



---

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

**RESUMOS EXPANDIDOS**  
**VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas**

*Etelvino Henrique Novotny  
Vinicius de Melo Benites  
David Vilas Boas de Campos*

*Rio de Janeiro, RJ  
2005*

Exemplares desta publicação e informações complementares poderão ser obtidos na:

**Embrapa Solos**

Rua Jardim Botânico, 1024  
CEP: 22460-000 Rio de Janeiro, RJ  
Fone: (21) 2274.4999  
Fax: (21) 2274.5291  
E-mail: sac@cnps.embrapa.br  
Site: <http://www.cnps.embrapa.br>

**Projeto gráfico e arte-final**

Eduardo Guedes de Godoy  
Etelvino Henrique Novotny

**Capa**

Eduardo Guedes de Godoy

**Todos os direitos reservados.**

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

*Catálogo-na-publicação (CIP)  
Embrapa Solos*

---

ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, VI, 16-18 nov. 2005, Rio de Janeiro. **Resumos expandidos** / Editores técnicos Etelvino Henrique Novotny ... [et al.]. - Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2005. 330p. - (Embrapa Solos. Documentos, 70)

ISSN 1517-2627

1. Substâncias Húmicas. 2. Matéria orgânica. I. Novotny, Etelvino Henrique. II. Benites, Vinicius de Melo. III. Campos, David Vilas Boas de. IV. Embrapa Solos (Rio de Janeiro).V. Série.

CDD (21.ed.) 631.417

---

© Embrapa 2005

## **Apresentação**

**O Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas é bienal, tendo sido iniciado em 1996, em Belém, Pará. Os encontros vêm consolidando um fórum privilegiado de discussão e de aprofundamento teórico para professores, pesquisadores e acadêmicos sobre o estudo da matéria orgânica, com especial atenção para a sua fração humificada, e suas relações com o ambiente.**

**O VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, realizado no Rio de Janeiro de 16 a 18 de novembro de 2005, aborda as inter-relações das substâncias húmicas na regulação da vida na Terra pelas diversas áreas da ação humana. O Encontro é uma realização do Grupo do Rio em Matéria Orgânica que é um consórcio que reúne profissionais de várias instituições de pesquisa e universidades localizados no Estado do Rio de Janeiro.**

**Celso Vainer Manzatto  
Chefe-Geral Embrapa Solos**

## Realização

**Embrapa**

---

**Solos**



**Embrapa**

---

**Agrobiologia**



## Comissão Organizadora

### **Presidente**

***Gabriel de Araújo Santos***      **UFRRJ**

### **Coordenador Geral**

***Vinicius de Melo Benites***      **Embrapa Solos**

### **Coordenador Científico**

***Luciano Pasqualoto Canellas***      **UENF**

### **Tesoureiro**

***David Vilas Boas de Campos***      **Embrapa Solos**

### **Secretário executivo**

***Etelvino Henrique Novotny***      **Embrapa Solos**

### **Membros**

***Beáta Emöke Madari***      **Embrapa Arroz e Feijão**

***Helvécio De-Polli***      **Embrapa Agrobiologia**

***José Carlos Polidoro***      **Embrapa Solos**

***Pedro Luiz O. A. Machado***      **Embrapa Arroz e Feijão**

***Raul Almeida Nunes***      **PUC-Rio**

***Ricardo Trippia G. Peixoto***      **Embrapa Agrobiologia**

### **Secretária**

***Conceição A. Oliveira e Silva***      **Embrapa Solos**

## Comissão Científica

<i>André Henrique Rosa</i>	<i>UNESP</i>
<i>Antonio Salvio Mangrich</i>	<i>UFPR</i>
<i>Arnoldo Rocha Façanha</i>	<i>UENF</i>
<i>Beáta Emöke Madari</i>	<i>Embrapa Arroz e Feijão</i>
<i>Bruno Szpoganicz</i>	<i>UFSC</i>
<i>Carlos Alberto Ceretta</i>	<i>UFSM</i>
<i>Cimélio Bayer</i>	<i>UFRGS</i>
<i>Claudia Maria B. de Freitas Maia</i>	<i>Embrapa Florestas</i>
<i>Daniel Vidal Pérez</i>	<i>Embrapa Solos</i>
<i>David Vilas Boas de Campos</i>	<i>Embrapa Solos</i>
<i>Débora Marcondes B. Pereira Milori</i>	<i>Embrapa Instrumentação Agropecuária</i>
<i>Deborah Pinheiro Dick</i>	<i>UFRGS</i>
<i>Eduardo de Sá Mendonça</i>	<i>UFV</i>
<i>Ernest Ramiarina</i>	<i>UFRRJ</i>
<i>Etelvino Henrique Novotny</i>	<i>Embrapa Solos</i>
<i>Gabriel de Araújo Santos</i>	<i>UFRRJ</i>
<i>Helvécio De-Polli</i>	<i>Embrapa Agrobiologia</i>
<i>José Carlos Polidoro</i>	<i>Embrapa Solos</i>
<i>Júlio César Rocha</i>	<i>UNESP</i>
<i>Ladislau Martin-Neto</i>	<i>Embrapa Instrumentação Agropecuária</i>
<i>Luciano Pasqualoto Canellas</i>	<i>UENF</i>
<i>Luíz Cláudio de Santa Maria</i>	<i>UERJ</i>
<i>Marcos Gervásio</i>	<i>UFRRJ</i>
<i>Maria Cristina Canela</i>	<i>UENF</i>
<i>Maria Olímpia de Oliveira Rezende</i>	<i>USP</i>
<i>Pedro Luiz O. de Almeida Machado</i>	<i>Embrapa Arroz e Feijão</i>
<i>Raul Almeida Nunes</i>	<i>PUC-Rio</i>
<i>Ricardo Trippia G. Peixoto</i>	<i>Embrapa Agrobiologia</i>
<i>Robert Michael Boddey</i>	<i>Embrapa Agrobiologia</i>
<i>Segundo Urquiaga</i>	<i>Embrapa Agrobiologia</i>
<i>Telmo Jorge Carneiro Amado</i>	<i>UFSM</i>
<i>Vinicius de Melo Benites</i>	<i>Embrapa Solos</i>
<i>Vitor Marcos Rumjanek</i>	<i>UFRRJ</i>

## **Índice**



**2005**  
**Rio de Janeiro**  
*16 a 18 de novembro*

## **Palestras convidadas**

Características da matéria orgânica em solos sob aplicações de dejetos líquidos de suínos .....	P - 1
Interações de substâncias húmicas com íons metálicos: estudo da seletividade das substâncias húmicas e sua possível aplicação terapêutica .....	P - 4
Manejo da matéria orgânica no Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA – “Fazendinha Agroecológica km 47”) .....	P - 7
Considerations of compositions and structures of humic substances.....	P - 10
Plantio direto, mudança climática e crédito de carbono .....	P - 18
Até aonde irão os químicos com as automontagens moleculares - As automontagens moleculares (estruturas supramoleculares) em química ambiental .....	P - 19
O estado da arte das pesquisas sobre substâncias húmicas no mundo. Os próximos passos .....	P - 21
Technical and commercial questions associated with the use of humic substances in European Mediterranean countries .....	P - 24
Caracterização do Carbono Pirogênico por Ressonância Magnética Nuclear .....	P - 28
Experiências e perspectivas para aplicação conjunta de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas em plantas de interesse agrícola.....	P - 32
Chemical stabilization of soil nitrogen by phenolic lignin residues in anaerobic agro-ecosystems .....	P - 36
Compostos húmicos sedimentares: caracterização e reatividade .....	P - 39

## **Seção 1 - Aplicação na agricultura**

Efeitos da aplicação de ácidos orgânicos na produção de uva cv. Itália no Vale do São Francisco .....	1
Caracterização da matéria orgânica de vermicomposto e de torta de filtro proveniente da industrialização da cana .....	4
Solubilização de fosfatos naturais de rocha em resposta ao tratamento com ácidos húmicos.....	7
Crescimento e fotossíntese de clones de cacau ( <i>Theobroma cacao</i> L.) com resistência diferencial a <i>Verticillium dahliae</i> submetidos a diferentes doses de Turfa Líquida®.....	9
Grau de humificação dos agregados organominerais de Latossolos e a sorção de 2,4-D e diuron .....	12
Carbono e nitrogênio do solo no cultivo de couve em consórcio com leguminosas anuais, sob manejo orgânico de produção .....	16
Composição de substâncias húmicas e sua adição via tratamento de sementes na cultura da soja ( <i>Glycine Max</i> (L.) Merrill) <sup>1</sup> .....	19
Avaliação da interação substâncias húmicas – bactérias diazotróficas sobre o desenvolvimento radicular de plântulas de milho .....	23
Estoque e origem do carbono em frações da matéria orgânica de solo sob plantio de <i>Brachiaria humidicola</i> em monocultura e consorciada com <i>Desmodium ovalifolium</i> , no município de Itabela (BA) .....	26

Desenvolvimento de raízes transgênicas de trevo em simbiose micorrízica sob influência de ácido húmico .....	29
Alterações do nitrogênio mineral e dos fluxos de óxido nitroso em diferentes usos da terra na região de Comodoro (MT) .....	33
Compartimentos da matéria orgânica em Latossolos dos Cerrados do Piauí sob diferentes tipos de preparo e doses de adubação nitrogenada .....	36
Modelagem da dinâmica da matéria orgânica em Argissolo acinzentado sob diferentes sistemas de manejo em Pacajus-CE: Validando o modelo Century .....	39
Níveis populacionais de bactérias diazotróficas endofíticas na presença de ácidos húmicos: um potencial para geração de inoculantes .....	43
Contribuição de compostos orgânicos para as propriedades físicas de um Latossolo Vermelho .....	46
Atividade de proteases, amilases e arilsulfatases e teores de enxofre em solos tratados com biossólidos no Estado de São Paulo .....	48
Taxas fotossintéticas e crescimento de dois clones de <i>Theobroma cacao</i> L. com resistência diferencial à <i>Crinipellis pernicioso</i> (Stahel) Singer submetidos a diferentes concentrações de Turfa Líquida® .....	52
Caracterização da matéria orgânica num Argissolo Amarelo sob a cultura da cana-de-açúcar: influência da queima ou manutenção da palhada .....	55
Aspectos físicos e químicos da turfa ácida de Jaconé, Município de Saquarema, Estado de Rio de Janeiro – Brasil. Parâmetros para usos na adubação, na remediação de solos e na despoluição do meio ambiente .....	57
O fluxo extracelular de prótons das raízes é estimulado pelos ácidos húmicos: evidências obtidas com a microssonda vibrátil seletiva ao H <sup>+</sup> .....	60
Quantificação de carbono e nitrogênio por NIRS em solos de Rio Verde .....	64
Estudo do grau de humificação do ácido húmico de um Latossolo: com e sem adição de calcário .....	66
Estoque de fração leve em solos sob plantio de <i>Brachiaria humidicola</i> em monocultura e consorciada com <i>Desmodium ovalifolium</i> , no município de Itabela (BA) .....	68
Especiação dos grupos ácidos e básicos do ácido húmico ( <i>Aldrich</i> ) .....	70
Análise do grau de humificação do cacho seco e inflorescência de dendê ( <i>Elaeis guineensis</i> ) decompostos .....	73
Ácidos húmicos estimulam o desenvolvimento radicular através da via de transdução de sinal de auxina .....	75
Teores de ácido húmico sobre a atividade de bombas de prótons em raízes transgênicas de trevo .....	78

## Seção 2 - Aplicações diversas

Variação da hidrofobicidade de hematita e quartzo na presença de ácido húmico e dodecilamina .....	81
Determinação da matéria orgânica em solos por método oxidimétrico modificado.....	83
Resíduos orgânicos - fontes alternativas e sustentáveis de substâncias orgânicas para utilização na agricultura e no meio ambiente .....	87
Fracionamento físico-densimétrico da matéria orgânica de Latossolo tratado com lodo de esgoto.....	89
Ácidos húmicos de carvão vegetal: caracterização espectroscópica e interação com solutos orgânicos e inorgânicos.....	92

## Seção 3 - Aspectos estruturais, caracterização e métodos de estudo

Estudo da estrutura de substâncias húmicas através da fluorescência .....	97
Thermal analysis of humic substances extracted from contrasting pedoenvironments.....	101
Caracterização de ácidos húmicos em diferentes profundidades de Neossolos hidrofóbicos sob plantios de <i>Pinus taeda</i> .....	104
Atividade de ácidos húmicos extraídos de vermicomposto com diferentes solventes .....	107
Caracterização química e conteúdo de substâncias húmicas em vermicompostos de origem animal e vegetal.....	109
Estudo da proteção física da matéria orgânica do solo pelo fracionamento densimétrico com iodeto e politungstato de sódio.....	112
Validação do método para determinação de nitrogênio Kjeldahl total utilizando amostra de turfa .....	116
Ácidos húmicos de solos antropogênicos: estudo espectroscópico por RPE e RMN <sup>13</sup> C.....	119
Avaliação por termogravimetria e análise térmica diferencial da influência da extração alcalina nas características da matéria orgânica presente em solos <sup>1</sup> .....	123
Interação atrazina e ácidos húmicos por espectroscopia de infravermelho .....	127
Efeito das substâncias húmicas na redução eletroquímica do p-nitrofenol .....	130
Quantificação de substâncias húmicas em Latossolo submetido à aplicação continuada de lodo de esgoto .....	133
Huminas de horizonte A de quatro Latossolos brasileiros sob vegetação nativa: quantificação e caracterização.....	137
Sistemas de manejo de um Latossolo de Cerrado e formas de C orgânico avaliadas por espectroscopia de RMN CP-MAS <sup>13</sup> C.....	140
Caracterização espectroscópica de subprodutos da industrialização do xisto betuminoso .....	143
Caracterização espectroscópica por Ressonância Magnética Nuclear (NMR) e Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) de ácidos húmicos extraídos de solos submetidos à adição de biossólidos .....	147
Avaliação do processo de compostagem de resíduos orgânicos por fluorescência .....	151

3D-fluorescence spectroscopic analysis of HPLC fractionated estuarine fulvic and humic acids.....	155
Avaliação das características químicas de substâncias húmicas isoladas durante a vermicompostagem .....	158
Uso da espectroscopia fotoacústica para monitorar a dinâmica do processo de compostagem de podas de árvores e resíduos orgânicos.....	161
Aplicação da termogravimetria nos estudos cinéticos de substâncias húmicas extraídas de amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM .....	165
Determinação de carbono e matéria orgânica em Latossolos por diferentes métodos .....	168
Utilização da metodologia de marcador de spin para avaliar a conformação estrutural de ácido húmico .....	171

#### **Seção 4 - Substâncias húmicas e humanidades**

Distribuição de frações de substâncias húmicas em Terra Preta de Índio.....	177
Humosfera .....	179

#### **Seção 5 - Substâncias húmicas e o meio ambiente**

Caracterização espectroscópica de frações químicas de substâncias húmicas extraídas de solos representativos do Estado de São Paulo.....	185
Redox properties of soil humic acids after long time of continuous vinasse application in sugar-cane cultivation.....	189
Degradação da atrazina na presença de ácidos húmicos extraídos de solo e do mineral ferrihidrita .....	193
Composição elementar de ácidos húmicos de diferentes origens .....	195
Dinâmica de Fe em uma amostra do horizonte B de um LVA <sub>d</sub> inundado: Efeitos de um extrato de substâncias húmicas e de uma fonte de carbono orgânico lábil .....	197
Remoção de ácido húmico da água por flotação com a utilização de surfatantes catiônicos .....	201
Avaliação do processo de compostagem de resíduos orgânicos por FTIR .....	205
Estoques de carbono do solo na mudança de uso da terra em Vilhena (RO) .....	208
Dinâmica da matéria orgânica em solos sob pastagem na Amazônia .....	210
Grau de humificação de ácidos húmicos isolados de diferentes Latossolos brasileiros.....	214
Desenvolvimento de metodologia utilizando filtro de papel organomodificado para caracterização “in-situ” da labilidade relativa de metais complexados em matéria orgânica natural (MON) .....	217
Carbono orgânico nas frações granulométricas e fracionamento químico das SHs de um LVA sob diferentes agrossistemas .....	220
Fluorescência induzida por laser aplicada a análises de diferentes tipos de solos brasileiros.....	223
Matéria orgânica e substâncias húmicas em solos antrópicos da Amazônia Central.....	227

Avaliação do grau de humificação de ácidos húmicos extraídos de um argissolo tratado com lodo de esgoto por espectroscopia de fluorescência e Fluorescência Induzida por Laser (FIL).....	231
Detecção de complexos formados por substâncias húmicas aquáticas e Cu <sup>2+</sup> em águas através de sensores poliméricos .....	235
Estudo comparativo dos sistemas de plantio direto e convencional com diferentes rotações de cultura em um Latossolo Vermelho-Escuro através de fracionamento químico.....	238
Correlação entre a acidez carboxílica e o grau de humificação de ácidos húmicos .....	241
Estudo da fração recalcitrante da matéria orgânica em área degradada pela extração de argila revegetada com <i>Acacia mangium</i> Willd .....	245
Frações húmicas num solo sob sucessão vegetal.....	249

## **Seção 6 - Substâncias húmicas em sistemas aquáticos**

Influência do carbono orgânico total na redução e complexação de mercúrio por matéria orgânica dissolvida da Bacia do Médio Rio Negro-AM.....	253
Influência da presença de cloro e dióxido de cloro sobre radicais livres presentes em ácidos fúlvicos aquáticos tropicais .....	255
Diferenças no grau de humificação de substâncias húmicas aquáticas extraídas de amostras coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM: influências sazonais .....	258
Estudo comparativo para determinação da capacidade de complexação e labilidade de íons Cu(II) em substâncias húmicas aquáticas usando ultrafiltração, difusão em filmes finos e sorção em resina quelante .....	260
Estudo das interações entre ácidos húmicos e pireno em meio aquoso.....	263
Impacto da irradiação UV na degradação fotoquímica das substâncias húmicas aquáticas da bacia Amazônica .....	266
<b>Índice de autores .....</b>	<b>271</b>



## ***Palestras convidadas***



Todos os resumos publicados neste livro são reproduções de cópias fornecidas pelos autores. O conteúdo dos resumos é de responsabilidade exclusiva dos autores. O Comitê Organizador do VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas não se responsabiliza pelas conseqüências do uso de qualquer dado, afirmação ou opinião publicada neste livro.

