref](#)]
17. Nunes, Y. R. F.; Souza, C. S.; Azevedo, I. F. P.; Oliveira, O. S.; Frazão, L. A.; Fonseca, R. S.; Santos, R. M.; Neves, W. V.; Vegetation structure and edaphic factors in veredas reflect different conservation status in these threatened areas. *Forest Ecosystems* 2020, *9*, 100036. [[Crossref](#)]
18. Dodla, S. K.; Wang, J. J.; Cook, R. L.; Molecular composition of humic acids from coastal wetland soils along a salinity gradient. *Soil Science Society of America Journal* 2012, *76*, 1592. [[Crossref](#)]
19. Pereira, M. G.; Fontana, A.; Tavares, O. C. H.; Loss, A.; Santos, O. A. Q.; García, A. C.; Caracterização Composicional e Estrutural dos Ácidos Húmicos de Solos de Tabuleiros sob Diferentes Coberturas Vegetais. *Revista Virtual de Química* 2021, *13*, 445. [[Crossref](#)]
20. Duarte, R. M. B. O.; Fernández-Getino, A.P.; Duarte, A.C.; Humic acids as proxies for assessing different Mediterranean forest soils signatures using solid-state CP/MAS ¹³C NMR spectroscopy. *Chemosphere* 2013, *91*, 1556. [[Crossref](#)]
21. Araújo, K. V.; Pittarello, M.; Carletti, P.; Dobbss, L. B.; Structural characterization and bioactivity of humic and fulvic acids extracted from preserved and degraded Brazilian Cerrado Biomes soils. *Eurasian Soil Science* 2021, *54*, 16. [[Crossref](#)]
22. Horák-Terra, I.; Terra, F. S.; Lopes, A. K. A.; Dobbss, L. B.; Fontana, A.; Silva, A. C.; Vidal-Torrado, P.; Impacts of anthropization on soil processes and attributes of a savana palm swamp (vereda) in an agricultural area of Central Brazil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 2022, *46*, 1. [[Crossref](#)]
23. Castro, S. S.; Hernani, L. C. *Solos frágeis: caracterização, manejo e sustentabilidade*. 23a. ed., Embrapa Solos: Brasília, 2015.
24. Ebeling, A. G.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2010. [[Link](#)]
25. Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil – INMET, Histórico de dados meteorológicos do Brasil. Brasília – DF. Disponível em: <<https://portal.inmet.gov.br/>>. Acesso em: 02 abril 2024.
26. Santos, H. G.; Jacomine, P. K. T.; Anjos, L. H. C.; Oliveira, V. A.; Lumbreras, J. F.; Coelho, M. R.; Almeida J. A.; Araujo Filho, J. C.; Oliveira, J. B.; Cunha, T. J. F. *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos - SiBCS*, 5a. ed., Embrapa Solos: Brasília, 2018.
27. Swift, R.S.; *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*; Sparks, D. L.; Loeppert, R. H.; Page, A. L.; Helmke, P. A.; eds.; Soil Science Society of America and American Society of Agronomy: Madison, 1996, cap. 3.
28. Schnitzer, M.; Gupta, U.C.; Determination of acidity in soil organic matter. *Soil Science Society of America Journal* 1965, *27*, 274. [[Crossref](#)]
29. Chen, Y.; Senesi, N.; Schnitzer, M.; Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. *Soil Science Society of America Journal* 1997, *41*, 352. [[Crossref](#)]
30. R Foundation for statistical computing; R Software V.4.3.2; R: A language and environment for statistical computing, Austria, 2024.
31. Kassambara, A.; Mundt, F.; Package “factoextra”; R topics documented – “factoextra” V.1.0.7., Austria, 2022. s. R package version 4.3.2 (online). Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>. Acesso em: 03 abril 2024.
32. Le, S.; Josse, J.; Husson, F.; FactoMineR: An R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software* 2008, *25*, 1. [[Crossref](#)]
33. International Humic Substance Society (IHSS). Elemental Compositions and Stable Isotopic Ratios of IHSS Samples. Disponível em: <<https://humic-substances.org/elemental-compositions-and-stable-isotopic-ratios-of-ihss-samples/>>. Acesso em: 04 de janeiro de 2024.
