

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Solos
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Manual de Métodos de Análise de Solo

3ª edição revista e ampliada

*Paulo César Teixeira
Guilherme Kangussu Donagemma
Ademir Fontana
Wenceslau Geraldes Teixeira*
Editores Técnicos

Embrapa
Brasília, DF
2017

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Solos

Endereço: Rua Jardim Botânico, 1024. Jardim Botânico

CEP: 22460-000 - Rio de Janeiro, RJ

Fone: + 55 (21) 2179-4500

Fax: + 55 (21) 2179-5291

<https://www.embrapa.br>

<https://www.embrapa.br/fale-conosco/sac/>

Unidade responsável pelo conteúdo e edição

Embrapa Solos

Comitê de Publicações da Embrapa Solos

Presidente: *José Carlos Polidoro*

Secretária-Executiva: *Jacqueline Silva Rezende Mattos*

Membros: *Ademar Barros da Silva, Adriana Vieira de C. de Moraes,*

Alba Leonor da Silva Martins, Enyomara Lourenço Silva, Evaldo de

Paiva Lima, Joyce Maria Guimarães Monteiro, Luciana Sampaio de

Araujo, Maria Regina Laforet, Maurício Rizzato Coelho, Moema de

Almeida Batista, Wenceslau Gerales Teixeira

Supervisão editorial: *Jacqueline Silva Rezende Mattos*

Normalização bibliográfica: *Luciana Sampaio de Araujo*

Editoração eletrônica: *Jacqueline Silva Rezende Mattos*

Capa: *Eduardo Guedes de Godoy*

Revisão de texto: *André Luiz da Silva Lopes e*

Marcos Antônio Nakayama

3ª edição

Publicação digitalizada (2017)

Todos os direitos reservados.

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Solos

Manual de métodos de análise de solo / Paulo César Teixeira ... [et al.], editores técnicos. – 3. ed. rev. e ampl. – Brasília, DF : Embrapa, 2017.

574 p. : il. color.

ISBN 978-85-7035-771-7

1. Análise do solo. 2. Física do solo. 3. Química do solo. 4. Matéria orgânica. 5. Mineralogia. I. Teixeira, Paulo César. II. Donagemma, Guilherme Kangussu. III. Fontana, Ademir. IV. Teixeira, Wenceslau Gerales. V. Embrapa Solos.

CDD 631.40202

— Capítulo 7 —

FRACIONAMENTO FÍSICO DA MATÉRIA ORGÂNICA

David Vilas Boas de Campos

Pedro Luiz Oliveira de Almeida Machado

7.1 Introdução

A matéria orgânica do solo é composta por resíduos vegetais e animais que contêm carbono orgânico, em vários estágios de transformação e grande diversidade estrutural, podendo estar associados à fração mineral do solo (Roscoe; Machado, 2002; Silva; Resck, 1997).

O fracionamento físico é utilizado para identificar a distribuição do carbono orgânico em diversos compartimentos com dinâmicas e funções definidas, e assim avaliar a sua qualidade, sendo mais útil para estudar a ciclagem do carbono no solo.

Esse método de fracionamento físico apresenta resultados satisfatórios para o monitoramento de solos submetidos a diferentes usos e manejos, principalmente com a análise das camadas superficiais do solo, pela maior intensidade da deposição de resíduos orgânicos bem como da variação quanto à transformação desses resíduos.

No fracionamento físico, primeiramente ocorre a separação dos materiais orgânicos do solo de baixa densidade (fração

leve) da matéria orgânica associada às partículas areia, silte e argila (fração pesada).

7.2 Princípio

O método utilizado tem como base a separação por densidade (fração leve e fração pesada) e por granulometria (tamanho das partículas na fração pesada), obtendo-se, ao final, cinco frações da matéria orgânica do solo. Esse método segue o proposto por Sohi et al. (2001), que foi adotado e adaptado na Embrapa Solos (Machado, 2002), utilizando a metodologia da alíquota, proposta por Gavinelli et al. (1995).

