

Nº 08, dez/96, p.1-5

USO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR NA CARACTERIZAÇÃO DE ÁCIDOS HÚMICOS DE SOLOS SOB DIFERENTES MANEJOS

Ladislau Martin Neto¹
Luiz Alberto Colnago²
Tito J. Bonagamba³
Horácio C. Panepucci³
Eni M. Vieira⁴
Mário Miyazawa⁵

Passaram-se mais de trinta anos desde que a primeira aplicação de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) em matéria orgânica (m.o.) solo foi publicada por Barton & Schnitzer, 1963, na qual usaram ¹H RMN em um ácido húmico metilado. Em recente revisão Preston, 1996 fez um balanço sobre os principais resultados obtidos por RMN com base, principalmente, nos núcleos de ¹H, ¹³C, ¹⁵N e ³¹P, em experimentos com amostras sólidas e em solução. A constatação é que a RMN permitiu um avanço significativo de todas as áreas de pesquisa da m.o. do solo, incluindo identificação de mecanismos de decomposição, efeitos de cultivo, caracterização de formas orgânicas de N e P e interação da m.o. com xenobióticos e metais. Apesar dos avanços Preston, 1996 considera que a RMN permanece subutilizada e que as aplicações são muito prejudicadas, principalmente, pela falta de equipamentos, de especialistas de RMN em m.o. e oportunidades para treinamento de pesquisadores.

No Brasil essas limitações são acentuadas o que pode explicar que somente recentemente os primeiros experimentos sistematizados de RMN em substâncias húmicas da m.o. estão sendo executados. Assim há um longo caminho a ser percorrido e acreditamos ser fundamental o seguinte: envolvimento de um maior número de especialistas de espectroscopia de RMN para estudos da m.o.; atuando de forma integrada com cientistas de solo e de meio ambiente; disponibilização de

¹ Físico, Ph.D. - EMBRAPA/CNPDIA, Caixa Postal: 741, 13560-970 São Carlos/SP.

² Bioquímico, Ph.D. - EMBRAPA/CNPDIA, Caixa Postal: 741, 13560-970 São Carlos/SP.

³ Físico, Ph.D. - USP/IFSC, Caixa Postal: 369, 13560-970 São Carlos/SP.

⁴ Química, Ph.D. - USP/IQSC, Caixa Postal: 780, 13560-970 São Carlos/SP.

⁵ Químico, Ph.D. - IAPAR/Londrina, Caixa Postal: 1331, 86001-970 Londrina/PR.

PA/08, CNPDIA, dez/96, p.2

espectrômetros de RMN para uso em pesquisas de m.o. e a formação de recursos humanos na área em programas de pós-graduação e treinamento de curta duração.

Dentre os efeitos observados na degradação do solo é de particular importância e complexidade as alterações associadas a m.o.. Geralmente constata-se uma redução no conteúdo total de áreas desmatadas para o cultivo. Resultados recentes na literatura internacional tem identificado também mudanças qualitativas na m.o., como a redução na proporção ácido húmico (AH)/ácido fúlvico (AF), e também alterações na composição e propriedades dessas substâncias (Rosell et al, 1989; Schulten et al, 1990).

A matéria orgânica é constituída basicamente por dois tipos de substâncias, as húmicas, como ácido húmico, ácido fúlvico e humina, e não húmicas, como proteínas, aminoácidos, polissacarídeos, ácidos orgânicos de baixo peso molecular, ceras e outros. As substâncias não húmicas têm características físicas e químicas definidas e são geralmente atacadas por microorganismos tendo, normalmente, curto tempo de vida nos solos e sedimentos. Por sua vez, as substâncias húmicas são os maiores constituintes de solos e sedimentos ocorrendo em praticamente todos os sítios aquáticos e terrestres. Surgem de degradações de resíduos de plantas e animais e de atividades sintéticas de microorganismos e tem longo tempo de permanência no solo, com centenas ou até milhares de anos.

As substâncias húmicas são geralmente divididas em três frações principais: ácido húmico (AH), que é solúvel em extrato alcalino mas precipita-se sob acidificação; ácido fúlvico (AF), que é a fração que permanece em solução quando o extrato alcalino é acidificado, e humina que é a fração que não pode ser extraída de solos e sedimentos por diluição ácida ou básica. Cada uma dessas frações pode ser considerada como sendo formada de uma série de moléculas de tamanhos diferentes, sendo que a maioria delas não possui a mesma configuração estrutural ou grupos reativos na mesma posição. A proposta de uma estrutura básica para as substâncias húmicas tem sido objeto de várias investigações, sem que se tenha obtido uma configuração definitiva bem aceita.