## Características da matéria orgânica em solos sob aplicações de dejetos líquidos de suínos

Carlos Alberto Ceretta<sup>1</sup>(PQ)\*, Jorge Luis Mattias<sup>2</sup>(PG), Eduardo Giroto<sup>3</sup>(IC), Eder Efrain Trentin<sup>3</sup>(IC), Cledimar Rogério Lourenzi<sup>3</sup>(IC) e Renan Costa Beber Vieira<sup>3</sup>(IC).

1. Prof. Dep. Solos UFSM, Pesquisador CNPq, 2. Prof. Unochapecó, Doutorando do PPGCS-UFSM, 3. Aluno de Graduação Agronomia – UFSM. Bolsista de IC. \*e-mail: carlosceretta@smail.ufsm.br

Palavras Chave: FTIR, dejetos líquidos de suínos, fracionamento físico da MOS, resíduo orgânico, carbono.

### Introdução

A aplicação de dejetos líquidos de suínos nos solos, com enfoque fertilizante, tem sido a melhor alternativa encontrada para a ciclagem deste resíduo, que é produzido em grandes volumes, e que tende a aumentar pela crescente participação do Brasil na produção mundial de carne suína.

Efeitos relacionados ao aumento na produtividade de grãos e produção de matéria seca têm sido observados por vários autores em diferentes culturas, porém os efeitos dos dejetos sobre alguns atributos do solo ainda não são bem conhecidos.

Além da ciclagem de nutrientes, a aplicação do esterco líquido de suínos também representa uma adição de carbono ao solo, que pode representar mudanças na matéria orgânica do solo não só sob o ponto de vista quantitativo, mas também qualitativo. Para Dinel et al., (1991), repetidas aplicações de resíduos orgânicos de origem animal podem incrementar o teor de matéria orgânica do solo, pois Dinel & Gregorich (1995) citam que tais resíduos apresentam em sua composição polissacarídeos, lipídios, proteínas e outros compostos aromáticos, que diferem também em sua biodegradabilidade. Isso evidencia que os resíduos orgânicos, adicionados ao solo, devem ser avaliados sob o aspecto quantitativo e qualitativo, já que ambos são importantes no balanço da matéria orgânica do solo.

O objetivo do trabalho foi avaliar as características da matéria orgânica de um solo que recebeu durante quatro anos aplicações de dejetos líquidos de suínos.

As amostras foram coletadas ao final do 4º ano agrícola, em experimento em andamento, com sistemas de rotação de culturas, sendo o dejetos aplicado antes da implantação de cada espécie. O número de aplicações de dejetos foi de 3 por ano, nos três primeiros anos e 2 no 4º ano. As doses de dejetos aplicadas no solo são de 0, 40 e 80 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>.

As coletas foram realizadas em mini-trincheiras, de forma estratificada nas profundidades de 0–5 e 5–10 cm. O teor de C total foi determinado segundo metodologia proposta por Embrapa (1997).

Para as análises da matéria orgânica, optou-se pela realização de um fracionamento físico do solo, pela compreensão de que o mesmo é menos agressivo e por consequência promove menor

alteração na matéria orgânica do solo. A metodologia foi adaptada de Gonçalves (2002), assim descrita:

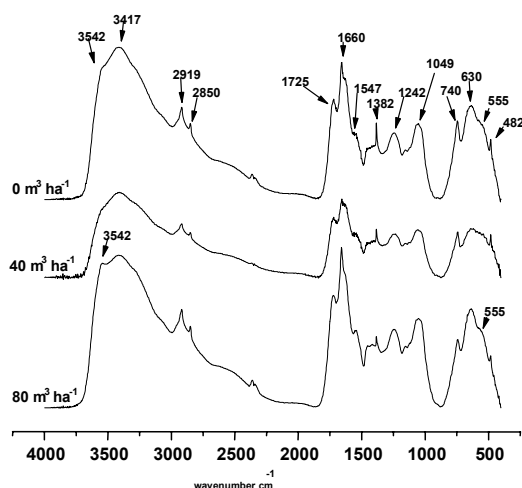
Tomou-se 20 g de solo TFSA e transferiu-se para Becker com capacidade de 250 ml; adicionou-se 80 ml de H<sub>2</sub>O destilada (manteve-se sempre a relação 1:4) e transferiu-se Becker para um recipiente com gelo (para evitar o aquecimento da amostra); sonificou-se as amostras de Coruja Bonito a 300 J ml<sup>-1</sup> e as de Fragosos a 600 J ml<sup>-1</sup>; após a sonicação as foram tamisadas das em peneiras de malha 53 µm e 20 µm; as frações silte e areia fina foram separadas por sedimentação a partir da Lei de Stokes;

Procedeu-se a concentração da matéria orgânica do solo com HF 10%; conforme descrito a seguir: utilizou-se aproximadamente 5 g das frações silte, argila grossa e argila fina em tubos de 50 ml e adicionou-se 40 ml de HF 10%; agitou-se a suspensão por 2 horas e centrifugou-se a 3500 rpm por 15 min, o sobrenadante foi desprezado; o procedimento foi repetido 8 vezes; lavou-se as amostras 3 vezes com água destilada; a matéria orgânica da fração argila foi liofilizada e as demais secas em estufa de ar forçado a 35 °C ± 5° C.

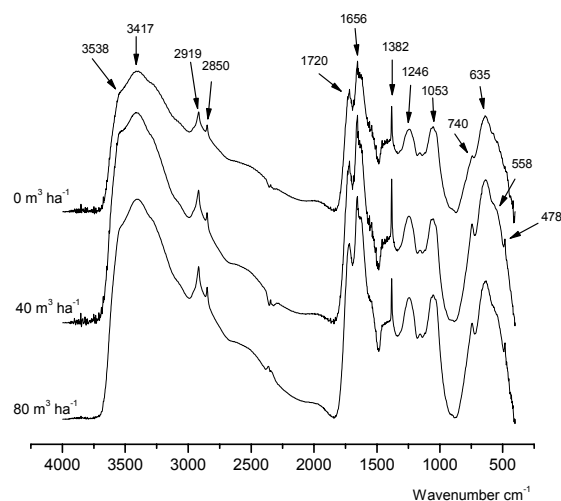
A partir das amostras liofilizadas procedeu-se a determinação dos grupos funcionais da matéria orgânica dos solos. Estas amostras foram submetidas à espectroscopia de FTIR, em pastilhas de KBr na proporção 1:100.

### Resultados e Discussão

Os espectros de FTIR das amostras de solo apresentam características similares (Fig. 1 e 2), com picos de maior absorbância no comprimento de onda entre 3755 e 3300 cm<sup>-1</sup> (estiramento O-H em ponte), apresenta também dois picos bem definidos em 2219 e 2850 cm<sup>-1</sup> (estiramento C-H de alifáticos), um pico na região 1725-1720 cm<sup>-1</sup> (grupos COOH e um mais saliente na faixa 1660-1656 cm<sup>-1</sup> (C-aromático). Mostra também a presença de grupamentos COOH e OH na faixa 1226-1218 cm<sup>-1</sup> (Tab. 1).



**Figura 1.** Espectros de FTIR da matéria orgânica, sob diferentes doses de dejetos líquidos de suínos, na prof. de 0 – 5 cm.



**Figura 2.** Espectros de FTIR da matéria orgânica, sob diferentes doses de dejetos líquidos de suínos, na prof. de 5 – 10 cm.

**Tabela 1.** Atribuições das principais bandas de absorção nos espectros de FTIR (Dick et al., 2003)

Região de número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuições
3420	Estiramento O - H em ponte
2922–2851	Estiramento C - H
1720–1708	Estiramento C = O de COOH e cetonas
1656–1600	Estiramento C = C de aromáticos, estiramento simétrico de COO <sup>-</sup>
1535–1507	Estiramento N - H de amidas secundárias
1400–1380	Estiramento C - H, estiramento antisimétrico de COO <sup>-</sup>
1226–1218	Deformação O - H e estiramento C - O de COOH
1120	Estiramento C - O de estruturas tipo polissacarídeos
1033	Estiramento Si - O de silicatos e outras impurezas

A principal diferença observada nos espectros das diferentes profundidades estão relacionadas a absorbância na região 1547 cm<sup>-1</sup>(N-H), onde o ombro formado mostra-se mais pronunciado nos solos superficiais (0 – 5 cm), em relação aos subsuperficiais (5 - 10 cm), indicando possivelmente a influência dos resíduos na composição da MOS.

Outra diferença observada entre as profundidades é a melhor definição dos espectros da MOS na profundidade de 0 - 5 cm.

Entre as doses de dejetos aplicadas observa-se similaridade dos picos nas diferentes áreas dos espectros em ambas as profundidades, mostrando que os grupamentos funcionais estão presentes tanto em solos que não receberam aplicações, quanto em solos que as receberam.

Porém, monitorando as alterações no espectro através de uma relação de área entre os picos de maior intensidade, pode-se perceber uma diferença entre as doses. O índice  $I_{1660}/I_{2920}$  (C aromático/ C alifático) proposto por Inbar et al (1989) (Tab. 2), indica um aumento do caráter aromático com o aumento da dose de dejetos em ambas as profundidades.

**Tabela 2.** Índices  $I_{1620}/I_{2920}$  e  $I_{1550}/I_{1620}$  da matéria orgânica sob diferentes doses de dejetos líquidos de suínos nas profundidades de 0 – 5 e 5 – 10 cm.

Dose	Teor de C g/kg	$I_{1660}/I_{2920}$	$I_{1620}/I_{1550}$
----- 0 a 5 cm -----			
0 m <sup>3</sup>	12,9	0,69	0,17
40 m <sup>3</sup>	15,0	0,69	0,31
80 m <sup>3</sup>	16,5	0,77	0,22
-----5 a 10 cm -----			
0 m <sup>3</sup>	8,7	0,72	0,17
40 m <sup>3</sup>	9,1	0,67	0,14
80 m <sup>3</sup>	8,7	0,76	0,11

Os teores de C das amostras indicam um leve aumento no teor na profundidade de 0 a 5 cm, reflexo possivelmente da quantidade de massa produzida pelos diferentes tratamentos e não pelo C aplicado com o dejetos.

Na profundidade de 5 a 10 cm não se observa alteração nos teores de C, indicando que a influência da das praticas tanto de adição, quanto de manutenção de resíduos se dá nas camadas mais superficiais do solo.

Esta hipótese estaria de acordo com o trabalho de Ellerbrock et al., (1999), no qual os autores afirmam que o total de matéria orgânica não foi afetado pela aplicação contínua de esterco por um período de 34 anos. Podendo, no entanto, haver diferença na qualidade da mesma, o que no caso do

experimento em questão, necessita de análises complementares para a confirmação.

Deve-se ainda, ter em mente que a metodologia aplicada poderá estar mascarando o dado, uma vez que a coleta e a análise do solo para a análise não primou por uma separação da MOS leve-livre por flotação em líquido mais denso.

### Conclusões

O teor de C do solo aumentou com a dose de dejetos aplicada, na profundidade 0 a 5 cm. A dose de 80 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> de dejetos mostra um índice I<sub>1660</sub>/I<sub>2920</sub> mais elevado, indicando uma MOS menos alifática.

### Agradecimentos

À Prof. Débora Pinheiro Dick pelas sugestões na elaboração do trabalho.

- DICK, D.P. et al.,. Chemical characterization and infrared spectroscopy of soil organic matter from two southern Brazilian soils. **Rev. Bras. Ci. Solo**, 27: 29-39, 2003.
- DINEL, H.; MEHUYS, G.R.; LÉVESQUE, M. Influence of humic and fibric material on the aggregation and aggregate stability of a lacustrine silty soil. **Soil Sci.**, 151:146-158, 1991.
- DINEL, H. & GREGORICH, E.G. Structural stability status as affected by long-term continuous maize and bluegrass sod treatments. **Biol. Agric. Hort.**, 12:237-252, 1995.
- ELLERBOCK, H.R.; HÖHN A. & ROGASIK, J. Functional analysis of soil organic matter as affected by long-term manurial treatment. **European Journal of Soil Science**, 50:65-71, 1999.
- EMBRAPA. Manual de métodos de análise de solos. Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 2 ed., Rio de Janeiro, 1997, 212p.
- GONÇALVES, C. N. Distribuição e caracterização da matéria orgânica em frações granulométricas de latossolos brasileiros. 2002. 113f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil.
- INBAR, Y., CHEN, Y., HADDAR, Y. Solid state carbon-13 nuclear magnetic resonance infrared spectroscopy of composted organic matter. **Soil Sci. Am. J.** 53:1695-1701. 1989.

# Interações de substâncias húmicas com íons metálicos: estudo da seletividade das substâncias húmicas e sua possível aplicação terapêutica

Ademir dos Santos

Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho - Unesp - CP 355, 14801-970 Araraquara – SP. e-mail: ademir@iq.unesp.br

Palavras Chave: substâncias húmicas,  $\alpha$ -aminoácidos, complexação.

## Introdução

Alguns metais estão entre as espécies tóxicas mais antigas conhecidas pelo ser humano. O tratamento da toxicidade de metal é essencial em situações crônicas e agudas, especialmente para os cumulativos e persistentes, como, por exemplo, Pb, Cd, Cu, Ni, Hg, Al e outros. A dose ou o nível de exposição a um determinado metal deve ser considerado assunto importante. A definição mais precisa de dosagem tóxica é a quantidade de metal que dentro das células ou órgãos manifestam efeito toxicológico. Os indicadores mais confiáveis e mais disponíveis são sangue, urina e cabelos, ROZEMA (1998).

A finalidade de qualquer tratamento de intoxicação por metais potencialmente tóxicos é de inativa-los fixando-os em compostos poucos dissociados, ou seja, via reações com agentes quelantes, contendo grupos sulfidrílicos ou compostos que combinem essas duas características MASSABNI *et al.* (1999a).