34. Bispo, D. F. A.; Silva, A. C.; Christóforo, C.; Silva, M. L. N.; Barbosa, M. S.; Silva, B. P. C.; Barral, U. M.; Characterization of headwaters peats of the Rio Araçuaí, Minas Gerais state, Brazil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 2015, *39*, 475. [[Crossref](#)]
35. Chukhareva, N.; Sartakov, M.; Korotchenko, T.; Alteration in elemental and functional composition of heated peat humic acids. *MATEC Web of Conferences* 2016, *85*, 0100. [[Crossref](#)]
36. Silva Neto, A. C.; Horák, I.; Martínez Cortizas, A.; Vidal-Torrado, P.; Rodriguez Racedo, J.; Graziotti, P. H.; Silva, E. B.; Ferreira, C. A.; Turfeiras da Serra do Espinhaço Meridional: I Caracterização e classificação. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 2009, *33*, 1385. [[Crossref](#)]
37. Silva, A. C.; Horák, I.; Martínez Cortizas, A.; Vidal-Torrado, P.; Rodriguez Racedo, J.; Graziotti, P. H.; Silva, E. B.; Ferreira, C. A.; Turfeiras da Serra do Espinhaço Meridional: I Caracterização e classificação. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 2009, *33*, 1385. [[Crossref](#)]
38. Soares, P. F. C.; Silva, R. C.; Silva Neto, E. C.; Pereira, M. G.; Pinheiro Junior, C. R.; Pessenda, L. C. R.; Anjos, L. H. C.; Histosol pedogenesis in floodplain coastal environments in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Catena* 2021, *207*, 105612. [[Crossref](#)]
39. Soares, P. F. C.; Anjos, L. H. C.; Pereira, M. G.; Pessenda, L. C. R.; Histosols in an Upper Montane Environment in the Itatiaia Plateau. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 2016, *40*, e0160176. [[Crossref](#)]
40. Yustiawati, Y. K.; Sazawa, K.; Kuramitz, H.; Kurasaki, M.; Saito, T.; Hosokawa, T.; Syawal, M. S.; Wulandari, L.; Hendri, I.; Tanaka, S.; Effects of peat fires on the characteristics of humic acid extracted from peat soil in Central Kalimantan, Indonesia. *Environmental Science and Pollution Research* 2015, *22*, 2384. [[Crossref](#)]

41. Cunha, T. J. F.; Madari, B. E.; Benites, V. M.; Fracionamento químico da matéria orgânica e características de ácidos húmicos de solos com horizonte a antrópico da Amazônia (Terra Preta). *Acta Amazonica* **2007**, *37*, 91. [[Crossref](#)]
42. Baldotto, M. A.; Baldotto, L. E. B.; Ácidos húmicos. *Revista Ceres* 2014, *61*, 856. [[Crossref](#)]
43. Barancikova, G.; Senesi, N.; Brunetti, G.; Chemical and spectroscopic characterization of humic acids isolated from different Slovak soil types. *Geoderma* 1997, *78*, 251. [[Crossref](#)]
44. Niemeyer, J.; Chen, Y.; Bollag, J. M.; Characterization of humic acids, composts, and peat by diffuse reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal* **1992**, *56*, 135. [[Crossref](#)]
45. Klavins, M.; Purmalis, O.; Properties and structure of raised bog peat humic acids. *Journal of Molecular Structure* 2013, *1050*, 103. [[Crossref](#)]
46. Landim, R. L. A. C.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri, 2022. [[Link](#)]
47. Mafra, A. L.; Senesi, N.; Brunetti, G.; Miklós, A. A. W.; Melfi, A. J.; Humic acid from hydromorphic soil of the upper Negro river basin, Amazonas: Chemical and spectroscopic characterisation. *Geoderma* 2007, *138*, 70. [[Crossref](#)]
48. Sá, M. C.; Campos, A. R. M.; Evaristo, A. B.; Silva, R. C.; Dobbs, L. B.; Quality and Bioactivity of Humic Substances from Soils Grown with Cover Crops. *Eurasian Soil Science* 2023, *56*, 1. [[Crossref](#)]