Primeiramente, procede-se o fracionamento densimétrico com a separação da fração leve por flotação a partir da solução densa de iodeto de sódio (NaI, $d = 1,80 \text{ g cm}^{-3}$), antes e após a aplicação de ultrassom para dispersão da amostra de solo para a separação da fração leve livre (FLL) e da fração leve intra-agregado ou oclusa (FLI). O fracionamento granulométrico é posteriormente aplicado na fração pesada por peneiramento (areia) e decantação das frações finas (silte e argila). A quantificação dos teores de carbono e nitrogênio em cada fração obtida é feita em analisador elementar.

7.3 Fracionamento Densimétrico

7.3.1 Material e Equipamentos

- Centrífuga refrigerada de alta rotação (18.000 g) com rotor para tubos de 50 mL
- Aparelho de sucção composto por:
 - Pipeta com ponta recortada ou ponta de plástico rígido.
 - Mangueira de borracha de silicone (comprimento: 1 m; diâmetro interno: 6 mm; diâmetro externo: 10 mm).

- Bomba de vácuo.
- Sistema de filtração – pode-se adotar o Sistema Asséptico “Sterifil”, cap. 250 mL (Millipore - N° Cat. 1104700) ou utilizando frasco de kitassato.
- Filtros Whatman de fibra de vidro tipo GF/A (2 microns - N° Cat. 1820 047).
- Aparelho ultrassom com ponta e plataforma (saída de energia = 400 J mL^{-1}).
- Estufa com ventilação forçada de ar.
- Espátulas e conta gotas.
- Balança com precisão de 0,001 g.
- Erlenmeyer de 125 mL.
- Capela de fluxo contínuo.
- Tubos de centrifuga de 50 mL com tampa.
- Hidrômetro ou densímetro pequeno (30 cm de comprimento).
- Proveta de plástico pequena para aferição da densidade do NaI.
- Frasco de vidro ou plástico para armazenagem de solução de NaI.
- Recipientes ou béqueres de 500 mL.
- Recipientes ou béqueres de vidro de 100 mL.
- Frasco de vidro de 100 mL para armazenagem da suspensão solo/água deionizada, visando posterior fracionamento por granulometria.
- Máscara facial completa.

7.3.2 Reagentes e soluções

- ***Solução de iodeto de sódio (Nal) com densidade 1,80 g cm⁻³*** – Pesar 1,80 kg de Nal e dissolver em 1 L de água destilada ou deionizada. Medir a densidade com hidrômetro ou densímetro. Ajustar a densidade para 1,80 g cm⁻³ adicionando água destilada, se estiver com densidade mais elevada, ou com adição de Nal sólido, se a densidade estiver abaixo de 1,80 g cm⁻³. Obs.: o manuseio da solução de iodeto de sódio deve ser feito com uso de luvas e máscara facial completa em capela de exaustão.
- ***Carvão ativado.***

7.3.3 Procedimento

7.3.3.1 Fração leve livre (FLL)

- Pesar 5,00 g de solo (TFSA) e transferir para um tubo de centrífuga.
- Separar uma alíquota da amostra da TFSA para determinar o teor de umidade atual (posterior apresentação dos resultados em relação ao solo seco). A determinação da umidade segue o descrito no item 2.4 da Parte I – Análises físicas.
- Adicionar 35 mL da solução de Nal no tubo de centrífuga contendo a TFSA.
- Balancear os tubos e centrífuga adicionando solução de Nal.
- Agitar manualmente (aproximadamente 100 rpm) por 30 segundos.

- Centrifugar por 30 minutos a 8.000 g⁽²⁴⁾.
- Acoplar na bomba de vácuo a mangueira de borracha de silicone (utilizar como auxílio a ponta da pipeta recortada).
- Succionar a solução de Nal e a fração leve livre (FLL) como material orgânico flutuante do tubo de centrífuga girando vagarosamente a garrafa em seu eixo para retirar material orgânico aderido na parede do frasco e na superfície da suspensão⁽²⁵⁾. Esse mesmo tubo de centrífuga contendo o solo residual com o restante da solução de Nal será utilizado para a aplicação de ultrassom.
- Separar a FLL da solução de Nal por filtração a vácuo (Sistema Asséptico Sterifil, 47mm – Millipore) contendo um filtro de fibra de vidro previamente pesado (seco em estufa a 40 °C, anotando o peso com precisão de quatro casas decimais).
- Armazenar a solução de Nal coletada no frasco receptor da filtração em um recipiente para sua posterior purificação.
- Lavar com água destilada as amostras de FLL retidas nos filtros para eliminar o excesso de Nal (para a lavagem, deve-se trocar o frasco receptor do sistema asséptico).
- Secar o receptor e os componentes do filtro com papel toalha antes de passar para a próxima amostra.
- Transferir o filtro contendo a FLL para uma estufa para secagem a 60 °C.
- Pesar o filtro seco contendo a FLL com precisão de quatro casas decimais.