Quatro compostos são mais freqüentemente usados pela terapia medicamentosa nos casos de envenenamento agudo por ingestão de metais potencialmente tóxicos. O EDTA na forma de sal de sódio e de cálcio (CaNa<sub>2</sub>EDTA), dimercaprol (BAL-British anti-Lewisite), D-penicilamina e o ácido 2,3-dimercaptosuccínico (DMSA-Chemet). O precursor de todas estas drogas utilizadas nesse tipo de tratamento foi um coquetel chamado “antidotum metallorum”, constituído por sulfetos solúveis. Os aminoácidos, especialmente os  $\alpha$ -aminoácidos contendo enxofre e seus ésteres são conhecidos como potenciais agentes de coordenação para íons metálicos, devido a presença dos grupos amino (NH<sub>2</sub>), carboxílico (COO) e carbonila (C=O) em suas estruturas SPRINGER & CURRAN (1963), McAULIFFE *et al.* (1966), TOMA *et al.* (1982). Eles têm sido amplamente estudados (testados) como agentes quelantes com o objetivo de se obter drogas e antídotos fisiologicamente compatíveis no tratamento de envenenamentos agudos causados por ingestão de metais potencialmente tóxicos. A aplicação de D-penicilamina (3-mercaptop-D-valina) é o exemplo mais conhecido da utilização de um  $\alpha$ -aminoácido na terapia contra intoxicações causadas

por envenenamentos com metais. Além da sua ampla aplicação nas intoxicações causadas por Pb(II) e Hg(II) HARDMAM *et al.* (1996), é também empregado com sucesso no tratamento da degeneração hepatolenticular, doença de Wilson. Neste mal hereditário, o acúmulo de cobre provindo da alimentação continua crescendo até atingir níveis letais. Entretanto,  $\alpha$ -aminoácidos sulfurados puros são caros e usados efetivamente na forma injetável. Assim, o desenvolvimento de novas drogas, deve ser centralizado preferencialmente em produtos de origem natural, tendo os mesmos, igual ou maior variedade de grupos funcionais que os aminoácidos sulfurados.

As substâncias húmicas parecem atender pelo menos parte dessas exigências, e podem garantir alta capacidade de complexação, pois possuem grande variedade e número satisfatório de grupos funcionais, principalmente carboxílicos e hidrofílicos para fixar metais AIKEN *et al.* (1985). Baseado nas suas características estruturais, atualmente as SH têm sido usadas terapeuticamente no tratamento de reumatismo. Além disso, excelentes resultados têm sido observados com o emprego das SH como bactericida, fungicida, anti-inflamatório, antiviral NASTOS & GARAGOUNIS (2000). Também, é citado que a administração de humato de sódio em animais reduz a concentração de cádmio em seus órgãos HERZING *et al.* (1994). HAMPL *et al.* (1992), explica resultados encorajadores da terapia com turfas, conhecidas há muito tempo.

O objetivo deste trabalho foi comparar experimentalmente a capacidade de complexação entre as substâncias húmicas extraídas de amostras de solos e os  $\alpha$ -aminoácidos (metionina, sulfóxido de metionina e cloridrato de cisteína) em relação a complexação de espécies metálicas (Al, Cu, Pb, Mn, Zn, Cd e Ni), potencialmente tóxicas e biologicamente ativas e a sua toxicidade em ratos (teste toxicológico DL<sub>50</sub>).

O teste toxicológico DL<sub>50</sub> foi feito usando cinco ratos masculinos adultos da espécie Wistar (pesando entre 180-220g) por nível de dose, nove níveis sucessivos de doses foram testadas, e os valores entre os níveis de doses foram multiplicados pela constante dois. Três experimentos distintos foram utilizados para avaliar a possível toxicidade

das substâncias húmicas. As doses testadas variaram de 2 mg kg<sup>-1</sup> a 512 mg kg<sup>-1</sup>. As observações dos animais e a possibilidade de mortalidade foram determinadas em um período de 72 horas. Após esse período, foi feita eutanásia dos animais e avaliações macroscópicas dos órgãos.

## Resultados e Discussão

A DL<sub>50</sub> oral em ratos para substâncias húmicas é maior que 512 mg kg<sup>-1</sup>. Doses mais altas que 512 mg kg<sup>-1</sup> não foram testadas devido à impossibilidade da administração via oral. Para todos os nove níveis de dose testados não foi observada nenhuma morte. Durante o período de 72 horas após a administração das SH foi observada fezes escurecidas e moles, e após a eutanásia dos animais, nenhuma alteração nos órgãos foi observada.

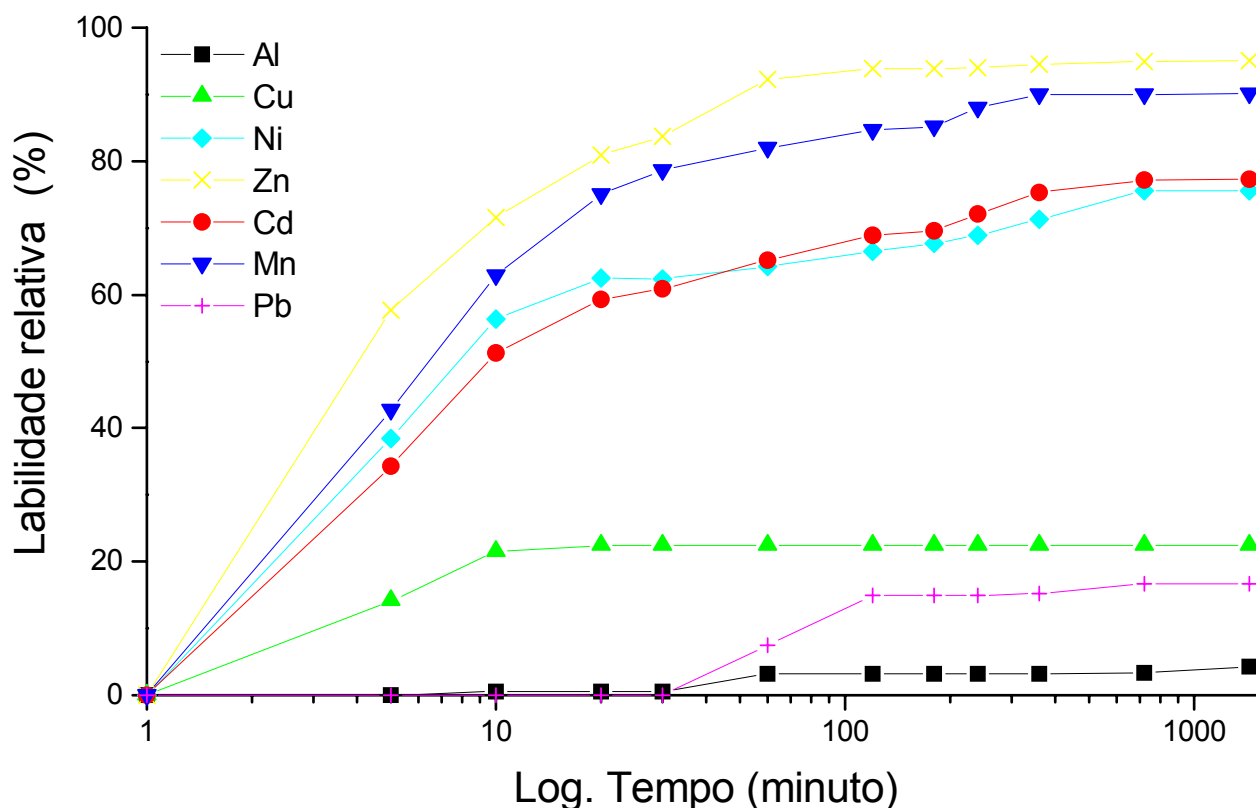
Os resultados dos estudos das capacidades de complexação mostraram que as substâncias húmicas possuem grande afinidade pelos metais potencialmente tóxicos, principalmente pelo íon Al<sup>3+</sup>, formando complexos relativamente estáveis.

A Figura 1 mostra a influência do tempo de contato na labilidade relativa de espécies metálicas.

Competição entre cloridrato de cisteína e SH-Metal, após complexação com substâncias húmicas extraídas de amostras de solos coletadas na micro bacia de drenagem do Reservatório de captação de água superficial Anhumas.

Através do estudo da competição das substâncias húmicas e de aminoácidos por espécies metálicas pode-se comprovar a alta seletividade e afinidade das substâncias húmicas frente a metais potencialmente tóxicos.

De acordo com esses resultados, pode-se estabelecer as seguintes ordens de afinidade dos íons metálicos pelas SH em comparação com os  $\alpha$ -aminoácidos: Metionina: Al > Pb > Cu > Cd > Ni > Mn > Zn; Sulfóxido de metionina: Al > Pb > Cu > Ni > Cd > Zn > Mn; Cloridrato de cisteína: Al > Pb > Cu > Ni > Cd > Mn > Zn. O complexo formado entre as SH e metais tem estabilidade variada para cada metal, sendo mais elevada para os metais potencialmente tóxicos. Essa estabilidade é determinada por uma série de fatores, incluindo o número de átomos que formam a ligação com o metal, a natureza e a concentração do íon metálico, concentração de SH, pH, tempo de complexação.



**Figura 1** – Influência do tempo de contato na labilidade relativa de espécies metálicas. Competição entre cloridrato de cisteína e SH-Metal, após complexação com substâncias húmicas extraídas de amostras de solos coletadas na micro bacia de drenagem do Reservatório de captação de água superficial Anhumas. Condições: SH 0,10 mg mL<sup>-1</sup>; Cd, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn 0,20 mg; 24 h de complexação SH-Metal; pH 5,0; cloridrato de cisteína 5,27 mg.



## Conclusões

Os resultados preliminares mostram uma característica clinicamente importante das substâncias húmicas. Estas podem ser consideradas um agente complexante relativamente seletivo e de alta capacidade complexante em relação aos íons metálicos Al, Pb e Cu. Logo, após estudos complementares, podem ser uma terapia alternativa interessante a ser aplicada, por exemplo, em casos de envenenamentos agudos (Pb) e crônicos (Pb, Cu). Por terem tamanho molecular elevado, diferentemente da maioria dos antídotos convencionais, as substâncias húmicas provavelmente atingirão a corrente sanguínea em concentrações menores que esses, pois têm dificuldade de atravessar a membrana que reveste o sistema gástrico. Entretanto, futuras investigações são necessárias para esclarecer em detalhes possíveis aplicações das substâncias húmicas como fármacos em terapias contra intoxicação por metais. A sua utilização fica ainda mais atrativa devida sua abundância no ambiente e o baixo custo requerido na sua extração.

## Referências Bibliográficas

- ROZEMA, T. Toxicidade de metais em humanos. **Revista de Oxidologia**, v. 7, n. 6, p. 22-29, 1998.
- MASSABNI, A.C.; MELNIKOV, P.; CORBI, P.P.; CAVICCHIOLI, M. O chumbo e seus antagonistas. **Revista de Oxidologia**, v. 3, n. 8, p. 21-23, 1999<sup>a</sup>.
- SPRINGER, M. P. CURRAN, C. Infrared spectra of complexes of metal halides with esters of amino acids. **Inorganic Chemistry**, v. 2, n. 6, p.1270-1275, 1963.
- MCAULIFFE, C. A.; QUAGLIANO, J. V.; VALLARINO, L. M. Metal complexes of amino acid DL-methionine. **Inorganic Chemistry**, v. 5, n. 11, p. 1996-2003, 1966.
- TOMA, H. E.; BATISTA, A. A.; GRAY, H. B. Pentacyanoferrate(II) complexes of amino acids. **Journal American Chemical Society**, v. 104, p. 7509-7515, 1982.
- HARDMAM, J. G.; GILMAN, A. G.; LIMBIRD, L. E. **The pharmacological basis of therapeutics**. 9.ed. New York, McGraw-Hill, 1649 p., 1996.
- AIKEN, G. R.; MCKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L.; MCCARTHY, P., eds. **Humic substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation, and characterization**. New York, John Wiley, p. 692, 1985.
- NASTOS, V.; GARAGOUNIS, M. Moorthérapie 2000: peat therapy on it's way into the next millenium. In: BEER, A.M.; LÜTTIG, G.; LUKANOV, J., eds. **Bad Kissinger, Book of Abstracts**. p. 202, 2000.
- HERZING, I.; HAMPL, J.; DOCEKALOVA, H.; PISARIKOVA, B.; VLCEK, J. The effect of sodium humate on cadmium deposition in the chicken organs. **Veterinarni Medicina**, v. 39, n. 4, p. 175-185, 1994. In: Web of Science. Disponível em: <<http://www.webofscience.fapesp.br>> Acesso em : 19 Dez. 2001.
- HAMPL, J.; STEPANEK, J.; NEZVAL, J.; CERNIK, J.; SKROBAK, F. Incorporation of sodium humate into liposomes and their penetration through the skin in piglets. In: **INTERNATIONAL MEETING INTERNATIONAL HUMIC SUBSTANCES SOCIETY, 6.**, Bari 1992. **Abstracts**. Bari, Instituto de Chimica Agraria. p. 332, 1992.

## Manejo da matéria orgânica no Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA – “Fazendinha Agroecológica km 47”)

José Antonio Azevedo Espindola<sup>1\*</sup> (PQ), José Guilherme Marinho Guerra<sup>1</sup> (PQ), Dejair Lopes de Almeida<sup>1</sup> (PQ), Raul de Lucena Duarte Ribeiro<sup>2</sup> (PS).

<sup>1</sup>Pesquisador Embrapa Agrobiologia, BR 465, km 07, Caixa Postal 74505, CEP 23890-000, Seropédica, RJ. <sup>2</sup>Professor UFRRJ, Departamento de Fitotecnia, BR 465, km 07, CEP 23851-970, Seropédica, RJ. \*e-mail: jose@cnpab.embrapa.br

Palavras Chave: Agricultura orgânica, adubação verde, compostagem

### Introdução

Dentre todas as atividades humanas, a agricultura é uma das que causam maiores alterações no meio ambiente. Geralmente, a relação entre agricultura e natureza apresenta duplo sentido, pois ao mesmo tempo que a agricultura afeta fortemente a natureza, também é afetada por ela.

Ao longo de milhares de anos, diversas civilizações realizaram uma agricultura baseada no manejo dos materiais disponíveis nas proximidades das áreas cultivadas. Dentre esses materiais, destacavam-se aqueles de origem orgânica (tais como esterco, composto e resíduos vegetais), possibilitando a ciclagem de nutrientes associada à melhoria da qualidade do solo.

No decorrer do século XX, inovações tecnológicas trazidas pelo avanço das indústrias química, mecânica e de melhoramento genético impulsionaram a produção mundial de alimentos para valores nunca antes alcançados. No entanto, o conjunto dessas inovações, que originou a chamada agricultura convencional, trouxe também reflexos negativos: erosão e contaminação de solos e mananciais, bem como contaminação de alimentos e problemas de saúde para trabalhadores rurais e consumidores<sup>1</sup>.

Como alternativa a esses problemas, têm sido propostos sistemas de produção agrícola menos agressivos ao meio ambiente. Nesse sentido, a agricultura orgânica merece destaque. A crescente demanda por produtos orgânicos levou o Ministério da Agricultura a lançar a Instrução Normativa 07, de 1999, onde aparece o seguinte conceito de sistema orgânico de produção:

“Considera-se sistema orgânico de produção agropecuária e industrial, todo aquele em que se adotam tecnologias que otimizem o uso de recursos naturais e sócio-econômicos, respeitando a integridade cultural e tendo por objetivo a auto-sustentação no tempo e no espaço, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energias não renováveis e a eliminação do emprego de agrotóxicos e outros insumos artificiais tóxicos, organismos geneticamente modificados – OGM/transgênicos ou radiações ionizantes em qualquer fase do processo de produção, armazenamento e de consumo, e

entre os mesmos, privilegiando a preservação da saúde ambiental e humana, assegurando a transparência em todos os estágios da produção e da transformação”.

Nesse novo enfoque, a fertilidade do solo passa a considerar não apenas os nutrientes presentes na solução do solo, mas também aqueles contidos nos microrganismos, na fauna do solo e na biomassa vegetal<sup>2</sup>. Merece destaque a importância do componente animal nos sistemas orgânicos de produção, pois permite otimizar a ciclagem de nutrientes através do aproveitamento dos resíduos vegetais na alimentação do rebanho, enquanto os resíduos animais passam a ser empregados como fertilizantes. Além da aplicação direta do esterco nas áreas cultivadas, é ainda possível processá-lo, através da compostagem, transformando-o em material quimicamente estável e de alta qualidade<sup>3</sup>.

Apesar da importância dos fertilizantes de origem animal, seu uso é limitado em muitas regiões agrícolas pela dificuldade de obtenção e transporte do esterco. Em tais condições, recomenda-se o cultivo de espécies vegetais conhecidas como adubos verdes, cujos resíduos são adicionados ao solo. Dentre as espécies empregadas para adubação verde, as leguminosas merecem destaque pela elevada produção de biomassa e capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, através da associação com bactérias diazotróficas<sup>4</sup>.

