

Análises Espectroscópicas da Matéria Orgânica de Solos sob Aplicação de Águas Residuárias



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Embrapa Instrumentação

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 33

Análises Espectroscópicas da Matéria Orgânica de Solos sob Aplicação de Águas Residuárias

Cleber Hilário dos Santos

Débora Marcondes Bastos Pereira Milori

Ladislau Martin-Neto

Wilson Tadeu Lopes da Silva

Marcelo Luiz Simões

Célia Regina Montes

Adolpho José Melfi

São Carlos, SP

2010

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação

Rua XV de Novembro, 1452
Caixa Postal 741
CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: (16) 2107 2800
Fax: (16) 2107 2902
<http://www.cnpdia.embrapa.br>
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: João de Mendonça Naime
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,
Sandra Protter Gouvea
Washington Luiz de Barros Melo
Valéria de Fátima Cardoso
Membro Suplente: Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto
Revisão de texto: Raíra Valente
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso
Tratamento de ilustrações: Valentim Monzane
Capa foto: Fonte: <http://maps.google.com/> (acesso 22/03/2011)
Imagem cedida pela D.Sc. Célia Regina Montes
Editoração eletrônica: Valentim Monzane

1ª edição

1ª impressão (2010): tiragem 300

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Instrumentação

-
- S237a Santos, Cleber Hilário dos
Análises espectroscópicas da matéria orgânica de solos sob aplicação de águas
residuárias. / Cleber Hilário dos Santos, Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,
Ladislau Martin-Neto, Wilson Tadeu Lopes da Silva, Marcelo Luiz Simões, Célia Regina
Montes, Adolpho José Melfi. – São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2010.
00 p. – (Embrapa Instrumentação. Boletim de Pesquisa e
Desenvolvimento, ISSN 1678-0434; 33).

1. Reciclagem. 2. Meio ambiente. 3. Agricultura. 4. Seqüestro de carbono.
5. Solos. 6. Substância húmicas. 7. Águas residuárias I. Milori, Débora Marcondes
Bastos Pereira. II. Martin-Neto, Ladislau. III. Silva, Wilson Tadeu Lopes da. IV. Simões,
Marcelo Luiz. V. Montes, Célia Regina. VI. Melfi, Adolpho José. IV. Título. V. Série.

CDD 21 ED 628.4458

631

363.7

© Embrapa 2009

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
1. Introdução	9
2. Materiais e Métodos	10
Amostras	10
Extração das Substâncias Húmicas	11
Caracterização da Matéria Orgânica do Solo	12
<i>MÉTODOS QUÍMICOS</i>	12
<i>Determinação do carbono orgânico total</i>	12
<i>Análise elementar (CHNS)</i>	12
<i>MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS</i>	12
<i>Espectroscopia de Fluorescência de Luz Uv-Visível</i>	12
<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear</i>	13
<i>Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser</i>	14
3. Resultados e Discussão	14
4. Conclusões	21
5. Referências	23
Agradecimentos	25

Análises Espectroscópicas da Matéria Orgânica de Solos sob Aplicação de Águas Residuárias

Cleber Hilário dos Santos¹

Débora Marcondes Bastos Pereira Milori²

Ladislau Martin-Neto³

Wilson Tadeu Lopes da Silva⁴

Marcelo Luiz Simões⁵

Célia Regina Montes⁶

Adolpho José Melfi⁷

Resumo

Em todo o mundo existe uma crescente competição pelo uso de água entre diversos setores da sociedade. O consumo de água na agricultura é grande em relação a outros tipos de uso, podendo afetar a disponibilidade deste recurso para a população urbana se este não for bem administrado. No Brasil, a agricultura consome cerca de 61% da água doce total. Entre as diferentes alternativas utilizadas pelas sociedades contemporâneas para solucionar ou minimizar este problema, visando à utilização racional e eficiente desse precioso recurso natural, o reuso de águas residuárias (efluentes) é uma opção viável econômica e ambientalmente correta. O objetivo desse trabalho foi estudar as alterações na matéria orgânica de um Argissolo Vermelho Distrófico Latossólico cultivado com capim-Bermuda Tifton 85 submetidos à adição de efluentes gerados na estação de tratamento de esgoto. As amostras utilizadas foram coletadas no município de Lins/SP em experimento já em andamento. O delineamento experimental empregado foi o de blocos completos casualizados com seis tratamentos e três repetições. Os seis tratamentos estudados foram: (1) S1 - sem irrigação e sem fertilização nitrogenada mineral (FNM) - (branco); (2) E100 - irrigação com efluente e 100% ($520 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) da dose recomendada de FNM para o capim Tifton - 85; (3) E66 - irrigação com efluente e 66% ($343,2 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) da FNM; (4) E33 - irrigação com efluente e 33% ($171,6 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) da FNM; (5) E0 - irrigação com efluente e 0% ($0 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) da

¹Química, M.Sc., Embrapa Instrumentação, C.P. 741, CEP 13560-970, São Carlos, SP. cleber@cnpdia.embrapa.br

²Física, D.Sc. Pesquisadora, Embrapa Instrumentação, C.P. 741, CEP 13560-970, São Carlos, SP. debora@cnpdia.embrapa.br

³Física, D.Sc. Pesquisador, Embrapa Instrumentação, C.P. 741, CEP 13560-970, São Carlos, SP. martin@cnpdia.embrapa.br

⁴Química, D.Sc. Pesquisador, Embrapa Instrumentação, C.P. 741, CEP 13560-970, São Carlos, SP. wilson@cnpdia.embrapa.br

⁵Física, D.Sc., Embrapa Instrumentação, C.P. 741, CEP 13560-970, São Carlos, SP. marcelo@cnpdia.embrapa.br

⁶Física, D.Sc. CENA, NUPEGEL, C.P. 09, CEP 13418-900, Piracicaba, SP. crmlauar@usp.br

⁷Geologia, D.Sc. USP-ESALQ, NUPEGEL, C.P. 09, CEP 13418-900, Piracicaba, SP. ajmelfi@usp.br

FNM; (6) W100 – irrigação com água de consumo e 100% (520 Kg ha⁻¹ ano⁻¹) da FNM. Dessas amostras foram extraídos os ácidos húmicos (AH) para observar os efeitos da adição do efluente de esgoto tratado (EET) utilizando ressonância magnética nuclear de ¹³C (¹³C RMN), fluorescência de luz uv-visível e análise elemental (C, H, N, S). Para análise do solo inteiro utilizou-se a fluorescência induzida por laser (FIL) e os teores de carbono foram determinados pelo carbono orgânico total (COT). Através dos resultados obtidos pela análise elemental e ¹³C RMN não foi possível obter informações a respeito das alterações na composição dos AH após a adição do EET, pois estas técnicas não foram sensíveis às mudanças da matéria orgânica (MO). Os experimentos de ¹³C RMN forneceram espectros com bandas características de grupos alifáticos, comprovando seu alto grau de alifaticidade. Os resultados da espectroscopia de fluorescência em solução demonstraram que a irrigação com EET aumenta tanto a concentração de estruturas complexas quanto o grau de humificação dos AH. Os resultados de FIL para solos inteiros, entretanto, não mostraram alteração significativa com a irrigação com EET (exceto o tratamento E33), indicando que as alterações das substâncias húmicas no solo analisado ocorreram preferencialmente nos AH e afetando muito pouco da humina, que representa mais de 80% das SH do solo. Sendo assim, em relação à matéria orgânica do solo (MOS), a irrigação com EET por um período de quatro anos não causa mudanças significativas, e neste aspecto pode ser indicada como alternativa de irrigação não impactando significativamente a matéria orgânica e proporcionando benefícios econômicos, ambientais e sociais.