⁽²⁴⁾ Deixar o tubo de centrífuga contendo a suspensão em recipiente (não deve ser de vidro) contendo gelo (minimizar o aumento brusco da temperatura).

⁽²⁵⁾ Erguer a plataforma do ultrassom para que a ponta do ultrassom fique submersa a pelo menos 19 mm da superfície da suspensão.

- Moer finamente o filtro contendo a FLL (granulometria < 0,177 mm ou 80 mesh) e armazenar para determinação do carbono e nitrogênio.

7.3.3.2 *Fração leve livre intra-agregado (FLI)*

- Aplicar ultrassom^(24, 25) na intensidade de 400 J mL⁻¹ na suspensão contendo a solução de Nal e solo residual no tubo de centrifuga em que a fração leve livre foi previamente coletada.
- Remover as garrafas dos recipientes e secá-los externamente após sonificação.
- Balancear os tubos e centrífuga adicionando solução de Nal.
- Centrifugar novamente por 30 minutos a 8.000 g⁽²⁴⁾.
- Separar a FLI da solução de Nal por filtração a vácuo (Sistema Asséptico Sterifil, 47 mm – Millipore) contendo um filtro de fibra de vidro previamente pesado (seco em estufa a 40 °C, anotando o peso com precisão de quatro casas decimais).
- Separar o resíduo no tubo de centrífuga para o fracionamento granulométrico.
- Armazenar a solução de Nal coletada no frasco receptor da filtragem em um recipiente para sua posterior purificação.

7.3.4 **Purificação e ajuste da densidade do Nal**

- Adicionar, em cada litro da solução de Nal, cerca 25 g de carvão ativado e agitar por 30 minutos.
- Filtrar em filtro de fluxo rápido e, em seguida, filtrar a vácuo com filtro de fibra de vidro.

- Aferir a densidade (para $1,80 \text{ g cm}^{-3}$) adicionando NaI e estocar para novas análises.

7.4 Fracionamento Granulométrico

7.4.1 Material e Equipamentos

- Centrífuga com rotor para tubos de até 300 mL.
- Agitador horizontal.
- Provetas de 1 L (vidro ou plástico).
- Béquer de 100 mL e de 250 mL.
- Frascos ou béquer de 2.000 mL.
- Peneira de 0,053 mm.
- Estufa.
- Filtro de vidro grande.

7.4.2 Reagentes e Soluções

- Hexametafosfato de sódio (produto comercial).

7.4.3 Procedimentos

- Pesar todos os béqueres ou recipientes de vidro.
- Transferir o resíduo do fracionamento por densidade (item 7.3.3.2) para um recipiente (Erlenmeyer) de vidro ou plástico e completar o volume até 300 mL.
- Adicionar 0,5 g de hexametafosfato, agitar manualmente e deixar a suspensão em repouso no refrigerador (aproximadamente 4°C) por uma noite.

- No dia seguinte, iniciar agitação por 6 horas a 250 rpm (para solos com teor de areia $> 500 \text{ g kg}^{-1}$ agitar por 2 horas).
- Transferir a suspensão para a peneira de 0,053 mm (sobre filtro de vidro grande) e um recipiente coletor de 1 L.
- Lavar, utilizando água destilada com pisquete, o material sobre a peneira de 0,053 mm até que a água que passa pela peneira se apresentar incolor (não exceder o volume de 800 mL no frasco receptor abaixo da peneira).
- Transferir o material retido na peneira (fração areia) para um bquer de vidro de 250 mL.
- Levar o material como fração areia para secagem em estufa a 60 °C e posterior pesagem.
- Transferir, na manhã seguinte, a suspensão (fração argila + silte) retida no frasco receptor abaixo da peneira para a proveta de 1 L e completar o volume com água destilada.
- Homogeneizar a suspensão por 20 segundos com um bastão, tendo este, na sua extremidade inferior, um êmbolo de borracha contendo furos e de diâmetro um pouco menor do que o da proveta (a homogeneização se dá pelo movimento do bastão no sentido da boca para o fundo e vice-versa).
- Medir a temperatura da suspensão.
- Coletar 100 mL da suspensão (fração argila + silte) com pipeta a 10 cm abaixo da superfície da suspensão⁽²⁶⁾ ⁽²⁷⁾.
- Transferir a suspensão pipetada para bquer de vidro de 250 mL e levar para secagem em estufa a 60 °C e posterior pesagem.