Dentro desse contexto, o presente artigo tem como objetivo apresentar os princípios do manejo da matéria orgânica adotado no Sistema Integrado de Produção Agroecológica.

### A Experiência do SIPA

Em 1993, foi implantado o Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA – “Fazendinha Agroecológica km 47”), através de convênio firmado entre a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Agrobiologia e Embrapa Solos), a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e a Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (Estação Experimental de Seropédica). Localizado no município de Seropédica, Região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro, ocupa uma área de aproximadamente 70 ha. O clima da região é quente e úmido, com temperaturas amenas durante o inverno. A média



anual de precipitação pluviométrica gira em torno de 1.200 mm, concentrando-se de setembro/outubro a março. Os solos são classificados como Argissolos Vermelho-Amarelos e Planossolos, ambos de baixa fertilidade natural.

O SIPA constitui, fundamentalmente, um espaço para a pesquisa em agricultura orgânica, focada na multi e interdisciplinaridade, buscando-se compreender as relações próprias de um sistema complexo de produção. Para tanto, foram considerados como alicerces desse sistema: a diversificação vegetal com preservação da paisagem local, a integração agricultura-pecuária e a máxima utilização do processo de fixação biológica de nitrogênio através do cultivo de leguminosas. A estruturação do SIPA visa à exploração racional das potencialidades regionais, contribuindo para a sustentabilidade no meio rural. Dentre as prioridades selecionadas, destacam-se:

- Otimizar a ciclagem de nutrientes;
- Minimizar perdas de solo e nutrientes pela redução das operações de preparo das áreas de plantio e pela intensificação do uso de plantas de cobertura;
- Manter o equilíbrio nutricional das plantas e evitar situações de estresse, de modo que seus mecanismos naturais de defesa não sejam alterados e possam se manifestar;
- Manter as populações de fitoparasitas e ervas espontâneas em níveis toleráveis, sem o emprego de técnicas que representem impactos negativos de natureza ecotoxicológica;
- Enfatizar a inclusão de espécies arbóreas no sistema;
- Estabelecer práticas alternativas de manejo de plantéis de bovinos e aves;
- Realizar, através de pesquisadores de diferentes áreas (Solos, Fitotecnia, Zootecnia, Fitossanidade, Silvicultura, Sanidade Animal, dentre outras) monitoramento científico dos diversos componentes do SIPA.

O manejo da fertilidade do solo foi iniciado com a correção da acidez através da incorporação de calcário dolomítico, em quantidades baseadas nos resultados das análises de solo em cada gleba. Além disso, também foi aplicado gesso agrícola, levando-se em consideração que os solos apresentavam baixos teores de matéria orgânica e, conseqüentemente, de S.

Hortaliças e cereais são regularmente adubados com esterco bovino e “cama” de aviário. As fruteiras recebem esses mesmos insumos aplicados nas covas de plantio e, mais tarde, em cobertura. Além do esterco, também é feito o aporte de P e K às culturas, mediante aplicação de farinha de ossos, termofosfato e cinzas de lenha, também de acordo com os resultados das análises de solo.

O emprego de leguminosas para adubação verde tem proporcionado bons resultados, sendo realizado

na forma de pré-cultivos<sup>5</sup> ou de consórcios<sup>6</sup>. As leguminosas herbáceas mais usadas são espécies de crotalária e mucuna, além de feijão de porco, guandu, caupi e amendoim forrageiro. Leguminosas arbóreas, como gliricídia e eritrina, são integradas ao sistema na forma de “moirões vivos”, consorciadas a pastagens, ou em sistemas agroflorestais.

A manutenção de níveis satisfatórios de fertilidade do solo tem sido alcançada através de práticas culturais destinadas a reduzir perdas de nutrientes por erosão ou lixiviação. Um estudo constatou que a maioria das espécies de hortaliças cultivadas no SIPA apresenta um balanço de nutrientes positivo, ou seja, ocorre maior entrada de nutrientes do que sua saída<sup>7</sup>. Uma das práticas que contribui para esse resultado consiste na utilização de cobertura viva do solo, seja com a própria vegetação espontânea ou através da introdução de leguminosas<sup>8</sup>. A disposição de árvores frutíferas em curvas de nível também traz efeitos benéficos, tanto na proteção do solo contra erosão como na formação de quebra-ventos. Coqueiro anão, variedades cítricas, pupunheira e acerola acham-se dispostos em cordões espaçados de 20 m, constituindo aléias para as culturas anuais.

Como resultado do manejo orgânico adotado, os alimentos produzidos revelam excelente qualidade. Por exemplo, os teores de nitrato medidos em hortaliças do SIPA mostraram-se significativamente inferiores àqueles contidos nas mesmas espécies produzidas convencionalmente e comercializadas na CEASA-RJ<sup>9</sup>. Essa informação torna-se relevante na medida em que tal forma de nitrogênio é facilmente transformada em nitrito, podendo levar, em alguns casos, a sérios problemas toxicológicos<sup>10</sup>.

Além de gerar resultados de pesquisa, as técnicas utilizadas no SIPA têm sido transferidas a produtores, extensionistas, estudantes, professores e pesquisadores que visitam a área, ou através de dias de campo, aulas práticas, palestras e estágios. Dessa forma, ocorre uma contribuição para a difusão da agroecologia.

<sup>1</sup> Neves, M.C.P.; Medeiros, C.A.B.; Almeida, D.L. de; De-Polli, H.; Rodrigues, H. da R.; Guerra, J.G.M.; Nunes, M.U.C.; Cardoso, M.O.; Azevedo, M. dos S.F.R.; Vieira, R. de C.M.T.; Saminêz, T.C. de O. *Agricultura orgânica: instrumento para a sustentabilidade dos sistemas de produção e valoração de produtos agropecuários*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2000. 22p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 122).

<sup>2</sup> Feiden, A. *Conceitos e princípios para o manejo ecológico do solo*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2001a. 21p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 140).

<sup>3</sup> Gliessman, S.R. *Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável*. 2.ed. Porto Alegre: Editora da Universidade, 2001. 653p.

<sup>4</sup> Espindola, J.A.A.; Guerra, J.G.M.; De-Polli, H.; Almeida, D.L. de; Abboud, A.C. de S. *Adubação verde com leguminosas*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 49p.

<sup>5</sup> Oliveira, F.L. de. *Manejo orgânico da cultura do repolho (Brassica oleracea var. capitata): adubação orgânica, adubação verde e*

consorciação. Seropédica: UFRRJ, 2001. 88p. (Dissertação de Mestrado).

<sup>6</sup> Ribas, R. G. T.; Junqueira, R. M.; Oliveira, F. L. de; Guerra, J. G. M.; Almeida, D. L. de; Ribeiro, R. de L. D. *Manejo da adubação verde com crotalária no consórcio com o quiabeiro sob manejo orgânico*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003. 4 p. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado Técnico, 59).

<sup>7</sup> Salgado, J.A. de A.; Almeida, D.L. de; Guerra, J.G.M.; Ribeiro, R. de L.D.; Sudo, A. *Balanço de nutrientes em cultivos de hortaliças sob manejo orgânico*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1998. 9p. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado Técnico, 21).

<sup>8</sup> Almeida, D. L. de; Guerra, J. G. M.; Ribeiro, R. de L. D. *Sistema integrado de produção agroecológica: uma experiência de pesquisa em agricultura orgânica*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003. 37 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 169).

<sup>9</sup> Braga, R.M. *Monitoramento dos teores de nitrato e amônio no solo e em hortaliças produzidas sob manejo orgânico*. Seropédica: UFRRJ, 1997. 168p. (Dissertação de Mestrado).

<sup>10</sup> Araújo, A.C.P.; Midio, A. Nitratos, nitritos e compostos N-nitrosos em alimentos: onde está o problema? *Ciência e cultura*, São Paulo, v.11, n.10, p.947-966, 1989.

## Considerations of compositions and structures of humic substances

Michael H.B. Hayes

Chemical and Environmental Sciences, University of Limerick, Ireland, e-mail: Michael.h.hayes@ul.ie

### Introduction

Soil organic matter (SOM) is fundamental to the environments for plants, animals and people. The roles it has in the soil environment are well documented (reviewed in Clapp et al., 2005). More recently its importance in relation to global warming, or the greenhouse effect is being recognised. It is now accepted that human activity, both agricultural and industrial, has created an imbalance between global sinks and sources of C, giving rise to increases in atmospheric gases. Soil management is important in relation to the role of soils as sources and sinks of C in the environment, and hence it is important in terms of global warming issues (Lal et al., 1995).

The term SOM can cover all of the organic components in soils. However, the term humus refers to the components of SOM that have been so transformed that they bear no morphological resemblances to the materials of origin. Hayes and Swift (1978) subdivided these 'humified' materials into:

(1) Amorphous, polymeric, brown coloured humic substances which are differentiated on the basis of solubility properties into humic acids, fulvic acids, and humins;

(2) Compounds belonging to recognizable classes, such as polysaccharides, polypeptides, altered lignins, etc. These can be synthesized by microorganisms or can arise from modifications of similar compounds in the original debris.

The classical definitions consider humic substances (HS) to be "a series of relatively high molecular weight, yellow to black coloured substances formed by secondary synthesis reactions" (Stevenson, 1994), and "a category of naturally occurring, biogenic, heterogeneous organic substances that can generally be characterized as being yellow to black in color, of high molecular weight, and refractory" (Aiken et al., 1985). These definitions are vague and, on the basis of the information that is emerging, and will be outlined here, may be considered to be obsolete. Nonetheless, the subdivision outlined is useful for purposes of classification.

There is increasing interest in the presence of black carbon (arising from the incomplete combustion of organic materials) in SOM. This interest has been highlighted by the dramatic effects that char has in the fertility of the Terra preta soils, and it may well have considerable influences on the

fertility of the black Mollisol soils in the Mid-Western States of the USA.

This paper will outline modern procedures for the isolation and fractionation of the organic components of soils, and the information which is emerging with regard to the compositions and aspects of the structures of some of these. Such information is important because the amounts and compositions of the organic components of soil will be influenced, among other things, by the soil minerals, the moisture and drainage regimes, the pH, the temperature, and the soil biota.

### Isolation and fractionation of soil organic components

There are objectors to the isolation of the organic components of soils. In their view any procedure, and especially any chemical procedure that might be used will alter aspects of the compositions of the organic components. They would claim that any such studies should work with the organic matter in its natural soil environment. Such advocates are known as '*Lumpers*'. On the other hand those who use chemical methods for the isolation and fractionation of the organic components are known as '*Splitters*'. With the development of modern nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy procedures it is now possible to obtain significant information about the compositions of organic materials in soils, but detailed structural awareness will require isolation and fractionation procedures that will give components that have a reasonable degree of homogeneity. Because HS and the other major components of SOM are mixtures it is unlikely that it will be possible to isolate major components that satisfies the criteria for chemical purity.

Hayes (1985) and Clapp et al. (2005) have reviewed and discussed procedures and the principles involved in the isolation of HS from soils. Aachard (1786) introduced aqueous alkali as a solvent for HS, and it was Sprengel (1826) who initiated fractionation on the basis of solubility characteristics in aqueous media. Such classification on the basis of solubility properties is purely operational and cannot be regarded as having any distinct compositional or structural significance. *Humic acids* are the components of HS that are soluble in base but precipitated in acidic media at pH 1. (Water chemists use pH 2 as the cut off, and effectively all of the precipitable components are precipitated at this pH.) However, there are many non-humic materials (such as some proteins, for example) that are precipitated under similar

conditions. In the classical definitions *fulvic acids* are the components of the alkaline extracts that remain in solution after the medium is acidified. Clearly that fraction would also contain many of the components of humus that belong to recognizable classes as mentioned above. Thus the term *fulvic acid fraction* is now used to describe the materials that remain in solution in the acidified medium. The fulvic acid (FA) fractions from which the standard and reference FAs of the International Humic Substances Society (IHSS) were obtained were passed onto XAD-8 [(poly)methylmethacrylate] resin (Swift, 1996). The polar non-humic (such as saccharides) components are considered to pass through the resin, and the FAs are retained by the resin. *Humin* is the component of HS that is not soluble in aqueous media at any pH value. It is a major component of the soil humic fraction and represents more than 50% of the organic C of soil (Kononova, 1966). Often it is considered to be the component of HS in association with mineral colloids that is not extracted in aqueous base. However, lignin residues that have not been oxidized sufficiently to provide hydratable functionalities in the basic media, as well as algenans, cutans, and suberans can contribute to the humin fraction (Derenne & Largeau, 2001). On the basis of considerations of solubility in aqueous media, any HS material that is extracted in an organic solvent, after exhaustive extraction, in aqueous base can be considered to be humin.

Aqueous alkali, introduced by Achard (1786), are the traditional solvents used to dissolve HS, but consideration is also given to applications of organic solvents, especially for attempts to isolate the humin components.

The acidity or basicity of a solvent system, the ability to hydrogen bond, the relative permittivity, and the dipole moment are important in considering the ability of a solvent system to dissolve a solute. Peripheral properties such as boiling point, viscosity, and density may not affect separations, but a solvent is of little value if the solute cannot be recovered from it, or if recovered with compositional properties different from the material sought.

Hayes (1985) and Clapp et al. (2005) have discussed in detail the properties of several organic solvents with reference to the isolation of HS from soil. Each of the solvents they classified as 'good' has an electrostatic factor (EF, the product of relative permittivity and dipole moment) value greater than 140, but so also has acetonitrile, a poor solvent. The EF should be considered in association with the  $pK_{HB}$  (a measure of the strength of a solvent as an acceptor in hydrogen bonding). 'Good' solvents have a  $pK_{HB}$  value greater than 2, and the low value for acetonitrile indicates that it is incapable of breaking the hydrogen bonds of the  $H^+$ -exchanged HAs. The dipolar aprotic solvents,

dimethylformamide (DMF) and dimethylsulfoxide (DMSO) fulfill these requirements and are good solvents. However, for these to be effective it is important to have the HS in the  $H^+$ -exchanged form, because these are poor solvents for anions (as would apply for the conjugate base of dissociated HS).

Members of the author's group use the following sequences for the isolation and the fractionation of the organic components of soils. Their initial isolations are based on the differences in charge densities that arise from aqueous solvents of different pH values. Soils are exhaustively extracted (after  $H^+$ -exchanging) at pH 7, then at pH 10.6, and at 12.6. At this stage more organic material is recovered by exhaustively extracting with 0.5 M NaOH. Then extraction is continued in 0.1 M NaOH + 6 M urea. (Where alkaline solutions are used, extractions are carried out under  $N_2$  gas, and after extraction is complete the pH is adjusted to 7 – 8). The base and urea are washed out and the clay size fractions are recovered and dried and then extracted with DMSO + concentrated  $H_2SO_4$  (6%). The DMSO/ $H_2SO_4$  is removed using XAD-8 [(poly)methylmethacrylate] resin (vide infra). Aqueous solutions are filtered through 0.2  $\mu m$  pore size filters, and the filtrates are diluted to  $< 50 mg L^{-1}$ , ideally to  $< 20 mg L^{-1}$ , or to a concentration in which there is no evidence for coagulation or precipitation when the pH is adjusted to 2. The situation when coagulation occurs is covered below. However, when the solutions are allowed to stand for prolonged periods molecular associations will take place and precipitation will occur. The solution (at pH 2) is applied to XAD-8 and XAD-4 (styrenedivinylbenzene,) resins in tandem (each equilibrated with 0.01 M HCl). It is appropriate to desalt the materials held on the columns by passing distilled water through the columns until the conductivity is  $< 100 \mu S cm^{-1}$ . The XAD-4 column is then back eluted with 0.1 M NaOH. The eluates are passed through IR-120 resin and the  $H^+$ -exchanged products are freeze-dried. This provides the XAD-4 acids fraction.

There are several possibilities for dealing with the HS sorbed to the XAD-8. One of these could involve desalting and back eluting (NaOH) as described for the XAD-4 acids. The pH of the back eluate when adjusted to 2 (6 M HCl) gives rise to the HA precipitate, and this is allowed to settle at 4 °C, and the FAs are separated by centrifugation. The FA solution is then desalted by passing onto XAD-8 (at pH 2) and washing with distilled water until the conductivity is  $< 100 \mu S cm^{-1}$ . Back elution (with NaOH) follows, and the eluate is passed through IR-120 resin and freeze-dried as described for the XAD-4 acids.