Termos para indexação: matéria orgânica; águas residuárias; espectroscopia; solo; carbono

Spectroscopic Analysis of Organic matter from Soils Under Application of Wastewater

Cleber Hilário dos Santos
Débora Marcondes Bastos Pereira Milori
Ladislau Martin-Neto
Wilson Tadeu Lopes da Silva
Marcelo Luiz Simões
Célia Regina Montes
Adolpho José Melfi

Abstract

Around the world there is a growing competition for the use of water among several sectors of society. Water consumption in agriculture is large when compared to other types of use and can affect the availability of water for the urban population unless it is well administered. In Brazil, agriculture consumes about 61% of the total freshwater. Among the different ways tried by contemporary societies to solve or minimize this problem, aiming to use rationally and efficiently this precious natural resource, reuse of wastewater (effluents) is an economically viable and environmentally correct option. The aim of this work was to study the changes in organic matter in a Typic Hapludults cultivated with Tifton 85 Bermudagrass submitted to addition of effluent generated by sewage treatment. The utilized samples were collected at Lins / SP, being part of a previously started experiment. The experimental design employed was the randomized complete blocks, with six treatments and three replications. The analyzed six treatments were: (1) W1 – without irrigation and without nitrogen as mineral fertilizer (NMF) - (white), (2) E100 - irrigation with effluent and 100% (520 kg ha⁻¹ year⁻¹) of the recommended dose of NMF for the Bermudagrass Tifton - 85, (3) E66 - irrigation with effluent and 66% (343.2 kg ha⁻¹ year⁻¹) of the NMF, (4) E33 - irrigation with effluent and 33% (171.6 Kg ha⁻¹ year⁻¹) of the NMF, (5) E0 - irrigation with effluent and 0% (0 kg ha⁻¹ year⁻¹) of the NMF, (6) W100 - irrigation with water for consumption and 100% (520 Kg ha⁻¹ year⁻¹) of the NMF. Humic acids (HA) were extracted from these samples in order to observe the effects of adding treated sewage effluent (TSE) using nuclear magnetic resonance of ¹³C (¹³C NMR) spectroscopy, UV-visible and fluorescence spectroscopy and elementary analysis (C, H, N, S). In order to analyze the whole soil, laser induced fluorescence (LIF) was utilized, and the carbon levels were determined through total organic carbon (TOC). Through the results obtained by elementary analysis and ¹³C NMR, it was not possible to obtain information about changes in the composition of HA after adding the

TSE, because these techniques were not sensitive to changes in organic matter (OM). The experiments of ^{13}C NMR provided spectra with bands typical of aliphatic groups, showing their high degree of aliphaticity. The fluorescence spectroscopy results for samples in solution demonstrated that the irrigation with TSE increases both the concentration of complex structures and the humification degree of HA. The results of LIF for the whole soil, however, showed no significant change with irrigation with TSE (except for the treatment E33), indicating that changes of humic substances in the analyzed soil occurred mainly in HA, and affecting very little on humin, which represents more than 80% of the soil HS. Therefore, regarding soil organic matter (SOM), irrigation with TSE along a four years period did not cause significant changes, and, under this viewpoint, it can be indicated as an alternative irrigation not significantly impacting the organic matter and providing economic, environmental and social benefits.

Index terms: organic matter; residual water; spectroscopy; soil; carbon

1. Introdução

A demanda cada vez maior de recursos hídricos decorrentes do contínuo crescimento populacional, associada à distribuição desigual deste recurso natural, à poluição de águas e às secas sazonais que afetam determinadas regiões do globo, são fatores que têm estimulado pesquisas sobre novas formas de recuperação e suprimento de água. Entre as diferentes alternativas utilizadas pelas sociedades contemporâneas para solucionar ou minimizar este problema, visando à utilização racional e eficiente desse precioso recurso natural, o reuso de águas residuárias é uma opção viável econômica e ambientalmente.

A água constitui-se no recurso natural mais importante para o desenvolvimento da agricultura no mundo, uma vez que as novas tecnologias para aumento de produtividade das áreas agrícolas são dependentes da sua disponibilidade. Tal importância se reflete nos altos índices de produtividade de áreas irrigadas, em que apenas 18% do total de áreas agrícolas correspondem a aproximadamente 40% da produção agrícola mundial (BROWN et al., 2000).

Em todo o mundo, devido a sua escassez, existe uma crescente competição pelo uso de água entre diversos setores da sociedade. O consumo de água na agricultura é grande em relação a outros tipos de uso, podendo afetar a disponibilidade deste recurso para a população urbana se este não for bem administrado. No Brasil, a agricultura consome cerca de 61% da água doce total (CHRISTOFIDIS, 2001). Portanto, é desejável uma realocação dos recursos hídricos usados na agricultura para outros setores.

Desde que realizada de forma controlada, a irrigação com efluente de esgoto tratado (EET) é altamente atrativa, pois além de possibilitar a liberação de recursos hídricos de melhor qualidade para outras atividades humanas, serve como uma forma de polimento dos efluentes provenientes do tratamento de esgoto por meio do “filtro biológico” constituído pelo sistema solo-planta.

O uso de EET também pode ser considerado como recurso econômico de grande valor, pois contém nutrientes e sua utilização pode levar à diminuição de fertilizantes minerais adicionados aos agrossistemas, reduzindo os custos variáveis de produção, aumentando a competitividade do produtor e contribuindo ainda para a preservação do meio ambiente.

Um ponto importante que favorece a utilização de EET na irrigação de culturas é o fato do solo, juntamente com as plantas, atuar como “filtro vivo”, absorvendo e retraindo nutrientes e poluentes. Portanto, os efluentes que causam impacto negativo ao ambiente, quando lançados diretamente nos corpos d'água, podem ser utilizados como fonte d'água e, segundo suas características químicas, como fonte de nutrientes, principalmente nitrogênio, para o sistema solo-planta (FEIGIN et al., 1978; FONSECA, 2001).