Citando somente algumas propriedades das substâncias húmicas temos: alta capacidade de retenção de água, com importante papel regulador para evitar processos erosivos, bem como para armazenamento dessa substância vital para as culturas; a alta capacidade de troca catiônica (CTC), sendo, que na maioria das situações é a principal reguladora da CTC do solo; na combinação com argilas forma agregados que facilitam a aeração e "estruturam" o solo; a formação de complexos com macro e micronutrientes que influencia a disponibilidade destes para as plantas; e as reações com pesticidas e metais como chumbo e alumínio, etc. (Schnitzer & Khan, 1978). Adicionalmente em resultado muito recente publicado em Agosto/96 na revista Nature (Lovley et al., 1996) foi mostrado que as substâncias húmicas podem atuar como receptores de elétrons na respiração microbiana em algumas situações .

Neste trabalho avaliou-se as propriedades de ácidos húmicos, usando a técnica de RMN de ¹³C, de áreas de cultivo de um latossolo roxo submetidos a diferentes manejos, plantio direto, manejo convencional, e uma área de floresta para comparação.

As amostras foram coletadas de um latossolo roxo distrófico, da Estação Experimental do IAPAR em Londrina/PR, em áreas de diferentes manejos (plantio direto e manejo convencional) e rotação de culturas (soja-trigo e milho-trigo), estabelecidas há onze anos, e também de uma área de mata virgem. Foram

PA/08, CNPDIA, dez/96, p.3

retiradas amostras de três profundidades 0-5, 5-10 e 10-20 cm. A extração dos ácidos húmicos foi feita segundo metodologia baseada em característica de solubilidade no Laboratório de Radioquímica e Química Ambiental do IQSC, USP, em São Carlos/SP.

Medidas de RMN de ^{13}C , em estado sólido, de amostras de ácido húmicos foram feitas usando um espectrômetro de 2 Tesla, com a técnica de polarização cruzada, com tempo de contato: 1 e 2 ms; tempo de repetição: 1 s; rotação da amostra em torno do ângulo mágico: 3 KHz, e desacoplamento em alta potência. Este equipamento pertence ao Laboratório de Ressonância Magnética do IFSC-USP/ São Carlos/SP.

Na Figura 1 são apresentados espectros de RMN de ^{13}C de ácidos húmicos de solos sob manejo convencional e plantio direto, obtidas da camada superficial (0-5 cm) do solo, da área sob rotação de culturas milho-trigo. Os sinais de carbono observados são atribuídos aos seguintes grupos (MacCarthy et al., 1990): 0-39 ppm - alifáticos (alcanos + ácidos fáticos); 40-60 ppm - proteína, peptídeo, aminoácido e metoxi; 61-105 - carboidratos; 106-165 ppm - grupos aromáticos, sendo que particularmente entre 1560-165 ppm são grupos fenólicos; 170-190 ppm - grupos carboxila. As seguintes expressões foram utilizadas para a quantificação do percentual relativo dos carbonos aromáticos e alifáticos:

$$\text{Alifaticidade (\%)} : \frac{\text{Valor da Integral de 0-105 ppm}}{\text{Valor da Integral 0-165 ppm}}$$

$$\text{Aromaticidade (\%)} : \frac{\text{Valor da Integral de 106-165 ppm}}{\text{Valor da Integral de 0-165 ppm}}$$

Na Tabela 1 são apresentados os dados obtidos por RMN de ^{13}C . Os resultados obtidos são coerentes com dados da literatura internacional (MacCarthy et al., 1990; Preston et al., 1996). As principais observações foram as seguintes: identificou-se um maior percentual de grupos aromáticos (associados com maior grau de humificação dos AH) na camada superficial (0-5 cm) de áreas de plantio direto comparado com as de manejo convencional; para a área de mata virgem observou-se um aumento bem definido do grau de aromaticidade com a profundidade (até 20 cm), o que não ocorreu para as áreas cultivadas tanto no plantio direto quanto no manejo convencional.