In an adaptation of that procedure the retentates (HAs and FAs) on the XAD-8 resin are back eluted

in NaOH (without desalting) and the pH of the center cut is adjusted to 2, and the remainder of the procedure is the same as that described.

The HAs may be dialyzed to remove salt. This, however, leads to losses of dialyzable materials. Hayes and Graham (2000) have described the use of XAD-8 to desalt and to further fractionate the HA fraction. The HAs are dissolved in dilute (0.1 M) NaOH, and the solution is diluted until the concentration is < 20 ppm. The pH is adjusted to 2, and the solution is applied to the XAD-8 column. It was found that during the desalting process, in the cases of HAs from a fibric peat (of low charge densities), some coagulated materials were washed through. The materials retained on the column were recovered as described for the FAs. The non-solubilized materials that eluted during desalting were redissolved in dilute base, diluted as before, and applied to the XAD-8 column at pH 2.5. Again some coagulated material was recovered during desalting, and the material sorbed by the resin was recovered as before. The process was repeated at pH 3, and again at pH 3.5. All of the remaining material was retained by the column at pH 3.5, and was recovered as described. In this way four HA fractions were obtained. Two fractions were obtained when the HA from a Mollisol soil was fractionated on XAD-8. The NMR spectra indicated that the fractions were compositionally different.

When a solution of HS in DMSO/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> is diluted and applied to an XAD-8 column at the DMSO/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solvent passes through the resin and the HS are sorbed to the resin. Co-extracted saccharides and peptides that are not covalently linked to the humic molecules move with the DMSO/acid. In order to remove the DMSO from the system, the column is washed exhaustively with 0.01 M HCl, then with distilled water. The HS are then recovered in aqueous media as described above.

The materials recovered in the urea/NaOH and in the DMSO/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> extracts would, in the classical definitions be classified as humins. These however, when isolated, satisfy the operational definitions of HAs and FAs. When the clay residues are dissolved in HCl/HF media, the materials recovered have the solubility properties of humins.

### Compositions and considerations of structures

The compositions of HS refer to the component elements, the functional groups and the different types of molecules or 'building blocks' that compose the actual HS molecules. The *elemental composition* is fundamental. It specifies the types of atoms in the compound and their relative abundances. For pure compounds the abundances or the ratios are defined by integral values. Because HS are complex non-stoichiometric mixtures, the

elemental compositions are average values for large assemblies of molecules of different compositions.

The term *structure* describes connectivity in a molecule, but connectivity does not completely define the geometry of a molecule. In order to establish structure it is important to specify configuration. Configuration defines not only the composition and connectivity of the molecule but also the orientations of all bonds in space. In order to establish the molecular structure of a pure compound, the *molecular formula* follows the determination of the elemental composition and the empirical formula. The molecular formula establishes the exact number of each type of atom in the molecule, and can be deduced when the molecular weight (MW) values and the empirical formulae are known. They may be determined directly by mass spectrometry, in the cases of volatile compounds. An 'average' molecular formula can be determined for HS fractions but the value of such determinations is questionable. In the cases of pure substances, the determination of a *structural formula* follows logically that of the molecular formula. The structural formula describes the connectivity in the molecule, or the linkages of the atoms in the molecule, and the nature of the bonds (single, double, etc.). In modern organic chemistry structural formulae are determined by spectroscopic procedures, or by combinations of chemical and spectroscopic processes. *Configuration* indicates how atoms or groups are spatially distributed around dissymmetric centers (such as an asymmetric C), or about a rigid part of a molecule (double bonds, or small saturated rings). In saturated, or partly saturated acyclic systems where rotation around a C to C or other single bonds can take place, the atoms can take up numerous positions in space for brief periods. The term *conformation* is used to denote any one of these numerous possible molecular arrangements.

The elemental compositions of HS can be determined with reasonable precision. These, however, are average values for mixtures of molecules and so a meaningful empirical formula cannot be obtained for a particular HS. Also, the MW values which we have are average values. We know that there are contained in humic mixtures identifiable long chain acids, esters, and hydrocarbons, but these are not classed as humic, even though a case might be made for their inclusion as HS.

Because empirical, and consequently molecular formulae cannot be deduced for humic molecules it is obvious that concepts of configuration and accurate structural formulae cannot be applied. Thus the basic concepts inherent in the definitions of the empirical formula, structural isomerism, and stereoisomerism which are applicable to discrete compounds do not apply for HS, at least on the



basis of what we know at this time. To do so would require that there be biological or genetic control of the synthesis process, and there is no evidence for such.

### Sizes and shapes of humic substances molecules

Classical procedures for determining the MW values of HS used the ultracentrifuge. Swift (1989) has outlined the principles and the procedures employed in ultracentrifugation studies. The analytical ultracentrifuge can be operated in the sedimentation velocity mode and the sedimentation equilibrium mode. Ultracentrifugation and other procedures for determining molecular weight values are discussed by Clapp et al. (2005). The ultracentrifugation process tends to give exaggeratedly high molecular weight values, and these values can be considered to arise from molecular associations during the course of the centrifugation. The concept of molecular associations is receiving wider acceptance since Wershaw (1986, 1993) proposed that HS consist of ordered aggregates of amphiphiles (compounds with hydrophobic stretches, as well as charged or polar centers), composed mainly of altered plant molecular structures that exhibit acidic functionality. The humic molecules would, in this model, be held together by hydrophobic bonding, charge transfer, and hydrogen bonding interactions. Piccolo (2001) has considered that the molecular associations represent a self-assembling supramolecular association of HS arising from the "mutual affinities of certain molecules in aqueous solutions".

Wershaw's model suggests micelle-type associations of molecules in contrast to the polydisperse random coil types of structures that had wide acceptance on the basis of ultracentrifugation studies (Swift, 1989, 1999). However, the classical concept of an ordered micelle would not apply because of the heterogeneity of HS.

Piccolo and his colleagues have provided strong evidence to support the molecular associations concept (Piccolo, 2001; Piccolo et al., 2001). In these studies high pressure (HP) size exclusion chromatography (SEC) avoided high concentrations of organic acids ( $< 0.5 \times 10^{-3} M$ , and high ionic strengths. To a control eluent at pH 7 (0.05 M  $\text{NaNO}_3$ ) was added  $2.0 \times 10^{-6} M$  of either methanol, HCl or AcOH giving pH values of 6.97, 5.54, and 5.69, respectively. The ionic strength did not change ( $I = 0.0506 M$ ). All of the results indicated that the treatments broke humic molecular associations into smaller component molecules. It is relevant to note that when standards of known compositions, such as a neutral polysaccharide and the negatively-charged polyelectrolyte, (poly) styrenesulfonate, were subjected to the same

procedure, elution from the columns were as predicted.

### Degradation studies and inferences

The traditional approach to studies of the molecules that compose HS uses identifications of compounds in digests of chemical degradation reactions. In most degradation reactions the compounds identified in the digests cannot be considered to be the exact component molecules or the 'building blocks' in the humic structures. However, from awareness of the degradation mechanisms, and of the changes that can take place during residence in the digests of the structures released when bonds linking the component molecules are broken, it is possible to get indications of the types of component molecules and of their linkages in the structures. Hayes and Swift (1978) introduced considerations of such mechanistic approaches. More recently, advances in the techniques of pyrolysis gas chromatography mass spectrometry (PyGCMS) are providing similar types of information, although chemical degradation processes still provide the more interpretable data. Striking advances have been made of late in applications of NMR procedures, and these suggest that when better fractionation can be achieved, it will be possible to make complete identifications of some component humic molecules and of their linkages.

Clapp et al. (2005) have provided details of mechanisms involved in hydrolysis, transesterification, reductive, oxidative, and sodium sulphide degradative processes, and they have listed the digest products identified, and given indications of the possible origins in the humic structures of the digest compounds.

Hayes and Swift (1978) suggested the use of sequential degradation reactions for studies of the component molecules in HS, progressing from mild to increasingly reactive reagents. Simpson (1999) used the sequence  $\text{BF}_3$  in methanol transesterification method, followed by  $\text{Na}_2\text{S}$  degradation, followed by oxidation with permanganate when studying the digest products from degradations of HA and FA from podzol soil profiles. Over 30 compounds were identified in the  $\text{BF}_3$  in methanol digests in the cases of the HAs and 15 of these were absent in the FA digests. More than 50% of the products identified in the HA digests were dicarboxylic esters, and the  $\text{C}_9$  parent dicarboxylic acid accounted for 25-30% of these. The profile for the FA was different. No  $\text{C}_6$ - $\text{C}_9$  dicarboxylic acids were detected in the FA digests, and esters of  $\text{C}_4$  and  $\text{C}_5$  diacids accounted for about 20% of the products (compared with about 7% in the cases of the HAs). Short chain dicarboxylic acids are known to accumulate in the soil as products of multistage breakdown of longer chain hydrocarbons.

It is known that hydrocarbons with 7 carbons in the chain have a degree of resistance to breakdown, and that might explain the relative abundance of  $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$  in the HA digests of degradations with  $\text{BF}_3$ . Its absence in the FA digests might be attributed to solubility in the aqueous media. The importance of such acids in the HS of the soils used in this study has been emphasized in a separate study where NMR was used (Simpson et al., 2001).

Bull et al. (2000) suggest that short chain (<C-20) n-alkylcarboxylic acids are derived from both aerial and sub-aerial vegetation. They ascribe suberin as the predominant source of longer-chain n-alkylcarboxylic acids, and consider that  $\omega$ -hydroxycarboxylic acids and dicarboxylic acids are derived predominantly from inputs of free extractable polyesters and suberin intimately associated with plant roots. They stress the importance of root material as a predominant source of aliphatic organic acids.

The aromatic compounds identified were contained in the HA and FA digests, and the esters of benzoic acid and of 3-phenylbutanoic acid were most abundant. The latter composed 14% of the products identified in the FA digests.

A total of 26 products were identified in the HA digests from the  $\text{Na}_2\text{S}$  degradation, and 14 of these were in the FA digest. The major products were aliphatic and similar to those liberated by  $\text{BF}_3$  in methanol. About 50% of the identified HA digest products were the methyl esters of linear  $\text{C}_4$  to  $\text{C}_9$  dicarboxylic acids. Succinic acid accounted for about 18% of the identified HA digest products and about 37% of those from the FA digests, glutaric and adipic acids accounted for about 14% and 10%, respectively, of the products in the HA digests, but both were absent from the FA digest. Branched chain diesters, mainly the  $\beta$ -methyl derivatives of succinic acid (2-methylbutanedioic and 2-ethylbutanedioic acids) accounted for 24% of the HA and 40% of the product in the FA digest, but it is likely that these were formed from the succinic acid product in the digest. The shorter chain,  $\text{C}_4$  to  $\text{C}_6$  dicarboxylic acid esters dominated the digest products of the HAs, and not the  $\text{C}_7$  to  $\text{C}_9$  acids as in the case of the  $\text{BF}_3$  in methanol digests. A number of longer chain fatty acids esters [ $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOCH}_3$ , where  $n \geq 15$ ] were in the digests. It is likely that these were derived from free fatty acids associated with the soil HS and are known to make significant contributions to the SOM.

The esters of benzoic, phenylethanoic, and phenylpropanoic acids accounted for up to 30% of the digest products of the HAs and 18% of those in the FAs.

Only a small amount of residue was left for digestion with  $\text{KMnO}_4$  following the  $\text{Na}_2\text{S}$  degradation. That would suggest that the first two

steps were effective in releasing the component molecules from the podzol HA and FA samples studied. Thirty compounds were identified in the  $\text{KMnO}_4$  digests of the HAs, but only six of these were contained in the FA digest. Long chain fatty acids were in all of the HA digests, and these were likely of plant origin. The major products identified were benzenecarboxylic acids. Benzene 1,2,4-tricarboxylic acid composed 50 to 65% of the products identified in the HA and FA digests. Benzene 1,2,4,5-tetracarboxylic acid composed 33% of the remainder of the compounds detected in the FA digest. Phthalic acid (benzene 1,2-dicarboxylic acid) was second in abundance in the HA digest components (28%). Other phthalate compounds were detected, and these might have arisen from plasticizers.

### Pyrolysis Degradation Processes

Pyrolysis (Py) procedures are increasingly used for studies of the component molecules of HS. Because of the large energy inputs in Py processes, most of the components of pyrolyzed materials are drastically altered from the structures that gave rise to these in the parent materials. Recently Hatcher et al. (2001) have given an excellent well-referenced review of pyrolysis techniques and results, and other relevant recent reviews have been provided by Leinweber and Schulten (1999) and Kögel-Knabner (2000).

It has been stressed above that the products identified in the digests of chemical degradation reactions are not the same as those that compose the HS and SOM molecules, especially in cases where high energy inputs are used. It was pointed out that by taking account of the degradation mechanisms involved, useful predictions could be made of the precursors of the products identified. The same principles apply for considerations of products from Py processes. Py products can give considerable broad-based information with regard to the possible origins of Py products. For example, hydroxyl- and methoxybenzene pyrolyzates can be considered to have origins in lignin or lignin-derived precursors, although some of these could also be generated from proteins. Protein/peptide structures can give rise to pyrrole, benzonitrile, and indole, and furan, methylfuran and dimethylfuran, furfural, and methylfurfural structures are likely to arise from carbohydrates. Py-FIMS, as used by Schnitzer and Schulten (1992) for studies on a whole podzol gave abundant evidence for carbohydrates through identifications of pyrolysis degradation products such as furfural from pentoses, and hydroxymethylfurfural from hexose sugars. Schnitzer (2000) has summarized data to show the dominance in the podzol pyrolyzates of carbohydrate fragments, lignin fragments (monolignins and dilignins), and long chain (suberin-

derived) esters, and n-C<sub>10</sub> to n-C<sub>18</sub> alkyl diesters. There was also evidence for alkylbenzenes ranging from m/z = 442 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>C<sub>26</sub>H<sub>53</sub>) to m/z 470 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>C<sub>28</sub>H<sub>57</sub>). Hatcher et al. (2001) have stressed how the high temperature degradation process involved in pyrolysis can give an overabundance of alkanes and alkylbenzenes. The alkylbenzenes can arise from cyclization and aromatization processes involving an aliphatic group containing at least one functionality. Because pyrolysis decarboxylates fatty acids, alkanes and alkenes result. N-containing compounds, with possible origins in peptide structures were also identified.

Challinor (1995) introduced the tetramethylammonium hydroxide [(H<sub>3</sub>C)<sub>4</sub> N<sup>+</sup>OH<sup>-</sup>, TMAH] thermochemolysis GC/MS procedure for characterization of wood, and Hatcher et al. (1995) introduced it for studies of HS. This is a one-step derivitization and degradation technique in which labile C—O bonds are cleaved. It is a base catalyzed reaction at high temperatures. Acidic protons in carboxyl and phenolic-OH functionalities are replaced by the CH<sub>3</sub> (to give methyl ester and methoxyl groups, respectively), and esters are transesterified to the methyl ester, and the volatile products are separated and analyzed by GC/MS. The technique can be applied on-line (where the TMAH is added directly to a pyrolyzer linked to a GC/MS system, or off-line (where, for example, the reaction is carried out in sealed ampoules). Refer to Hatcher et al. (2001) for a discussion of the process, for the presentation of a TMAH profile for a streamwater DOM, and a listing of products in the pyrogram of uncertain origins. They list also products from carbohydrate and lignin precursors, as well as N-containing compounds, and alkanes.

### Spectroscopy studies of composition and structure

Comprehensive reviews have been presented on the application of various spectroscopic techniques to the characterization of HS (see Part II, Spectroscopic Studies of the Structures of Humic Substances, Chapters 9 to 14, in Hayes et al. 1989).

Solid-state NMR, in particular the experiment known as Cross Polarization Magic Angle Spinning (CPMAS), has been the most widely applied NMR procedure in humic studies. The primary advantage it has over solution-state NMR is that some SOM is insoluble in the solvent systems that can be used, and can only be analyzed effectively in the solid state. Recent developments in solid state NMR, such as Dipolar Dephasing and Chemical Shift Anisotropy (CSA) procedures allow determinations of the extents of aromatic substitution in humic fractions, and more accurate determinations of the contributions of carbohydrates to the compositions because the anomeric C resonance can now be distinguished without interference from overlapping

resonances from flavanone, tannin, and lignin interferences.