Os sistemas de tratamento de esgotos mediante o emprego de lagoas de estabilização geram resíduos como o lodo de esgoto e o efluente de esgoto tratado. O EET, subproduto líquido do tratamento de esgoto, consiste num tipo de água residuária, cujo destino final normalmente tem sido os cursos d' água causando poluição ambiental. O uso do EET em diferentes atividades humanas tem sido uma alternativa sustentável frente ao quadro de escassez, pois contribui para a preservação da água doce podendo substituir total ou parcialmente a água de boa qualidade nos processos industriais, no abastecimento público, uso doméstico e em algumas atividades agrícolas, como por exemplo, a irrigação.

Vários países, localizados tanto em regiões áridas como úmidas têm mostrado a viabilidade da utilização, de forma sustentável, dos EETs na irrigação. O Estado de São Paulo gera considerando somente as estações de tratamento operadas pela Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (Sabesp), um volume de 3.097 L s^{-1} de EET nas estações de tratamento que usam a técnica de lagoas de estabilização. Dada a importância do crescimento do agronegócio no país e a busca pelo desenvolvimento sustentável, há enorme potencial para o uso de EET na irrigação. Entretanto, no Brasil, o uso de efluentes na agricultura ainda é incipiente e as mudanças que podem ocorrer, sejam estas positivas e/ou negativas, são pouco conhecidas (FONSECA, 2001).

Apesar dos benefícios concretos com o aproveitamento do efluente na agricultura, a presença de alguns constituintes, como metais pesados e o sódio (Na), são indesejáveis. A preocupação com os metais pesados deve-se principalmente na utilização de efluentes industriais ou com o uso de efluentes domésticos por longo período de tempo. O teor de sódio em solos agrícolas pode aumentar com a adição de efluente alterando certas características físicas do solo, devido à dispersão de argilas e características químicas, influenciando direta ou indiretamente o desenvolvimento das plantas (FEIGIN et al., 1991).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da irrigação com águas residuárias na matéria orgânica do solo (MOS) através de métodos químicos e espectroscópicos.

2. Materiais e Métodos

Amostras

O estudo foi realizado em uma área experimental da região central do Estado de São Paulo em solo cultivado com capim-Bermuda Tifton 85 e irrigada com efluente de esgoto tratado (EET) gerado na estação de tratamento de esgoto (ETE) de Lins com diferentes dosagens de fertilização nitrogenada mineral (FNM). O solo foi classificado como um Argissolo Vermelho Distrófico Latossólico, de textura, média argilosa (SISTEMA..., 1999).

Antes da instalação do experimento, a área não era cultivada e encontrava-se em pousio. O plantio do capim foi realizado em janeiro de 2002, quatro meses após a aplicação de $2,0 \text{ t ha}^{-1}$ de calcário dolomítico não sendo realizada qualquer fertilização, bem como correção da acidez do solo até a instalação do experimento, que teve início no mês de janeiro de 2003 (FONSECA, 2005).

Todas as parcelas receberam anualmente as mesmas quantidades de fertilizante mineral potássico (na forma de cloreto de potássio) e fosfatado (na forma de superfosfato simples). Somente as doses na forma de nitrato de amônio variaram de 0 a $520 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, conforme o tratamento. Todos os fertilizantes minerais foram distribuídos manualmente, imediatamente após os cortes do capim, conforme (PREMAZI et al., 2003).

Os tratos culturais foram realizados de modo a permitir o adequado desenvolvimento e crescimento das plantas.

Os estudos foram realizados em experimento já em andamento. O delineamento experimental empregado foi o de blocos completos casualizados com seis tratamentos e três repetições: (1) SI - sem irrigação e sem fertilização nitrogenada mineral (FNM) - (branco); (2) E100 - irrigação com efluente e 100% ($520 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) da dose recomendada de FNM para o capim Tifton - 85; (3) E66 - irrigação com efluente e 66% ($343,2 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) da FNM; (4) E33 - irrigação com efluente e 33% ($171,6 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) da FNM; (5) EO - irrigação com efluente e 0% ($0 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) da FNM; (6) W100 - irrigação com água de consumo e 100% ($520 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) da FNM.

O solo foi coletado por meio de trado holandês desde a superfície até, em geral, 100 cm de profundidade. Foram coletadas em pontos aleatórios nas parcelas experimentais amostras compostas de solo das camadas superficiais (0-10 e 10-20 cm) e subsuperficiais (20-40, 40-60, 60-80 e 80-100 cm). Foram coletadas doze e seis subamostras para formar uma amostra composta para cada uma das camadas superficiais e subsuperficiais, respectivamente.

Depois de coletadas, as amostras compostas de solos foram levadas para o laboratório onde foi realizada uma limpeza manual cuidadosa para retirar as raízes e restos de outros elementos contaminantes. A seguir as amostras foram secas à temperatura ambiente, moídas com auxílio de almofariz e pistilo e passadas em peneira de malha de $212 \mu\text{m}$ para a obtenção da fração de terra fina seca ao ar (TFSA).

Extração das Substâncias Húmicas

Todas as amostras de solos foram submetidas a um processo de extração e fracionamento químico das SH por diferença de solubilidade, seguindo a metodologia recomendada pela IHSS, (SWIFT, 1996), que utiliza solução de NaOH diluída para dissolver AH e ácido clorídrico (HCl) diluído para sua precipitação.

Caracterização da Matéria Orgânica do Solo

MÉTODOS QUÍMICOS

Determinação do carbono orgânico total

A determinação da porcentagem de carbono orgânico total foi realizada em triplicata para as amostras de solo inteiro. As medidas foram realizadas no equipamento Total Organic Carbon Analyzer, modelo TOC-V, marca Shimadzu, acoplado ao Solid Sample Module, SSM-500A, da marca Shimadzu, pertencente ao laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química de São Carlos (USP) – SP.

Análise elementar (CHNS)

As análises químicas da composição elementar (C, H, N, S) para as amostras de AH foram realizadas em duplicata usando o equipamento CE – Instruments EA 1110, pertencente ao CAQUI (Centro de Análises Químicas), pertencente ao Instituto de Química de São Carlos (USP) – SP. O teor de Oxigênio foi obtido por diferença [%O = 100% - (C + H + N + S) - % teor de cinzas] (1).

Esse tipo de análise tem sido muito empregado na identificação de alterações na composição dos AH extraídos dos solos.

Os parâmetros H/C, O/C e C/N foram determinados pelas razões atômicas, ou seja, dividindo-se previamente as porcentagens em massa dos elementos por suas respectivas massas atômicas.

MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS

Espectroscopia de Fluorescência de Luz Uv-Visível

Os AH foram dissolvidos em uma solução de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ com concentração de 20 mg L^{-1} e o pH = 8 (MILORI et al., 2002). Essa concentração foi utilizada para minimizar o efeito de reabsorção de fluorescência e reduzir interação entre moléculas. Após o preparo das soluções, os espectros de emissão de fluorescência, excitação e varredura sincronizada foram medidos utilizando-se o espectrômetro de luminescência Perkin Elmer modelo LS-50B. A abertura das fendas de entrada e de saída foi 10 nm e a velocidade de varredura foi de 500 nm/min.