O aumento da aromaticidade com aumento da profundidade para a área de mata virgem é coerente com dados da literatura obtidos com ressonância paramagnética eletrônica (Tam et al., 1991). O valor mais elevado de aromaticidade dos ácidos húmicos para os dois manejos e o fato de não haver um aumento bem definido nos solos cultivados indica que o manejo altera a distribuição e acelera a humificação de componentes da matéria orgânica. Por sua vez o maior percentual de grupos aromáticos para o AH do plantio direto, comparado com o manejo convencional, na região superficial (0-5 cm) sugerem que nesse latossolo roxo após onze anos de cultivo houve uma redução no grau de humificação do ácido húmico do manejo convencional nessa camada. Este resultado é coerente com observação de Schulten et al., 1990 que verificaram uma diminuição no grau de aromaticidade, detectado por RMN, em áreas submetidas a intenso cultivo.

PA/08, CNPDIA, dez/96, p.4

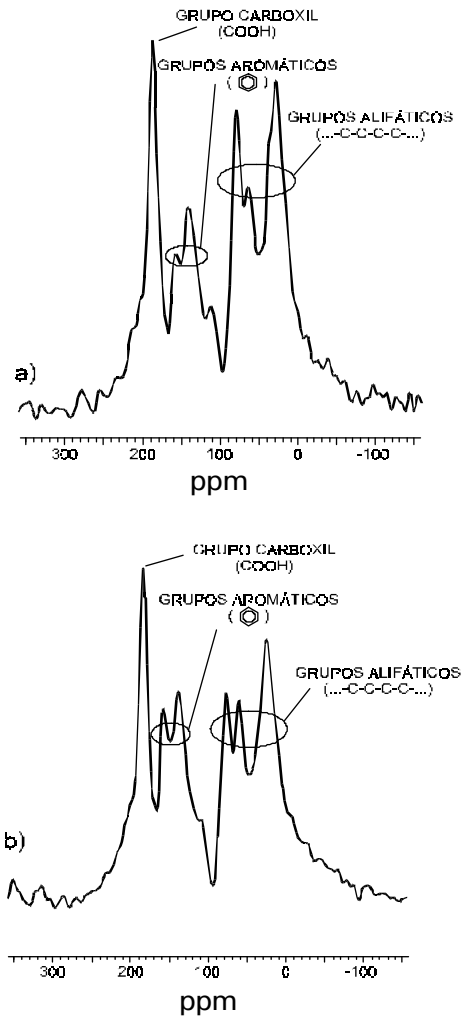


Figura 1 - Espectros de RMN 13C de ácidos húmicos da camada superficial (0-5cm) de um latossolo roxo, sob os seguintes manejos: a) manejo convencional; b) plantio direto.

Tabela 1 - Dados de RMN de 13C mostrando o grau de aromaticidade de ácidos húmicos (AH) e conteúdo total de carbono (COT) de um latossolo roxo submetido a diferentes manejos.

Manejo/Profundidade (cm)	Aromaticidade (%)	COT solo (%)
Conv./0-5	25	1,44
PD/0-5	33	1,93
MV/0-5	18	2,11
Conv./5-10	35	1,45
PD/5-10	35	1,73
MV/5-10	24	1,38
Conv./10-20	35	1,46
PD/10-20	33	1,56
MV/10-20	31	1,38

Conv. - Manejo Convencional; PD - plantio direto; MV - mata virgem

PA/08, CNPDIA, dez/96, p.5

Referências Bibliográficas

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

LOVLEY, D., COATES, J.D.; BLUNT-HARRIS, E.L.; PHILLIPS, E.J.P.; WOODWARD, J. Humic substances as electron acceptors for microbial respiration. **Nature**, London, v.382, p.445-448, 1996.

MCCARTHY, P.; CLAPP, C.E.; MALCOLM, R.L.; BLOOM, P.R. **Humic substances in soil and crop science: selected readings**. Madison: American Society of Agronomy, 1990.

PRESTON, C.M. Applications of NMR to soil organic matter analysis: history and prospects. **Soil Science**, Baltimore, v.161, n.3, p.144-166, 1996.

ROSSEL, R.A.; ANDRIULO, A.E.; SCHNITZER, M.; CRESPO, M.B.; MIGLIERINA, A.M. Humic acids properties of an Argiudoll soil under two tillage systems. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.81/82, p.391-400, 1989.

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

SCHULTEN, H.R.; HEMPLING, R.; HAIDER, K.; GRÖBLINGHOFF, F.F; LÜDEMANN, H.D.; FÜND, R. Characterization of cultivation effects on soil organic matter. **Zeitschrift fuer Pflanzenernährung und Bodenkunde**, Weinheim, v.153, p.97-105, 1990.