Where reasonably well fractionated humic materials are available, considerable information can be obtained from modern liquid state NMR procedures. Simpson et al. (2001a) summarized the major components in an XAD-fractionated FA as follows:

- (a) Mono- and di-carboxylic acids in approximately equal amounts, to which can be assigned chain lengths of primarily 6, 7 or 10 C atoms. These are the major components in the sample;
- (b) Smaller amounts, about 10 to 20% of the amounts of acids, comprised of esters and alcohols or ethers;
- (c) Some carbohydrate and amino acid residues, most likely to be in the form of chains; and
- (d) Very small amounts of 1,2-, 1,4-, and 1,3,4-substituted benzenes and cinnamic acids.

More recent studies using conventional multidimensional experiments coupled with liquid chromatography, which is a part of a newly expanding class of technology referred to as hyphenated-NMR, diffusion ordered spectroscopy (DOSY), and 3-D NMR spectroscopy, have shown that non-fractionated soil organic extracts are comprised mainly of lignin, carbohydrate, peptide, and aliphatic residues that are not cross-linked (Simpson et al., 2001b; Simpson et al., 2002). These findings have led to a description of humic materials as a mixture of extractable soil components, which accrue from the microbial and vegetative inputs of a specific locale.

There are a variety of multi-dimensional NMR experiments that have been successfully applied to the study of HS (see the review by Simpson, 2001). These include TOtal Correlation Spectroscopy (TOCSY), COrrrelation Spectroscopy (COSY), Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY), Heteronuclear Single Quantum Coherence (HSQC), Heteronuclear Multiple Bond Connectivity (HMBC), and HSQC-TOCSY. The interpretation of results from these techniques has been presented in far greater detail elsewhere and is largely beyond the scope of this chapter (Simpson 2001; Simpson et al., 2001a). The collective evidence from these results allows the assignment of many of the structural connectivities in HS. Common structural components in many soil extracts identified by solution state NMR include peptides (Simpson et al., 2002), carbohydrates (Simpson et al., 2001a), aliphatic species derived from cuticles. These components combined represent the major constituents in many soil extracts (Simpson et al., 2002). However, knowledge is missing of the exact



chemical composition of the different species present.

It is logical to expect the major components in SOM to have plant and microbial origins because of the abundance and the influences of these in the soil environment. However, NMR findings to date do not rule out the presence of novel structural components formed by chemical and/or biological transformations of organic matter in the soil environment. If present, novel structures are likely to be at lower concentrations than those with origins directly attributable to parent materials that continually enter the soil and are readily identified in NMR studies. However, should novel structures be isolated and identified in the future, the awareness of these will have a significant impact on our knowledge of the humification process, and of terrestrial C storage.

Diffusion Ordered Spectroscopy (DOSY) is an NMR technique that employs the principle of molecular separation based on their diffusion properties. The resulting 2-D plot provides a direct correlation between diffusion coefficients ( $D_c$ ) and proton chemical shifts. When applied to HS, the major structural categories show distinctly separate diffusivities (Simpson et al., 2001b). The diffusivities of the aliphatic, carbohydrate, and aromatic components could be clearly distinguished. Were these components bonded into a macromolecular assemblage, they would behave as a rigid unit and display a more or less singular  $D_c$  value. Since that is not what is observed, separation of the structures based on their diffusivities is definitive proof that they are not cross-linked or bound in the same complex. The carbohydrates had the lowest diffusion coefficients in solution and are consistent with fragments of 3 to 8 sugar units (~600 to 1,500 Da; Simpson et al., 2001b). Amino acid signals are observable in individual diffusion-axis slices, and their  $D_c$  values are consistent with polypeptides of up to 10 units, depending on the side-chain substituents. However, it is important to note that in a more recent study, peptide/protein of ~ 12 000 Da in size was observed in a FA from an agricultural soil (Simpson, 2002). The aliphatic components displayed smaller  $D_c$  values than those reported for 1 to 7 C mono- and dicarboxylic acids in aqueous solution, which suggests that aliphatic structures in HS are probably much larger. Simpson et al. (2001b) have shown that monomers, dimers, trimers, and even tetramers of 16 and 18 C fatty esters occur. Such units are common to plant cuticles and therefore represent major inputs into the soil C pool. The conformations of, and the linkages between, the aromatic units have not yet been fully determined. However, comparison with  $D_c$  values of known structures indicate that aromatic structures in HS are comparable to lignin dimers, trimers, and tetramers, and fragments containing

more than 8 units are highly unlikely (Simpson et al., 2001b).

The traditional concept of HS as randomly coiled macromolecules is based on observations of apparent MW values, which can exceed 1 000 000 Da. (Swift, 1989; 1999). There has been recent speculation that the high MW values observed may be explained by the association of small components to form aggregates in aqueous solution with macromolecular-like properties (Piccolo et al., 2001; Wershaw, 1999). This new concept has been confirmed by the NMR experiments described above, and by others (Simpson et al., 2002). That is, the major components found in alkali extractable soil HS are in fact of relatively low MW (<2000 Da), and associate in the presence of metals to form aggregates. While aggregates will likely be "held together" through a complex combination of hydrophobic associations, charge interactions, hydrogen bonds, and metal bridging, it is evident that metal ions play a crucial role in aggregate formation and stability.

## References

- Aachard, F.K. 1786. *Chemische Untersuchung des Torfs*. *Crell's Chem. Ann.* 2:391-403.
- Aiken, G.R., D.M. McKnight, R.L. Wershaw, and P. MacCarthy. 1985. An introduction to humic substances in soil, sediment, and water. p. 1-9. *In* G.R. Aiken et al. (ed.) *Humic substances in soil, sediment, and water: Geochemistry, isolation and characterization*. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Bull I.D., P.F. van Bergen, C.J. Nott, P.R. Poulton, and R.P. Evershed. 2000. Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted classical experiments-V. The fate of lipids in different long-term experiments. *Org. Geochem.* 31:389-408.
- Challinor, J.M. 1995. Characterization of wood by pyrolysis derivitization-gas chromatography/mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 35:93-107.
- Clapp, C.E., M.H.B. Hayes, A.J. Simpson, and W.L. Kingery. 2005. Chemistry of soil organic matter. P. 1-150. *In* M.A. Tabatabai and D.L. Sparks (ed) *Chemistry processes in soils*. SSSABook Series 8, Madison WIS.
- Derenne, S., and C. Largeau. 2001. A review of some important families of refractory macromolecules: Composition, origin, and fate in soils and sediments. *Soil Sci.* 166:833-847.
- Hatcher, P.G., K.J. Dria, S. Kim, and S.W. Frazier. 2001. Modern analytical studies of humic substances. *Soil Sci.* 166:770-794.
- Hatcher, P.G., M.A. Nanny, R.D. Minard, S.C. Dible, and D.M. Carson. 1995. Comparison of two thermochemolytic methods for the analysis of lignin in decomposing wood: The CuO oxidation method and the method of thermochemolysis with TMAH. *Org. Geochem.* 23:881-888.
- Hayes, M.H.B. 1985. Extraction of humic substances from soils. p.329-362. *In* G. Aiken et al. (ed.) *Humic substances in soil, sediment, and water: Geochemistry, isolation and characterization*. Wiley, New York.
- Hayes, M.H.B., and C.L. Graham. 2000. Procedures for the isolation and fractionation of humic substances. p. 91-109. *In* G. Davies and E.A. Ghabbour (ed.) *Humic substances. Versatile components of plants, soils and waters*. Roy. Soc. Chem., Cambridge.
- Hayes, M.H.B., P. MacCarthy, R.L. Malcolm, and R.S. Swift. 1989. Humic substances II. In search of structure. John Wiley and Sons, Inc., Chichester.
- Hayes, M.H.B., and R.S. Swift. 1978. The chemistry of soil organic colloids. p. 179-320. *In* D.J. Greenland and M.H.B. Hayes (ed.) *The chemistry of soil constituents*. John Wiley and Sons, Inc., Chichester.
- Kögel-Knaber, I. 2000. Analytical approaches for characterizing soil organic matter. *Org. Geochem.* 31:1023-1028.

- Kononova, M.M. 1966. Soil organic matter: Its nature, its role in soil formation and in soil fertility. 2<sup>nd</sup> English ed. Pergamon Press, Oxford.
- Lal, R., J.M. Kimble, E. Levine, and B.A. Stewart (ed.) 1995. Soil management and greenhouse effect. Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
- Leinweber, P., and H.-R. Schulten. 1999. Advances in analytical pyrolysis of soil organic matter. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 49:359-383.
- Piccolo, A. 2001. The supramolecular structure of humic substances. *Soil Sci.* 166:810-832.
- Piccolo, A., P. Conte, A. Cozzolino, and R. Spaccini. 2001. p. 89-118. *In* C.E. Clapp et al. (ed.) Humic substances and chemical contaminants. Soil Science Society of America, Madison.
- Schnitzer, M., and H.-R. Schulten. 1992. The analysis of soil organic matter by pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56:1811-1817.
- Simpson, A.J. 1999. The structural interpretations of humic substances isolated from podzols under varying vegetation. PhD diss. University of Birmingham.
- Simpson, A.J. 2001. Multidimensional solution-state NMR of humic substances: A practical guide and review. *Soil Sci.* 166:795-809.
- Simpson, A.J. 2002. Determining the molecular weight, aggregation, structures and interactions of natural organic matter using diffusion ordered spectroscopy. *Magnetic Resonance in Chemistry* 40:S72-S82.
- Simpson, A.J., J. Burdon, C.L. Graham, N. Spencer, M.H.B. Hayes, and W.L. Kingery. 2001a. Interpretation of heteronuclear and multidimensional NMR spectroscopy as applied to humic substances. *Eur. J. Soil Sci.* 35:4421-4425.
- Simpson, A.J., W.L. Kingery, M.H.B. Hayes, M.E. Spraul, E. Humpfer, P. Dvortsak, R. Kerssebaum, M. Godejohann, and M. Hofmann. 2001b. The separation of structural components in natural organic matter by diffusion ordered spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 35:4421-4425.
- Simpson, A.J., W.L. Kingery, M.H.B. Hayes, M. Spraul, E. Humpfer, P. Dvortsak, R. Kerssebaum, M. Godejohann, and M. Hofmann. 2002. The structures and associations of organic molecules in the terrestrial environment. *Naturwissenschaften* 89:84-88.
- Sprengel, C. 1837. *Die Bodenkunde oder die Lehre vom Boden*. Leipzig.
- Stevenson, F.J. 1994. *Humus chemistry: Genesis, compositions, reactions*, 2<sup>nd</sup> ed. John Wiley & Sons, New York.
- Swift, R.S. 1989. Molecular weight, shape, and size of humic substances by ultracentrifugation. p. 467-495. *In* M.H.B. Hayes et al. (ed.) Humic substances II: In search of structure. John Wiley and Sons Inc., Chichester.
- Swift, R.S. 1996. Organic matter characterization. p. 1011-1069. *In* D.L. Sparks (ed.) *Methods of soil analysis, Part 3. Chemical Methods*. SSSA Book Series no. 5. Soil Sci. Soc. Am., Am. Soc. Agron., Madison, WI.
- Swift, R.S. 1999. Macromolecular properties of soil humic substances: Fact, fiction and opinion. *Soil Sci.* 164:790-802.
- Wershaw, R.L. 1986. A new model for humic materials and their interactions with hydrophobic chemicals in soil-water or sediment-water systems. *J. Contam. Hydrol.* 1:29-45.
- Wershaw, R.L. 1993. Model for humus in soils and sediments. *Environ. Sci. Technol.* 27:814-816.
- Wershaw, R.L. 1999. Molecular aggregation of humic substances. *Soil Sci.* 164:803-813.

## Plantio direto, mudança climática e crédito de carbono

**Pedro Luiz Oliveira de Almeida Machado**

*Embrapa Arroz e Feijão*

*Rodovia Goiânia a Nova Veneza, Km 12*

*75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO*

*email: pmachado@cnpaf.embrapa.br*

### Resumo

No Brasil, o sistema plantio direto foi inicialmente introduzido (1978) para se combater a erosão hídrica do solo e este tipo de manejo do solo resultou, em comparação com o sistema convencional de preparo (aração + gradagens), no maior aumento de estoques de carbono pela menor erosão, com simultânea manutenção de boas produtividades, especialmente em anos mais secos.

Com o surgimento do Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL) em dezembro de 1997 (Framework Convention on Climate Change, 1997), e a recente ratificação do Protocolo de Quioto pela Rússia, há a possibilidade de que um novo tipo de mercado internacional seja criado, ou seja, o mercado de carbono. O MDL consiste num procedimento (uma série de atividades documentadas) amparado pelo Potocolo de Quioto, que permite ao governo ou uma entidade de um país, com emissão limitada de gases de efeito estufa, contribuir para a implementação de um projeto para reduzir tais emissões ou aumentar drenos num outro país que não tem obrigações de limitação de emissões (SWART, 2002). Importante lembrar que não serão aceitos projetos MDL que não tenham nenhum benefício direto para a comunidade do país anfitrião envolvida, mês que o projeto resulte em redução de GEE. Maiores detalhes a respeito de MDL, seu funcionamento e possibilidades para sistemas agrícolas brasileiros podem ser obtidos em Machado (2003).

Independentemente da ratificação do Protocolo de Quioto e implementação do MDL, que terá início

em 2008, transações internacionais já vêm ocorrendo em busca de créditos de carbono, nas quais, o valor total nos mercados nacionais dos países da OECD (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico) foi estimado entre US\$350 milhões e US\$500 milhões (ROCHA, 2004). O tipo de projeto mais comum nessas transações, segundo ROCHA (2004), foi o de Uso do Solo, Mudança de Uso do Solo e Reflorestamento (da sigla em inglês: LULUCF) e é exatamente neste tipo de projeto MDL que o sistema plantio direto poderia ser incluído. *Pergunta-se:* O Sistema Plantio Direto (SPD) de grãos (soja, trigo, milho, feijão e arroz) pode ser incluído num projeto MDL? Sabendo-se que o SPD é o procedimento mais eficaz no combate à erosão mantendo altos teores de carbono no solo, combinados com freqüentes produtividades altas das culturas, quais seriam as dificuldades em se obter US\$/tonelada de carbono acumulada no solo?

### Referências Bibliográficas

FRAMEWORK CONVENTION ON CLIMATE CHANGE. Conference of the parties. 3. Kyoto. **Report...** Geneva: United Nations – FCCP/CP. 1997. 60p.

MACHADO, P.L.O.A. **Mecanismo de desenvolvimento limpo (MDL): Funcionamento, pontos críticos e possibilidades para alguns sistemas agrícolas no Brasil.** Rio de Janeiro: Embrapa Solos. 28p. 2003 (Documentos, 41).

ROCHA, M.T. **Mercado de carbono: A contribuição da agropecuária.** Agriannual 2004. Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e AgroInformativos, p. 10-13. 2004.

SWART, R. **Policies and measures as a tool to achieve the objectives of the convention and the Kyoto Protocol.** Disponível em: <http://www.unfccc.de>. Acesso em: 30 janeiro 2002. 2002

## Até aonde irão os químicos com as automontagens moleculares - As automontagens moleculares (estruturas supramoleculares) em química ambiental

Antonio Salvio Mangrich

LABPAM/DQ/UFPR, e-mail: mangrich@quimica.ufpr.br

### Resumo

Nesta palestra serão apresentados os fatos mais marcantes sobre as origens da química moderna, até o desenvolvimento dos conceitos da química supramolecular. Serão mostrados ainda resultados de trabalhos do Laboratório de Projetos e Processos Ambientais (LABPAM) do DQ/UFPR, e de outros Grupos, envolvendo modelos de estruturas supramoleculares. Serão apresentados resultados recentes sobre interações químicas fracas (estruturas supramoleculares) entre estruturas orgânicas e inorgânicas do ambiente.