Os espectros de fluorescência foram obtidos nos modos de emissão e varredura sincronizada, segundo as metodologias proposta por Zsolnay et al. (1999), Milori et al. (2002) e Kalbitz et al. (1999).

Na metodologia proposta por Zsolnay et al. (1999), mediu-se o espectro de emissão com excitação em 240 nm, intervalo de varredura entre 300 e 700 nm

e filtro de 290 nm. A área sobre o maior quarto de emissão entre 570 e 641 nm (A4), dividida pela área sobre o menor quarto entre 356 e 432 nm (A1), denominado A4/A1, foi utilizada como índice de humificação.

Na metodologia proposta por Milori et al. (2002), mediu-se o espectro de emissão com excitação em 465 nm, intervalo de varredura entre 480 e 700 nm e filtro de 290 nm. A determinação do índice de humificação foi baseada na absorção em 465 nm (A465).

Na metodologia proposta por Kalbitz et al. (1999), foram obtidos espectros de varredura sincronizada entre 220 e 650 nm simultaneamente com excitação e emissão com filtro de 290 nm, tomando como diferença constante de comprimento de onda 55 nm ($\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{ex}$). O índice de humificação (I468/I374) foi determinado a partir da razão entre as intensidades de fluorescência em 400 e 360 nm ou 470 e 360 nm.

Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Foram obtidos espectros de Ressonância Magnética Nuclear do ^{13}C (^{13}C RMN) no estado sólido com polarização cruzada e amplitude variável ou “Variable Amplitude Cross-Polarization” (VACP) e rotação segundo ângulo mágico ou “Magic Angle Spinning (MAS), em um espectrômetro VARIAN modelo Unity Inova 400, campo de 9,4 T, operando a 100,58 MHz para o ^{13}C e 400 MHz para o ^1H , pertencente à Embrapa Instrumentação. Utilizou-se pobre para amostras sólidas da marca Doty (5mm). A velocidade de rotação no ângulo mágico foi de 6,5 kHz. As condições de análise foram: a banda espectral utilizada para a CP foi de 50 kHz, tempo de contato de 1 ms, tempo de espera de 500 ms e tempo de aquisição de 12,8 ms. A varredura foi de 0-230 ppm. As amostras de AH purificado foram medidas em rotores de zircônia com diâmetro de 5 mm carregados com aproximadamente 100 mg da amostra. A rampa no canal de ^1H foi de 110 a 60% (em KHz) da condição de Hartman-Hahn (NOVOTNY, 2002). Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm. Foi utilizado hexametilbenzeno (HMB) como referência de posição espectral (17,2 ppm). A aquisição de cada espectro de AH em VACP/MAS ocorreu em um período de 2 horas.

Os espectros foram divididos em 7 regiões: 0 – 45 ppm (alifáticos não substituídos), 45 – 60 ppm (grupos metoxil e N-alifáticos), 60 – 110 ppm (O-alifáticos), 110 – 140 ppm (aromáticos), 140 – 160 ppm (fenólicos), 160 – 185 ppm (carboxílicos) e 185 – 230 ppm (carbonílicos), integrando-se as áreas e calculando-se a intensidade de cada região em relação à área total do espectro.

As porcentagens de aromaticidade e alifaticidade foram calculadas a partir das áreas dos espectros, segundo Stevenson (1994):

$$\text{Aromaticidade (\%)} = \frac{\text{área dos sinais de C aromáticos 110-160 ppm}}{\text{área dos sinais de C 0-160 ppm}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Alifaticidade (\%)} = \frac{\text{área dos sinais de C alifáticos 0-110 ppm}}{\text{área dos sinais de C 0-160 ppm}} \times 100\% \quad (3)$$

Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser

Para a realização das medidas de FIL, as amostras de solos foram secas ao ar, moídas e peneiradas em malha de 212 μm . Antes de serem submetidas à análise, as amostras foram colocadas em um porta amostra com janela de quartzo.

A montagem experimental do sistema de FIL é a mesma utilizada por Milori et al. (2006). A excitação da fluorescência é realizada através de um laser de argônio (Coherent – modelo Innova 90C), sintonizado na linha de 458 nm com uma potência de saída de 300 mW.

Foram realizadas duas medidas por amostra, sendo obtido um total de dois espectros de FIL para cada amostra de solo.

Após a obtenção desses dados, foi calculado o grau de humificação das amostras de solo inteiro, denominada H_{FIL} . A proposta de cálculo deste índice de humificação é a razão entre o valor da área (ACF) sob o espectro de emissão de fluorescência (com excitação em 458 nm) e o valor da concentração de carbono orgânico total (COT) presente na amostra de solo inteiro Milori et al. (2006).

$$H_{\text{FIL}} = \frac{\text{ACF}}{\text{COT}} \quad (4)$$

A razão entre ACF e COT visa normalizar a relação entre a intensidade de emissão e a concentração de fluoróforos presentes na MO da amostra. A adoção da área sobre a curva de fluorescência (ACF) como parâmetro para estimativa da humificação se baseia na metodologia para análise de fluorescência de AH em solução proposta por Milori et al. (2002), ou seja, o índice de humificação A465.

3. Resultados e Discussão

Os valores obtidos de carbono total (COT) são mostrados na Figura 1. O resultado final foi obtido a partir da média aritmética de experimentos realizados em triplicata.

Como pode ser observado na Figura 1, houve uma redução na quantidade de COT com a profundidade do solo. No experimento com EET, não houve variações significativas nos teores de carbono dos solos irrigados em relação ao solo sem irrigação, observando apenas um ligeiro decréscimo nos teores de carbono das camadas superficiais do solo.

Os efluentes podem alterar a taxa de decomposição da MO do solo, ocasionando diminuição nos teores de carbono, devido, o fato da taxa de mineralização ser altamente dependente do potencial de água no solo.

Assim, a irrigação com efluente, tem o potencial de modificar os processos de ciclagem do N e também do C, pelo fato de aumentar a água no solo para teores que estimulam a atividade de decomposição da matéria orgânica (POLGLASE et al., 1995; FALKINER e SMITH, 1997).