⁽²⁶⁾ Este procedimento será efetuado se a temperatura da suspensão for de 25 °C.

⁽²⁷⁾ Para temperaturas da suspensão diferentes de 25 °C, utilizar a Tabela 1 para verificar o tempo necessário para se iniciar a pipetagem.

- Deixar repousar a suspensão por 3 horas e 33 minutos na temperatura de 25 °C⁽²⁷⁾.
- Coletar com a pipeta todo o volume dos 5 cm abaixo da superfície da suspensão (fração argila) de modo similar ao procedimento para coleta da fração argila + silte.
- Medir o volume coletado em proveta e transferir para béquer de vidro de 250 mL.
- Levar para secagem em estufa a 60 °C e posterior pesagem.

7.5 Determinação do carbono e nitrogênio

- Moer⁽²⁸⁾ (granulometria < 177 mm ou 80 mesh) o filtro novo (o mesmo utilizado na separação da FLL e FLI).
- Moer⁽²⁸⁾ (granulometria < 177 mm ou 80 mesh) todas as frações coletadas (FLL; FLI; areia; silte e argila).
- Determinar o teor de carbono e nitrogênio por combustão via seca do filtro puro e do filtro moído com frações FLL e FLI.
- Determinar o teor de carbono e nitrogênio por combustão via seca da fração areia; fração silte + argila e fração argila, todas moídas finamente.

⁽²⁸⁾ O solo poderá ser moído em gral e pistilo, contudo recomenda-se usar moinho de bolas ou de qualquer outro equipamento que leve a qualidade de tamanho de partículas como o talco.

7.6 Observações

Tabela 1. Tempo necessário sob diferentes temperaturas da suspensão para a sedimentação de partículas de solo.

Temperatura (°C)	Tempo *	Temperatura (°C)	Tempo
10	5h 11'	23	3h 43'
11	5h 03'	24	3h 38'
12	4h 55'	25	3h 33'
13	4h 47'	26	3h 28'
14	4h 39'	27	3h 24'
15	4h 33'	28	3h 19'
16	4h 26'	29	3h 15'
17	4h 20'	30	3h 10'
18	4h 12'	31	3h 07'
19	4h 06'	32	3h 03'
20	4h 00'	33	2h 58'
21	3h 54'	34	2h 55'
22	3h 48'	35	2h 52'

* Calculado pela Lei de Stokes considerando a densidade da partícula de 2,65 Mg m⁻³.

7.7 Referências

GAVINELLI, E.; FELLER, C.; LARRÉ-LARROUY, M. C.; BACYE, B.; DJEGUI, N.; NZILA, J. D. A routine method to study soil organic matter by particle-size fractionation: examples for tropical soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 26, n. 11/12, p. 749-1760, 1995.

MACHADO, P. L. O. de A. **Fracionamento físico do solo por densidade e granulometria para a quantificação de compartimentos da matéria orgânica do solo: um procedimento para a estimativa pormenorizada do sequestro de carbono pelo solo**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2002. 6 p. (Embrapa Solos. Comunicado Técnico, 9).

ROSCOE, R.; MACHADO, P. L. O. de A. **Fracionamento físico do solo em estudos da matéria orgânica**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2002. 86 p.

SILVA, J. E.; RESCK, D. V. S. Matéria orgânica do solo. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, 1997. p. 467-524.

SOHI, S. P.; MAHIEU, N.; ARAH, J. R. M.; POWLSON, D. S.; MADARI, B.; GAUNT, J. L. A procedure for isolating soil organic matter fractions suitable for modeling. **Soil Science Society of America Journal**, v. 65, n. 4, p. 1121-1128, 2001.