### Origens da Química

A palavra árabe alquimia, de onde derivou o nome da ciência química, teria tido origem no nome do Egito, em egípcio antigo, *Kemít*, que significava preto, alusão à cor escura do húmus do Vale do Nilo, resultante da matéria orgânica que as enchentes do Rio carregavam das florestas da África para suas margens. Assim, a própria ciência química teria surgido de uma das especialidades da química do solo, o estudo da matéria orgânica no ambiente, ou do húmus (GLACKIN, 1978)

Considera-se que a Química como ciência teve origem com os trabalhos do francês Antoine Laurent Lavoisier, e que a alquimia não era uma ciência. Os conceitos de **molécula** foram definidos e estruturados pelo alemão Friedrich Wohler em 1826. Em 1828 Wohler proporcionou a morte da "força vital", ou do "vitalismo", produzindo uréia a partir do composto inorgânico cianato de amônio. A uréia, até então, era um composto considerado como sendo produzido unicamente pelos rins.

Outro alemão, Henry Sautinger, desenvolveu as idéias sobre **macromoléculas**, estudando as estruturas da borracha, celulose e colóides orgânicos em geral. Pelos seus trabalhos em Química, Física e Técnicas em substâncias macromoleculares, Sautinger recebeu o Prêmio Nobel de Química 1953.

O químico francês Jean-Marie Lehn ganhou, juntamente com os americanos Donald J. Cram e Charles J. Pedersen, o Prêmio Nobel de Química de 1987 pelo desenvolvimento dos conhecimentos sobre **química supramolecular**.

### Química Supramolecular

"A Química Molecular é a mais fiel expressão da ligação covalente. A Química Supramolecular é a "química além da molécula", exigindo o controle das ligações não-covalentes intermoleculares" (LQES, 2005).

Os químicos sintetizam moléculas, que auto-organizadas formam os materiais. Primeiro aprenderam a fazer e desfazer as fortes ligações químicas covalentes, e hoje sintetizam praticamente qualquer molécula que queiram. Nas últimas décadas os químicos deram os passos chaves em aprender as regras fundamentais das ligações não covalentes como ligações de hidrogênio, forças de van der Waals e interações  $\pi$ - $\pi$ . Essas forças sutis tornam possíveis as montagens das estruturas em uma hierarquia cada vez mais complexa. As automontagens moleculares são governadas por reações energeticamente favoráveis (Lehn, J. M. e Ball, P., 2004). Fazendo paralelo entre a química e a literatura, os átomos são as letras da química. São unidades fundamentais e distintas como, H, O, C, mas desprovidas de significado. A molécula é a palavra, já cotem alguma informação. A supramolécula é a sentença. Resulta da associação espontânea de diversas moléculas para, através de automontagem formar um agregado discreto, não covalentemente ligado, e de estrutura bem-definida. É o início da tentativa de desenvolver a química como literatura. A auto-organização polimolecular é o livro. É o ordenamento espontâneo de unidades moleculares ou supramoleculares em estruturas não covalentes de maior ordem, caracterizada por algum grau de ordem temporal e/ou espacial ou, ainda, design – por meio de correlações entre regiões distantes (Lehn, J. M. e Ball, P., 2004).

Uma das conseqüências da poluição orgânica de ambientes aquáticos é a redução de íons Fe (III) a Fe (II). Para fazer simulações sobre automontagens moleculares em presença de excesso de cada um desses íons os ligantes [5,5'-bis(ácido N-metil-hidroxâmico)-2,2'-bipiridina e 5-metil-5'- (ácido N-metil-hidroxâmico)-2,2'-bipiridina (10)] foram sintetizados (Machado, V. G., et al., 2004). Durante a palestra será mostrado que para o tipo de estrutura assimétrica, 5-metil-5'- (ácido N-metil-hidroxâmico)-2,2'-bipiridina, a presença de excesso de íons Fe(II) causaria problemas de formação de isômeros. Serão apresentados outros exemplos

onde a presença de íons metálicos causa a auto-organização molecular (Gonçalves, A.B., et al., 2000, Stainsack, J., 2003), e outros onde o íon metálico desfaz a auto-organização (Gallardo, H., et al., 2004).

Segundo Stephen F. Mason, 1989, talvez a argila da China (Chine Clay) seja o nosso mais antigo ancestral. Em recente publicação, Lombardi, K C et al., 2005, mostraram, por ressonância paramagnética eletrônica (EPR) e espectroscopia fotoeletrônica por raios X, que estruturas orgânicas seqüestradas em argilas (caolnita) são do tipo amida e outras funções orgânicas, o que sugere a presença de proteínas seqüestradas nestas estruturas de caulinita. Este trabalho será apresentado como um novo paradigma na avaliação das estruturas orgânicas mais estabilizadas (seqüestradas) em estruturas ambientais.

## Bibliografia

- <sup>1</sup> GLACKIN, J.J., *Chemistr: The black art?*, J. Chem. Ed., v 53(4), 267.
- <sup>2</sup> [http://lqes.iqm.unicamp.br/institucional/vivencia\\_lqes/vivencia\\_lqes\\_biblioteca\\_supramolecular.html](http://lqes.iqm.unicamp.br/institucional/vivencia_lqes/vivencia_lqes_biblioteca_supramolecular.html)
- <sup>3</sup> Lehn, J. M. e Ball, P., *Química Supramolecular*, in, Neoquímica, Hall, N., Boockman, Porto Alegre, 2004).
- <sup>4</sup> Machado, V. G., Mangrich, A. S., Lehn, J. M., *J. Braz. Chem. Soc.*, 14(5), 777-789, 2003.
- <sup>5</sup> Gonçalves, A.B., Zarbin, A.G. and Mangrich, A. S., *Synthetic Metals* 168(3), p.261-276, 2000.
- <sup>6</sup> Stainsack, J., Mangrich, A. S., Maia, C. M. B. F., Machado, V. G., dos Santos, J. C. P., Nakagaki, S., *Inorg. Chimica Acta* , 356 (2003) 243/248.
- <sup>7</sup> Gallardo, H., Meyer, E., Bortoluzzi, A. J., Molin, F., Mangrich, A. S., *Inorganica Chimica Acta* 357 (2004) 505-512.
- <sup>8</sup> Mason, S. F., *Chemical Evolution*, Oxford Press, Cambridge, 1989.
- <sup>9</sup> Lombardi, K C; Mangrich, A S; Wypych F, Rodrigues-Filho, U P; Guimarães J L; Schreiner W H, *Journal of Colloid and Interface Science*, 2005.



## O estado da arte das pesquisas sobre substâncias húmicas no mundo. Os próximos passos

Ladislau Martin-Neto (PQ)

Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, 1452, Caixa Postal 741, São Carlos, SP,  
e-mail: martin@cnpdia.embrapa.br.

Palavras Chave: *Palestra, substância húmica, visão de futuro.*

### Resumo

A importância do estudo das substâncias húmicas vem crescendo de forma muito significativa, no Brasil e no mundo. Este crescimento deriva de várias questões relevantes e entre elas está também a necessidade de um melhor entendimento sobre o ciclo do carbono no Planeta, o qual está associado ao efeito estufa. A constatação é que com o aumento da concentração de gás carbônico na atmosfera está aumentando o efeito estufa, e por conseguinte potencializando mudanças climáticas no planeta. Portanto é imperiosa a busca por redução na emissão de gases advindos da queima de combustíveis fósseis e das atividades industriais, principalmente nos países industrializados. Naturalmente a redução de queimadas, em particular de florestas também é altamente desejável. Com a adoção do Protocolo de Kyoto renasceram as esperanças que alguma mudança relevante possa ocorrer nos países desenvolvidos, ainda que os Estados Unidos, país com maior emissão, não tenha aderido formalmente. Contudo, neste momento, devido a outros limitantes, advindos inclusive de eventos, provavelmente associados a mudanças climáticas, o Presidente daquele país solicita economia no consumo do petróleo. Assim, o caminho da redução das emissões dos chamados gases do efeito estufa, onde o principal componente é o gás carbônico é um importante desafio a ser buscado pela humanidade. De qualquer forma as chamadas ações mitigadoras do efeito estufa não devem ser desprezadas e, conectado ao estudo de substâncias húmicas, o seqüestro de carbono no solo, tem um potencial importante no Brasil, graças a sua dimensão continental, com relevantes atividades agrícolas e pastoris, e com indicativos de acúmulo de carbono em áreas sob plantio direto e pelo sistema radicular de gramíneas. Assim a importância em vários aspectos ambientais, amplamente debatidos sobre complexação com metais pesados e pesticidas, vinculação a formação de trihalometanos em águas, o tema da dinâmica de compostos orgânicos, como as substâncias húmicas, no solo e águas ganharam ainda maior apelo. Assim neste trabalho serão abordados aspectos tradicionais e desafiantes das pesquisas com substâncias húmicas bem como as

oportunidades mais recentes vinculadas a mitigação do efeito estufa.

Em Julho de 2004 o Brasil, através do Grupo Brasileiro na Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS), organizou e sediou o "XII International Meeting of IHSS", onde estiveram presentes muitos dos principais especialistas do mundo na área, com aproximadamente 300 participantes no evento, sendo 70% estrangeiros, e de cujo livro de trabalhos, utilizaremos material para evidenciar o estado da arte, bem como sinalizar os próximos passos (Martin-Neto et al., 2004<sup>1</sup>). Acrescentarei, ainda informações de dois eventos internacionais que participei em 2005, nos Estados Unidos, em Março o "VIII Humic Science & Technology Conference", em Boston, Massachussets e em Junho, o "EMSI/North Central NOM WORKSHOP", em Columbus, Ohio. No Brasil, participei em Julho deste ano do XXX Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, em Recife/PE, com 1500 trabalhos inscritos, onde uma apreciável quantidade versou sobre matéria orgânica e substâncias húmicas. Naturalmente dados de revisão de literatura, do país e exterior, serão considerados.

Entendo que as pesquisas sobre o estado da arte das substâncias húmicas envolvem as questões associadas a massa e estrutura molecular das substâncias húmicas. O modelo macromolecular aceito, amplamente, até recentemente tem sido questionado e evidências obtidas, inicialmente, a partir dos trabalhos de Wershaw, 1986<sup>2</sup> propondo a estrutura micelar para substâncias húmicas, foi também a partir dos trabalhos de Conte & Piccolo, 1999<sup>3</sup>, usando cromatografia por exclusão de tamanho, propondo que as substâncias húmicas seriam agregados moleculares de menor tamanho e massa mantidos juntos por associações fracas, como ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, originando os compostos com aparente alta massas moleculares, ganharam importância. Durante o "XII International Meeting of IHSS", duas sessões foram devotadas ao referido tema. Hatcher et al., 2004<sup>4</sup>, a partir de dados de espectrometria de massa com ionização de elétrons, mostraram que para a matéria orgânica dissolvida do Rio Suwannee, a maior parte das moléculas tinham massa molecular abaixo de 1000 Da, e que não houve evidências de moléculas

maiores. Por sua vez, Cooper et al., 2004<sup>5</sup> usando espectrometria de ultra-alta resolução de substâncias húmicas aquáticas, evidenciou um caráter quase polimérico destas moléculas, e com a maior parte das moléculas apresentando massa molecular também na região de 1000 Da. Assim, de um lado vai se consolidando a proposta de que as substâncias húmicas não seriam moléculas de alta massa molecular, mas ainda assim apresentam caráter polimérico com massa molecular de 1.000 Da, coexistindo moléculas de menor e maior massa que 1.000 Da. Assim a constatação sobre a estrutura macromolecular, estável, e eventualmente inerte e pouco reativa das substâncias húmicas não corresponde a realidade e uma reflexão e reavaliação de dados e experimentos com base neste novo modelo de estrutura deve estar muito claro a todos que atuam na área. A continuidade do uso de técnicas avançadas, como espectrometria de massa, ressonância magnética de alta resolução entre outras, aliadas as pesquisas de modelagem de estrutura e ainda a métodos de fracionamentos, cromatográfico, químico, por densidade e outros, deverão auxiliar a consolidar as informações necessárias para estabelecer um modelo de estrutura molecular mais completo e consistente e que permitam o melhor entendimento do comportamento ambiental das substâncias húmicas e da matéria orgânica.

Do ponto de vista de trabalhos aplicados que envolvem a matéria orgânica e substâncias húmicas as questões relacionadas a fertilidade do solo e a nutrição de plantas devem continuar merecendo atenção e ganha grande interesse os estudos em Agricultura Orgânica. Constata-se que os resultados sobre agricultura orgânica, até o momento, e especialmente no Brasil, tem sido analisados em bases empíricas sem o devido embasamento científico. Chen et al., 2004<sup>6</sup> apresentou trabalho propondo que a principal (e única na visão dele até o momento) contribuição dos compostos orgânicos na agricultura orgânica é a maior biodisponibilidade de nutrientes, essencial o íon ferro. Neste trabalho fica evidenciado que determinados complexos orgânicos do ferro são assimiláveis pelas plantas e se tornam um diferencial importante para o seu crescimento saudável. Assim com seu trabalho ele sugeriu fortemente que a única contribuição para a melhoria do estado nutricional das plantas sob agricultura orgânica seria basicamente esta maior disponibilidade de nutrientes. Contudo Canellas et al., 2002<sup>7</sup>, sugeriu, em trabalho anterior, que há evidências de contribuição hormonal das substâncias húmicas para o desenvolvimento de plantas. Por sua vez Valarini et al., 2003<sup>8</sup>, mostrou que a adição dos chamados microorganismos eficazes, um dos procedimentos recomendados pela agricultura orgânica, tem capacidade de acelerar a transformação de resíduos orgânicos no

solo gerando compostos mais humificados e por conseqüência maior fertilidade dos solos. Sem dúvida esta é uma temática que devemos nos empenhar e inserir procedimentos científicos, para mais do que entender os princípios envolvidos, garantir procedimentos reprodutíveis e confiáveis para os produtores da agricultura orgânica ampliem a participação no mercado, considerando os potenciais benefícios para a saúde humana e para o meio ambiente.

Também muito relevante são as questões relacionadas a reciclagem de resíduos orgânicos, notadamente o lodo de esgoto, para possível uso na agricultura. As quantidades produzidas de lodo de esgoto são imensas e a destinação final representa o desafio. Todos os indicadores sugerem que a aplicação no solo é uma alternativa sustentável, inclusive largamente utilizada em outros países, ainda que registro de alguns problemas tenham sido detectados. Naturalmente as limitações que se apresenta nestes materiais são a presença de metais pesados e de germes patogênicos. A questão do metal pesado tem sido atenuada com as restrições ambientais para o descarte de efluentes das indústrias, ainda que estamos longe de uma solução definitiva, mas a tendência mundial é nesta linha. Também em culturas de uso não comestível, como florestas plantadas, os riscos de problemas de saúde pública são menores. Assim procedimentos viáveis para eliminar germes patogênicos e acelerar a humificação do material buscando impactar positivamente as propriedades químicas do solo têm grande interesse e apelo. Também, o aproveitamento de outros resíduos urbanos como podas de árvores e gramas, oferecem oportunidades importantes para a inserção de ferramental científico e tecnológico para seu devido aproveitamento. Não haverá também sustentabilidade na produção agropecuária se alternativas adequadas para a reciclagem de resíduos agrícolas e agroindustriais, como dejetos de bovinos, suínos, resíduos de abatedouros e outros, muitas vezes produzidos em larga escala, como nos confinamentos de animais, possam ser encontradas e manejadas. Conforme verificado a destinação destes resíduos nos corpos da água trazem vários prejuízos para o ambiente e inclusive podem impactar a qualidade de vida nas áreas urbanas que se utilizam de águas superficiais e que tem aumentado o teor de material orgânico dissolvido, e no processo de tratamento de água potável, com adição de cloro, gera compostos cancerígenos como os trihalometanos (Carvalho et al., 2004<sup>9</sup>). Um exemplo bem original de potencial de aproveitamento de resíduo agrícola no país propõe a produção do ácido levulínico (um catalisador que pode aumentar em até 25 % o desempenho do óleo diesel) a partir de material rico em celulose, como a palha das culturas e o bagaço

da cana-de-açúcar, que podem impactar positivamente a geração de energia renovável no Planeta (Hayes et al., 2004<sup>10</sup>). Esta alternativa, no entanto, já é uma patente americana da empresa Biofine, de Boston/MA, Estados Unidos, mas de qualquer forma sinaliza um caminho a ser seguido.