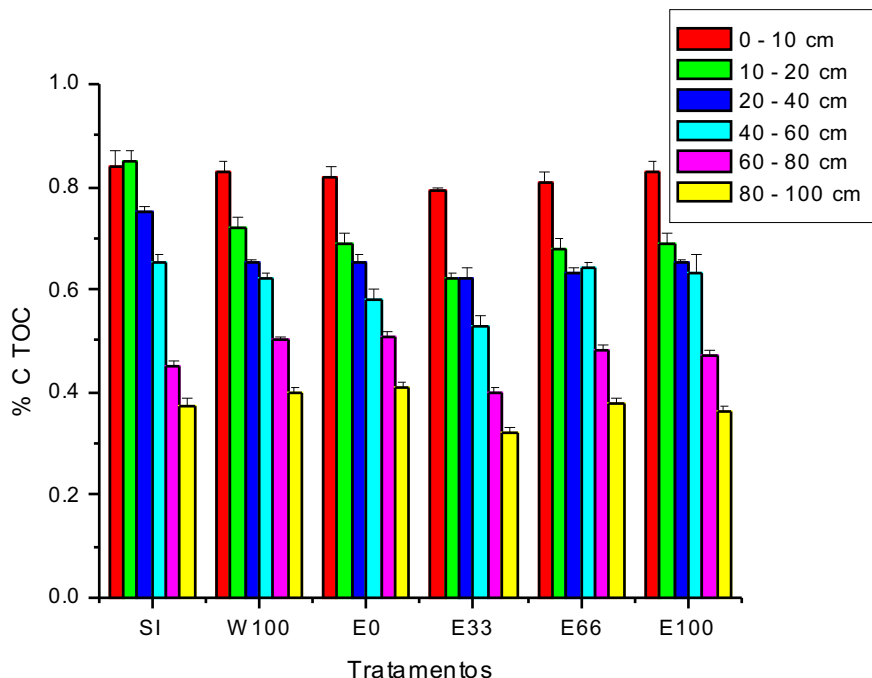


Figura 1: Dados dos teores de carbono para as amostras de solo inteiro determinadas pelo método de COT. SI: sem irrigação e sem fertilização nitrogenada mineral (FNM); W100: irrigação com água de consumo e 100% da FNM; E0: irrigação com efluente e 0% da FNM; E33: irrigação com efluente e 33% da FNM; E66: irrigação com efluente e 66% da FNM; E100: irrigação com efluente e 100% da FNM.

Os valores obtidos de porcentagem em massa de carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N), enxofre (S) e oxigênio (O), e as razões atômicas C/N, O/C e H/C das amostras de AH, estão mostrados na Tabela 1.

Os parâmetros H/C, O/C e C/N foram determinados pelas razões atômicas, ou seja, dividindo-se previamente as porcentagens em massa dos elementos por suas respectivas massas atômicas.

A análise elementar é um método relevante para analisar amostras homogêneas como os AHs, fornecendo resultados satisfatórios com baixo desvio padrão. Para amostras de solos que são materiais bastante heterogêneos esse método se mostra insatisfatório, devido ao fato de se trabalhar com pequenas quantidades de amostra, influenciando na sua representatividade.

As análises elementares proporcionam informações sobre a distribuição dos principais elementos (C, H, N, S e O) nas SH. O conteúdo destes varia dependendo das condições que afetam a formação das SH dos solos: condições climáticas, tipo de solo, origem e composição de organismos do solo e resíduos vegetais (Stevenson, 1994; SCHNITZER e KHAN, 1978).

Tabela 1: Valores das razões atômicas C/N, O/C e H/C das amostras de ácidos húmicos obtidos através da determinação da composição elementar.

Tratamentos ⁽¹⁾	Profundidade (cm)	C/N	O/C	H/C
SI	0 - 10	10,9 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,3 ± 0,1
	10 - 20	10,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,3 ± 0,1
	20 - 40	9,6 ± 0,2	0,6 ± 0,1	1,3 ± 0,1
	40 - 60	11,3 ± 0,2	0,6 ± 0,1	1,3 ± 0,1
	60 - 80	9,8 ± 0,6	-	1,3 ± 0,1
	80 - 100	9,6 ± 0,9	-	1,2 ± 0,1
W100	0 - 10	11,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1
	10 - 20	11,0 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,2 ± 0,1
	20 - 40	10,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1
	40 - 60	9,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1	1,4 ± 0,1
	60 - 80	9,5 ± 0,1	-	1,5 ± 0,1
	80 - 100	9,8 ± 0,1	-	1,4 ± 0,1
E0	0 - 10	11,2 ± 0,1	0,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1
	10 - 20	11,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1
	20 - 40	11,0 ± 0,4	0,6 ± 0,1	1,5 ± 0,1
	40 - 60	11,1 ± 0,6	0,6 ± 0,1	1,5 ± 0,1
	60 - 80	11,2 ± 0,1	-	1,4 ± 0,2
	80 - 100	11,1 ± 0,2	-	1,3 ± 0,2
E33	0 - 10	10,7 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,3 ± 0,1
	10 - 20	10,8 ± 0,2	0,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1
	20 - 40	9,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,2 ± 0,1
	40 - 60	9,5 ± 0,2	0,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1
	60 - 80	11,0 ± 0,6	-	1,2 ± 0,1
	80 - 100	11,4 ± 0,4	-	1,3 ± 0,1
E66	0 - 10	11,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1
	10 - 20	10,9 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1
	20 - 40	10,0 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,5 ± 0,1
	40 - 60	9,7 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1
	60 - 80	10,7 ± 0,4	-	1,4 ± 0,1
	80 - 100	11,6 ± 0,1	-	1,4 ± 0,1
E100	0 - 10	11,7 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1
	10 - 20	11,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	1,4 ± 0,1
	20 - 40	10,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1
	40 - 60	10,5 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,5 ± 0,1
	60 - 80	10,7 ± 0,1	-	1,5 ± 0,1
	80 - 100	11,0 ± 0,1	-	1,7 ± 0,1

O conteúdo dos principais elementos constituintes encontrados nas amostras de AH sob os diferentes tratamentos variaram entre 42,7 - 49,5% para o C, 4,7 - 6,8% para o H, 4,5 - 5,8% para o N, 0 - 2,5% para o S e 33,9 - 38,5% para o O, de acordo com a Tabela 1. Estes resultados estão de acordo com os resultados mostrados na literatura para AHs extraídos de solos (SCHNITZER e KHAN, 1978; XIAOLI et al., 2008).

Os experimentos de fluorescência foram realizados a fim de se avaliar o grau de humificação das SH, baseados nas metodologias sugeridas na literatura propostas por Zsolnay et al. (1999), Kalbitz et al. (1999) e Milori et al. (2002). A correlação entre os métodos foi superior a 95% e portanto serão apresentados os resultados da metodologia de Milori et al. (2002) (Figura 2).

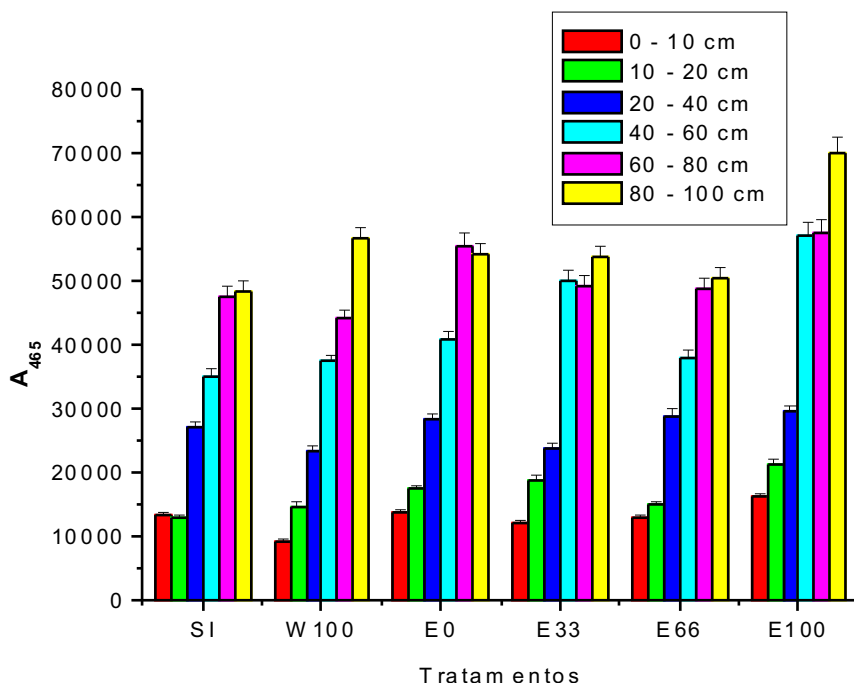


Figura 2: Valores do índice de humificação A_{465} obtidos para os AH extraídos dos solos submetidos e não submetidos à aplicação de águas residuárias e submetidos à aplicação de água de consumo pela metodologia de Milori et al. (2002).

Foi observado na Figura 2 e a partir dos resultados obtidos para o índice de humificação A_{465} um aumento no grau de humificação em profundidade para todos os tratamentos. Também foi verificado que quanto maior for a área total sobre o espectro, maior foi o índice de humificação A_{465} .

Os espectros de ^{13}C RMN VACP/MAS das amostras de AH obtidos para os diferentes tratamentos são apresentados na Figura 3.

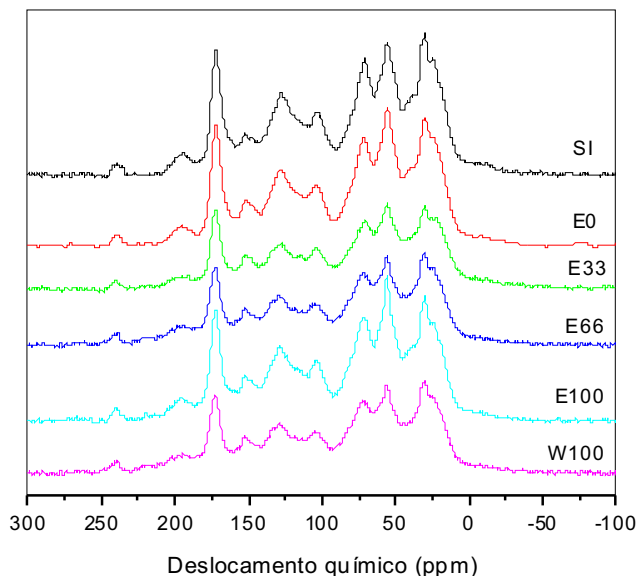


Figura 3: Espectros de ^{13}C RMN das amostras de AH extraídos dos solos submetidos e não submetidos à aplicação de águas residuárias e submetidos à aplicação de água de consumo, na camada de 0-10 cm. SI: sem irrigação e sem fertilização nitrogenada mineral (FNM); W100: irrigação com água de consumo e 100% da FNM; E0: irrigação com efluente e 0% da FNM; E33: irrigação com efluente e 33% da FNM; E66: irrigação com efluente e 66% da FNM; E100: irrigação com efluente e 100% da FNM.

De um modo geral, os espectros de ^{13}C RMN VACP/MAS de todas as amostras de AH analisadas foram semelhantes. Os AH são substâncias com alta massa molecular, de estrutura complexa que apresentam bandas largas nos espectros de RMN como mostrado na Figura 3.

Nos espectros mostrados observam-se principalmente os máximos das seguintes bandas (PRESTON, 1996; STEVENSON, 1994; SCHNITZER e PRESTON, 1986; CELI et al., 1997).

Na primeira região dos espectros (0 - 45 ppm), as amostras de AH apresentam dois picos em 25 e 30 ppm, característicos de grupos metileno e metil.

A segunda região dos espectros (45 - 60 ppm) é caracterizada por um pico bem definido a 55 ppm, típicos de ésteres e éteres alifáticos (metoxílicos) e N-alifáticos.

A terceira região dos espectros (60 – 110 ppm) apresenta um pico em 71 ppm, característico de C alifáticos ligados a grupos éter e de anéis de polissacarídeos, e um pico em 104 ppm, atribuído a C ligado a dois átomos de oxigênio e a C anomérico em polissacarídeos.

Na quarta região dos espectros característica de C aromáticos (110 – 140 ppm), as amostras apresentam um pico em 128 ppm, atribuído a C aromáticos não substituídos ou alquil substituídos.

Na quinta região dos espectros (140 – 160 ppm), as amostras apresentam um pico duplo em 148 e 152 ppm, referente a C fenólicos ou O-aromáticos, podendo ter também contribuições de C aromáticos contendo nitrogênio ou grupos éter.

Na sexta região dos espectros (160 – 185 ppm), é possível observar um pico centrado em 172 ppm, atribuído a C de grupos carboxílicos.

Na sétima região dos espectros (185 – 230 ppm), aparece um pico de baixa intensidade em 196 ppm, associado ao C carbonílico de aldeídos e cetonas.

Na Tabela 2 são apresentados os percentuais dos grupos funcionais associados às bandas correspondentes: grupos alifáticos (0 – 45 ppm), N-alifáticos e metoxílicos (45 – 60 ppm), O-alifáticos (60 – 110 ppm), aromáticos (110 – 140 ppm), O-aromáticos (140 – 160 ppm), carboxílicos (160 – 185 ppm) e carbonílicos (185 – 230 ppm).

Tabela 2: Intensidades relativas (porcentagem da área total) das bandas nos espectros de ^{13}C RMN com VACP/MAS de amostras sólidas de AH.

Tratamentos	0-45	45-60	60-110	110-140	140-160	160-185	185-230
SI A1	26,0	12,5	25,0	14,4	4,8	11,5	5,8
SI A2	24,7	10,8	24,7	14,0	5,4	12,9	7,5
W100 A1	25,8	11,6	26,5	13,2	6,2	11,1	5,6
W100 A2	27,3	10,6	23,7	12,1	5,5	12,1	8,7
E0 A1	26,8	13,2	26,2	14,9	6,0	10,9	2,0
E0 A2	23,7	12,0	26,0	14,9	5,8	12,7	4,9
E33 A1	26,9	13,0	26,3	13,3	6,1	11,3	3,1
E33 A2	28,9	11,4	24,8	12,6	5,6	12,2	4,5
E66 A1	25,5	11,5	26,6	12,9	6,3	11,2	6,0
E66 A2	25,5	13,0	25,2	14,0	5,9	12,3	4,1
E100 A1	24,7	13,1	26,5	14,4	6,2	11,0	4,1
E100 A2	24,9	11,9	24,9	14,1	5,3	12,6	6,3

Os dados de ^{13}C RMN VACP/MAS confirmam a grande heterogeneidade química dos AHs, conforme tem sido reportado na literatura (TOLEDO e CARVALHO, 1985; BARTON e SCHNITZER, 1963; KNICKER et al., 1996). A presença destes diferentes grupos, assim como as suas intensidades são importantes

quando se deseja saber quais frações da MO são mais lábeis, e quais são mais resistentes ou podem acumular-se durante o processo de humificação em diferentes solos ou sob aplicação de diferentes culturas.

Os resultados do grau de humificação obtido através da técnica de FIL das amostras de solo nas diferentes profundidades dos tratamentos analisados estão representados na Figura 4.

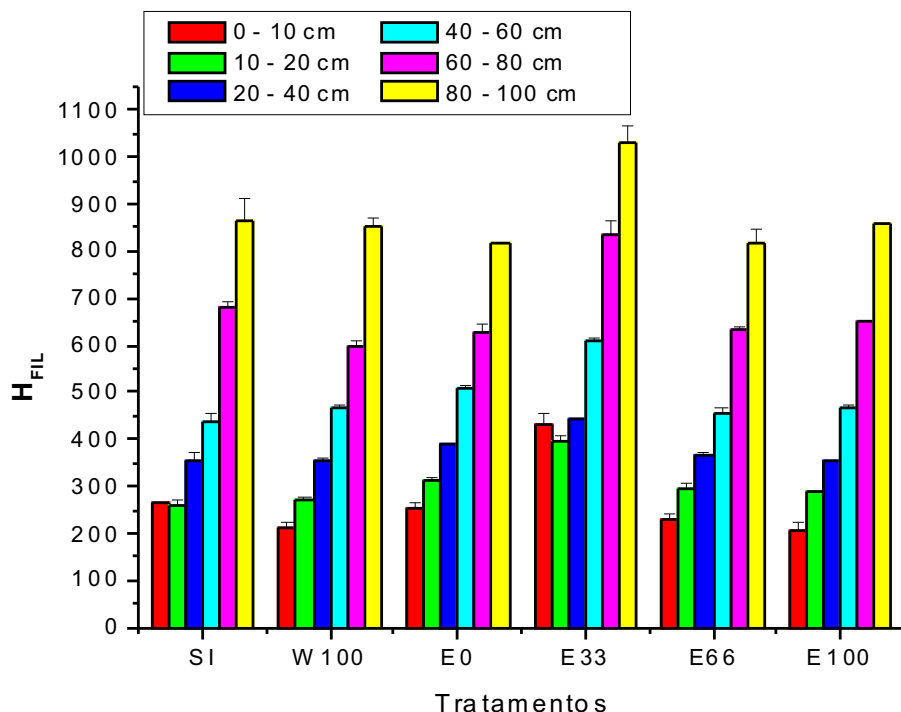


Figura 4: Valores de H_{FIL} obtidos para todas as amostras de solo inteiro de Argissolo Vermelho no perfil da amostragem.

SI: sem irrigação e sem fertilização nitrogenada mineral (FNM); W100: irrigação com água de consumo e 100% da FNM; E0: irrigação com efluente e 0% da FNM; E33: irrigação com efluente e 33% da FNM; E66: irrigação com efluente e 66% da FNM; E100: irrigação com efluente e 100% da FNM.

As amostras apresentaram um incremento no grau de humificação da matéria orgânica com a profundidade do solo. Este comportamento pode ser atribuído a dois fatores principais: ao aporte de matéria orgânica fresca na superfície do solo causando um efeito de diluição do material orgânico mais recalcitrante e à percolação natural das substâncias húmicas solúveis, causando um acúmulo em profundidade de material humificado.

De uma maneira geral, a irrigação com águas residuárias durante um período de aplicação de aproximadamente quatro anos não afetou de maneira significativa a MOS, exceto para o tratamento E33 onde foi observado um significativo aumento do grau de humificação da matéria orgânica. Embora pareça antagônico aos resultados obtidos para a fluorescência dos AH, é importante ressaltar que no solo inteiro observa-se a contribuição de frações como a humina e o AF.

No caso das amostras estudadas, durante o fracionamento observou-se que o solo possuía muito pouco de AF, mas quantidades muito grandes de humina (acima de 80% da quantidade total das SH). Por estes resultados, parece que enquanto a fração solúvel (AH) sofre alterações significativas em termos de quantidade e estrutura química, a fração insolúvel praticamente não é alterada. Apenas para o tratamento E33 mudanças mais significativas ocorrem com uma diminuição maior dos teores de carbono bem como aumento da intensidade de emissão de fluorescência.

O tratamento E33 foi considerado, no experimento global conduzido pelo projeto temático FAPESP 04/14315-4, como um tratamento singular. Outras técnicas também observaram um comportamento atípico do mesmo.

4. Conclusões

A partir dos resultados obtidos pela análise elementar não foi possível obter informações a respeito das alterações sofridas pelo solo em função dos diferentes tratamentos, pois a técnica não é sensível o suficiente para detectar as mudanças. Os valores obtidos para a razão C/N para todos os tratamentos também se encontram dentro dos intervalos referidos na literatura. A razão H/C indicou maior percentual de grupos alifáticos para os AH, sendo também comprovado através dos espectros de ^{13}C RMN VACP/MAS. A razão O/C foi similar em todos os casos, e não mostrou nenhum efeito dos diferentes tratamentos.

Os espectros de ^{13}C RMN VACP/MAS foram semelhantes para todas as amostras de AH analisadas. Basicamente, elas possuem maior percentual de grupos alifáticos do que aromáticos, e a aplicação das águas residuárias não alteraram de forma significativa a distribuição dos grupos funcionais no espectro.

A espectroscopia de fluorescência, entretanto, demonstrou ser uma ferramenta sensível para a avaliação das alterações ocorridas nas amostras de AH extraídos dos solos sob os diferentes tipos de tratamentos.

De maneira geral, a espectroscopia de fluorescência mostrou que a irrigação com águas residuárias não afetou significativamente a estrutura do AH das

camadas superficiais, mas causou um ligeiro aumento do grau de humificação em profundidade, especialmente para o tratamento E33. Esta tendência foi observada através dos três índices de humificação calculados, os quais mostraram uma correlação significativa acima de 95%. Parece que a irrigação com águas residuárias favorece a formação de SH solúveis que tendem a se acumular em profundidade.

Os resultados da espectroscopia de FIL aplicada aos solos inteiros mostraram um incremento no grau de humificação da matéria orgânica com a profundidade do solo, similar ao observado na fluorescência dos AH em solução. De maneira geral, a irrigação com águas residuárias, durante um período de aplicação de aproximadamente quatro anos, não afetou de maneira significativa a MOS, exceto apenas para o tratamento E33, onde mudanças significativas ocorreram com uma diminuição nos teores de carbono e aumento significativo do grau de humificação da MO.

Embora este resultado pareça antagônico ao obtido através da fluorescência dos AH em solução, deve-se ressaltar que no caso da fluorescência dos solos a fração insolúvel das substâncias húmicas (Humina) deve contribuir para o sinal de forma significativa, visto que compõe mais de 80% do material húmico da MOS. Portanto, o que este resultado aparentemente está mostrando é que o ácido húmico sofreu alterações estruturais com a aplicação das águas residuárias, enquanto que a humina praticamente permaneceu a mesma. Como a humina é a parte mais recalcitrante das substâncias húmicas, este resultado parece bem plausível.

A atividade microbiana, aumentada pela irrigação, segue na decomposição de materiais mais lábeis. Talvez, em um intervalo de tempo maior de irrigação, mudanças estruturais da humina também comecem a ser detectadas. O tratamento E33 mostrou alterações na humina, entretanto no experimento ele foi considerado um tratamento singular. Dados coletados por outros membros do projeto que gerencia este experimento, mostraram que este tratamento apresentou maior atividade microbiana e maior umidade, por motivos ainda não identificados. Entretanto, estes resultados corroboram com o resultado obtido por FIL onde o E33 apresenta os maiores índices de humificação da MOS.

Os AH em solução tinham mostrado um aumento do sinal em profundidade, mas o FIL mostrou um aumento na superfície do E33, enfatizando que as mudanças estruturais em substâncias húmicas com mobilidade muito menor do que a do AH ocorreram efetivamente.

As correlações entre o índice de humificação obtido por FIL (H_{FIL}) com os índices de humificação obtido pelas três metodologias empregadas foram significativas.

Os resultados obtidos pelas diferentes técnicas espectroscópicas e químicas mostraram a irrigação com águas residuárias não afetando de maneira significativa a MOS. Sutil elevação do grau de humificação foi observada, principalmente para o AH.

Sendo assim, desde que sejam estabelecidos critérios para o uso de águas residuárias, ela é uma alternativa viável e sustentável para um problema ambiental atual e uma solução sanitariamente segura, pois seu reuso pode substituir eficientemente a água potável na irrigação de pastagens e outros tipos de culturas, não impactando significativamente a matéria orgânica proporcionando benefícios econômicos, ambientais e sociais.

5. Referências

BARTON, D. H. R.; SCHNITZER, M. A new experimental approach to the humic acid problem. **Nature**, London, v. 198, p. 217-218, 1963.

BROWN, L. R.; RENNER, M.; HALWEIL, B. **Sinais vitais 2000**: as tendências ambientais que determinarão nosso futuro. Salvador: UMA, 2000. 196 p.

CELI, L.; SCHNITZER, M.; NEGRÉ, M. Analysis of carboxyl groups in soil humics acids by wet chemical method, Fourier transform infrared spectrophotometry, and solution-state carbon-13 nuclear magnetic resonance: a comparative study. **Soil Science**, Baltimore, v. 162, p. 189, 1997.

CHRISTOFIDIS, D. **Olhares sobre a política de recursos hídricos no Brasil**: o caso da bacia do rio São Francisco. Brasília: Universidade de Brasília, 2001. 424 p.

SISTEMA brasileiro de classificação de solos. Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. 412 p.

FALKINER, R. A.; SMITH, C. J. Changes in soil chemistry in effluent-irrigated *Pinus radiata* and *Eucalyptus grandis*. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 35, p. 131-147, 1997.

FEIGIN, A.; BIELORAI, H.; DAG, Y.; KIPNIS, T.; GISKIN, M. The nitrogen factor in the management of effluent-irrigated soils. **Soil Science**, Baltimore, v. 125, p. 248-254, 1978.

FEIGIN, A.; RAVINA, I.; SHALHEVET, J. **Irrigation with treated sewage effluent**: management for environmental protection. Berlin: Springer-Verlag, 1991. 224 p.

FONSECA, A. F. **Disponibilidade de nitrogênio, alterações nas características químicas do solo e do milho pela aplicação de efluente de esgoto tratado**. 2001. 110 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

FONSECA, A. F. **Viabilidade agrônomo-ambiental da disposição de efluente de esgoto tratado em um sistema solo-pastagem**. 2005. 174 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

KALBITZ, K.; GEYER, W.; GEYER, S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances – a reflection of land use history in a fen area. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 47, p. 219-238, 1999.

KNICKER, H.; ALMENDROS, G.; GONZALES-VILA, F. J.; MARTIN, F.; LUDEMANN, H. D. ¹³C and ¹⁵N-NMR spectroscopic examination of the transformation of organic nitrogen in plant biomass during thermal treatment. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 28, p. 1053, 1996.

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

MILORI, D. M. B. P.; GALETI, H. V. A.; MARTIN-NETO, L.; DIECKOW, J.; GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; BAYER, C.; SALTON, J. Organic matter study of whole soil samples using laser-induced fluorescence spectroscopy. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 70, p. 57-63, 2006.

NOVOTNY, E. H. **Estudos espectroscópicos e cromatográficos de substâncias húmicas de solos sob diferentes sistemas de preparo**. 2002. 231 f. Tese (Doutorado em Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

POLGLASE, P. J.; TOMPKINS, D.; STEWART, L.G.; FALKINER, R. A. Mineralization and leaching of nitrogen in an effluent-irrigated pine plantation. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 24, p. 911-920, 1995.

PREMAZI, L. M.; MONTEIRO, F. A.; CORRENTE, J. E. Tillering of Tifton 85 Bermudagrass in response to nitrogen rates and time of application after cutting. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 60, p. 565-571, 2003.

PRESTON, C. M. Applications of NMR to soil organic matter analysis: history and prospects. **Soil Science**, Baltimore, v. 161, p. 144-166, 1996.

SCHNITZER, M.; KHAN, S. U. **Soil organic matter**. Amsterdam: Elsevier, 1978. 319 p.

SCHNITZER, M.; PRESTON, C. M. Analysis of humic acids by solution and solid-state carbon-13 nuclear magnetic resonance. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 50, p. 326-331, 1986.

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

SWIFT, R. S. Organic matter characterization. In: SPARKS, D. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy, 1996. pt 3, p. 1011-1069. (Book Series Agronomy, 9).

TOLEDO, A. P. P.; CARVALHO, J. L. Comparação sobre a capacidade de extração de substâncias húmicas por vários solventes. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 37, p. 1174, 1985.

XIAOLI, C.; SHIMAOKA, T.; QIANG, G.; YOUCAI, Z. Characterization of humic and fulvic acids extracted from landfill by elemental composition, ¹³C CP/MAS NMR and TMAH-Py-GC/MS. **Waste Management**, Oxford, v. 28, p. 896-903, 2008.

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

Agradecimentos

À CAPES pela bolsa de mestrado concedida ao primeiro autor, ao CNPq, Fapesp e a Embrapa pelo suporte financeiro.



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Embrapa Instrumentação

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Rua XV de Novembro, 1452 - Caixa Postal 741 - CEP 13560-970 - São Carlos - SP

Telefone: (16) 2107 2800 - Fax: (16) 2107 2902

www.cnpdia.embrapa.br - sac@cnpdia.embrapa.br

**Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