Naturalmente os estudos sobre complexação de metais, interações com pesticidas e outros xenobióticos com a matéria orgânica e substâncias húmicas oferecem inúmeras novas oportunidades de trabalho, especialmente em nossas condições tropicais, e devem ser altamente estimuladas. Neste sentido, amplas possibilidades existem na remediação de solos contaminados com o uso de substâncias húmicas e material orgânico, conforme já demonstrado na literatura e que tem todas as condições de serem incrementados no Brasil. Também com conexão a esta temática, as aplicações medicinais de substâncias húmicas para tratamentos de casos de intoxicação de metais têm despertado internacionalmente o interesse nestes trabalhos (Santos et al., 2004<sup>11</sup>). Ainda o uso da capacidade de complexação das substâncias húmicas como elementos ativos em sensores de metais pesados e pesticidas são possibilidades concretas (Thobiegautier et al., 2003<sup>12</sup>). Os estudos devem ainda levar em conta eventuais limitações e nas técnicas de medidas e análises realizadas para evitar interpretações incorretas (Novotny & Martin-Neto, 2002<sup>13</sup>).

Como um último exemplo, neste breve texto, que entendo de grande interesse e potencial de aplicações e necessidades de estudos sobre substâncias húmicas incluem-se as questões relacionadas ao aumento de matéria orgânica no solo ou termo de maior apelo o seqüestro de carbono no solo. As condições para o acúmulo no solo e as suas reais condições de estabilização, para poder ser aceito e considerado como um benefício ambiental concreto, constituem um desafio e um potencial de trabalho a ser explorado. Naturalmente do ponto de vista internacional a estratégia dos países desenvolvidos e que mais emitem gases do efeito estufa é que os países em desenvolvimento possam atender, e ser remunerados por isto, as necessidades de mitigar o efeito estufa, gerando por exemplo o acúmulo de carbono no solo e em plantas. Obviamente o desejável é que estes países desenvolvidos tomem suas medidas de redução de emissão de gases do efeito estufa, como por exemplo utilizando combustíveis renováveis, como o etanol de cana-

de-açúcar, o biodiesel, obtido a partir de oleaginosas, entre outras mudanças necessárias nos hábitos de consumo e da própria matriz energética. Entendo, que independente, de estarmos ou não sendo usados para atender interesses de outros países, se temos tecnologia para desenvolver nossas atividades agro-silvo-pastoris mantendo ou ampliando a quantidade de carbono no solo e plantas, e assim reduzindo o gás carbônico da atmosfera, é de grande interesse e dá uma conotação de altíssima sustentabilidade a nossa agropecuária. Exatamente neste item que entra práticas como o plantio direto que tem dados mostras concretas de manter e acumular carbono em solos cultivados (Bayer et al., 2002<sup>14</sup>). Identificar espécies de plantas e processos (Cunha et al., 2004<sup>15</sup>) com eventual aptidão para acumular carbono no solo, entender mais sobre os mecanismos de proteção deste material orgânico no solo (proteção física, química e biológica), gerar dados sobre meia vida e da estabilidade dos compostos orgânicos nos solos (Milori et al., 2004), são oportunidades de pesquisa a serem devidamente preenchidas no mundo, e em especial em áreas tropicais.

## Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Martin-Neto, L.; et al. *Humic substances and soil and water environment : proceedings of 12<sup>th</sup> International Meeting of IHSS, São Pedro, São Paulo, Brazil, July 25-30, 2004 / International Humic Substances Society*; editors Ladislau Martin-Neto ... [et al.]. – São Pedro, São Paulo : Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2004.
- <sup>2</sup> Wershaw, R.L. *J. Contam Hidrol.* 1986, 1, 29.
- <sup>3</sup> Conte, P.; Piccolo, A. *Environ. Sci. Technol.* 1999, 33, 1682.
- <sup>4</sup> Hatcher, P.G.; et al. *Humic substances and soil and water environment : Proceedings of 12<sup>th</sup> International Meeting of IHSS.* 2004, 241-243.
- <sup>5</sup> Cooper, W.T.; et al. *Humic substances and soil and water environment : Proceedings of 12<sup>th</sup> International Meeting of IHSS.* 2004, 257-260.
- <sup>6</sup> Chen, Y.; et al. *Humic substances and soil and water environment : Proceedings of 12<sup>th</sup> International Meeting of IHSS,* 2004, 195-197.
- <sup>7</sup> Canellas L.P.; et al. *Plant Phys.* 2002, 130, 1951-1957.
- <sup>8</sup> Valarini, P.J.; et al. *R. Bras. Ci. Solo,* 2003, 27, 519-525.
- <sup>9</sup> Carvalho, E.R.; et al. *Humic substances and soil and water environment : Proceedings of 12<sup>th</sup> International Meeting of IHSS,* 2004, 75-76.
- <sup>10</sup> Hayes, D.J. *Humic substances and soil and water environment : Proceedings of 12<sup>th</sup> International Meeting of IHSS,* 2004, 11-13.
- <sup>11</sup> Santos, A. *Humic substances and soil and water environment : Proceedings of 12<sup>th</sup> International Meeting of IHSS,* 2004, 465-468.
- <sup>12</sup> Thobiegautier, C.; et al. *J. Environ. Sci. and Health,* 2003, part A, v. 38, n. 9, 1811-1823.
- <sup>13</sup> Novotny, E.H.; Martin-Neto, L. *Geoderma,* 2002, 106, 305-317.
- <sup>14</sup> Bayer, C.; et al. *Geoderma,* 2002, 105, 81-92.
- <sup>15</sup> Cunha, T.J.F.; et al. *Humic substances and soil and water environment : Proceedings of 12<sup>th</sup> International Meeting of IHSS,* 2004, 419-421.
- <sup>16</sup> Milori, D.M.B.P.; et al. *Humic substances and soil and water environment : Proceedings of 12<sup>th</sup> International Meeting of IHSS,* 2004, 609-611.



## Technical and commercial questions associated with the use of humic substances in European Mediterranean countries

JM<sup>a</sup> García-Mina

Agricultural and Soil Chemistry Department, University of Navarra. R&D Department, Inabonos-Roullier Group.  
e-mail: jgmina@inabonos.com

### Introduction

The principal aim of this presentation is to give an overview of the situation regarding the use of humic substances (HS), or products containing HS, for agricultural purposes in European Mediterranean countries.

The presentation is divided into the following four main sections:

- ✓ An overview of the technical considerations of HS and their possible use for agricultural purposes.
- ✓ Legal classification of HS and official methods of analyses.
- ✓ Current situation in the Spanish Market: The perception of farmers.
- ✓ HS as nutritional enhancers: a scientific overview

### An overview of the technical consideration of HS and their possible use for agricultural purposes

The scientific and technical community along with the regulatory official committees that provide a legislative framework and technical support to farmers, generally accept the positive effects of HS on plant growth and mineral nutrition.

There is no specific debate regarding the specific mechanisms responsible for the HS effects on plant growth. Indeed, there is a consensus that either direct effects on the physiology of the plant or indirect effects improving nutrient bioavailability and soil texture have been demonstrated. The current discussion on the mechanisms (Direct versus Indirect actions of HS on plant development) is not really present in the market.

However, there are two points questioned by certain scientists that, little by little, are being increasingly considered by technicians and farmers alike:

- ✓ The suitability of the doses claimed by producers of HS and products containing HS.
- ✓ The quality – the properties – of HS

### Legal classification of HS and official methods of analyses

In Spain and Italy there exist specific laws regulating products containing HS. Thus in Spain, in the new RE 824/2005 ruling, in the Group 4 (Special Products), class 03. (Special products containing humic acids) the commercialisation of products containing Humic acids is explicitly considered.

A product containing humic and fulvic acids must contain a minimum concentration of 7 % of humic acids and a total humic extract of 15 %. On the product label the producer must inform of the concentrations of the total humic extract, humic acids and fulvic acids, and the pH (the content of N and K<sub>2</sub>O may also be declared on the label if the product contains more than 1 %)

A liquid NPK fertilizer with humic acids must contain 6% of humic + fulvic acids and 3 % of humic acids.

In France a specific procedure of registration is currently under development.

As far as the analytical methods are concerned the official methods used in Spain and in Italy are directly related to the determination of the organic carbon contained in an alkaline extract of the organic material or in the liquid fertilizer. The content of humic acids is obtained by precipitation and further determination of the organic carbon and fulvic acids are obtained from the difference between the total organic extract and the humic acids.

It becomes clear that all organic compounds soluble at these pH conditions will be detected as humic molecules independently of their true humic character. A possible alternative would be the use of the methodology proposed by the International Humic Substances Society (IHSS) for the fractionation and characterisation of HS. However, previous studies carried out in our laboratory showed that this methodology does not discriminate between HS and non-humic systems of vegetal origin derived from lignin, such as lignosulfonates or oxidized lignin polymers (data not shown). In this context, the development of analytical tools permitting the qualitative characterization of the organic molecules contained in organic materials, either natural or commercial, with the objective of discriminating true HS (although with different

humification degree) from humic-like substances without true humic nature is also of great interest.

### **Current situation in the Spanish Market: The perception of farmers**

Nevertheless, the current perception of farmers of the quality and efficiency of HS products is rather negative.

The main causes are:

- ✓ The variability of agronomical results.
- ✓ The variability of prices.
- ✓ Doubts about the nature of the organic substances used to produce the products.

As a consequence the Spanish Ministry of Agriculture is promoting specific research projects oriented to study more in depth and from a more practical viewpoint the real value of HS in agriculture.

Among these projects we are developing in our lab one specifically focused on HS chemical characterization and the effects of HS on plant growth through the improvement of plant nutrient uptake, and more concretely, dealing with plant micronutrient uptake.

### **HS as improvers of plant micronutrient uptake: a scientific overview**

Excellent studies and reviews on the ability of HS to affect plant micronutrient uptake derived from their capacity to complex metals under different environmental conditions have been published (Chen and Aviad, 1991; Chen, 1996). Likewise, a number of studies carried out using nutrient solutions or inert substrates have shown plant capacity to assimilate micronutrients from metal-humic complexes (M-HC). In this way, Pinton et al. (1999) and Chen et al. (1999) have pointed out the participation of Fe-HC in Fe uptake mechanisms in cucumber, melon and bentgrass. Similar results had previously been obtained by Miravé et al., (1987) and Lobartini and Orioli (1988) using other plant species, as well as by Mirave and Orioli (1989) and Barnard et al. (1992) in relation to Zn plant uptake from Zn-HC complexes, and by others in relation to Cu plant uptake from Cu-HC complexes (Ennis and Brogan, 1961; Ennis, 1962; Gupta and Häni, 1980; Gupta, 1986). However, in the case of plants grown in soil, published studies are scant and results far from clear. In fact, no clear improvement in metal plant uptake from M-HC has been observed in plant-soil systems (Bureau et al., 1960; Kumar and Prasad, 1989; Alva and Obreza, 1998; Pandeya et al., 1998). That is why some authors have expressed serious doubts about the real usefulness and efficiency of these organic complexes as valuable sources of micronutrients for crops cultivated in soils that present micronutrient deficiency (Bureau et al., 1960).

In order to explain this apparent contradiction between results obtained from soil and from inert

substrate or nutrient solution experiments several factors have to be taken into account. For instance, the capacity of M-HC to keep complexed micronutrients in soil solution with pH values or chemical composition which favor metal precipitation. It is clear that this capacity will be related to the stability and solubility of M-HC in soil solution. In fact, the importance of the complexing capacity of soluble organic matter for the availability of micronutrients has long been acknowledged, especially under adverse soil conditions (Hodgson, 1969). Thus, Hodgson et al. (1965, 1966) and Geering et al. (1969) found that most Cu, Zn, Fe and Mn in soil solution in limy, alkaline soils were present in the form of organic matter complexes. Similarly, several studies have demonstrated the relationship between, on the one hand, complexed metal solubility and mobility in soil, and on the other hand, the solubility and stability of the metal-humic complexes in soil solution (Mirave and Orioli, 1987; Bar-Ness and Chen, 1991). What is more, the importance of metal chelate solubility and stability in metal bioavailability in soil systems has also become the central topic of many studies into Fe availability from synthetic chelates such as Fe-EDDHA, Fe-EDTA and Fe-DTPA (O'Connor et al., 1971). From these, it has become clear that Fe cannot be available unless tightly bound to soluble chelates able to withstand the unfavourable milieu of alkaline, calcareous soils (basic pH and competing cations principally). Nevertheless, chelate stability must not be so high that plants are unable to take up the chelated metal (Lucena et al., 1987).

The aforementioned data leads us to conclude that the discrepancy between results from soil and from nutrient solution studies must be directly related to the physicochemical properties of M-HC used in the experiments, and essentially to their stability and solubility. Unfortunately, in the above mentioned works no study was made of the stability and solubility of the metal-humic complexes employed in soil-plant experiments.

Thus, the aim of our research was to clarify previous studies using metal-humic complexes (M-HC) of known stability and solubility as a starting point, and testing their ability to supply the complexed micronutrients to different plant species cultivated in several soil types, and compare this effect with that of synthetic chelates. The experimental design included a first experiment (Garcia-Mina et al., 2004) working on graminaceous and dicotyledonous plants (wheat and alfalfa), with different Fe uptake mechanisms (Schmidt, 1999), and soils favouring micronutrient deficiencies (basic pH, high carbonates, low organic matter content, and poorly humified acid soils) (Loue, 1993). Likewise, in the case of wheat plants cultivated in a calcareous soil a second experiment (Garcia-Mina, 2000) dealing with the comparison of the effects of

metal-humic complexes with those associated to inorganic salts (metal sulphates) and synthetic metal-chelates (EDTA chelates), was also carried out.

\* As for the stability and solubility of metal-humic complexes the following general trends were obtained:

Regarding stability, we have not found clear relationships between the strength of the binding process and the studied physicochemical properties of the selected HS: degree of aromaticity, elemental composition, functional analysis or molecular weight (MW). However, some relationships between stability and molecular conformation in solution could exist, since the unfractionated HS, probably presenting a molecular conformation closer to that corresponding to natural conditions, tended to present an order of stability higher than that of the isolated HS, which may present in solution more artificial conformations due to the effect of the isolation process. In general, our results, either related to the maximum binding capacity or complex stability, indicate the possible presence of two different binding patterns depending on pH. One in the range of acid pH, probably involving functional groups containing N (probably amino groups) and carboxylates, and another in the range of basic pH probably involving carboxylates and phenolic groups.

Regarding the solubility of the different metal-HS complexes, our results indicated that this property increased in line with pH alkalisation, and decreased in line with the increase in the metal : HS ratio. In this sense, for an equivalent pH, those complexes corresponding to higher metal : HS ratio presented lower solubility.

In general, for the same pH value and metal : HS ratio, metal-HS complexes including the HS with more fulvic character presented more solubility than those complexes including the HS with more humic character.

In general, the order of solubility of the different metal complexes as a function of the complexed metal was Zn-HS > Fe-HS > Cu-HS.

\* As for the effects of the different metal-humic complexes on plant growth, the results obtained in the first experiment proved the capability of Cu- and Zn- HS complexes to supply plant available Cu and Zn under soil conditions favouring the deficiency of both micronutrients. In the case of Fe-HS complex, whose application was not associated with significant increases in iron plant uptake, the obtained results emphasize the great influence of Fe : HS stoichiometry on Fe bioavailability due to its impact on complex solubility. Also, under the experimental conditions used in this study, where increases of plant growth associated with M-HS treatment were observed, they were caused by an improvement in plant micronutrient uptake, since the

humic system alone did not show any significant effect. These results are in agreement with the theory proposed by some authors that the effect of humic substances on plant development is only due to the improved intake of some micronutrients (Chen et al., 1999). However, our results do not allow us to rule out the possibility of direct, pseudohormonal effects of HS since the HS dose was much lower than the stimulating doses proposed by most authors (Nardi et al., 1996).

The results obtained in the second experiment supported the conclusions derived from the first experiment. Thus the use of Fe-HS complexes with different Fe : HS stoichiometry and different potential mobility were associated with significant increases in the iron plant uptake. The degree of plant iron assimilation associated with Fe-HS complexes was significantly higher than that associated with iron sulphate or Fe-EDTA. In the case of Cu- and Zn- HS complexes the obtained results showed the ability of these compounds to increase the plant uptake of both micronutrients although in the case of Zn-compounds these effects were lower than those associated with the synthetic chelate.

In this experiment the treatment with HS alone, at a dose ( $150 \text{ mg kg}^{-1}$ ) that was three times higher than the dose used in the first experiment, was associated with significant increments in plant growth.

## Conclusions

In conclusion our results showed that metal-HS complexes presented the capability of increasing the uptake of the complexed metal by different plants cultivated in diverse soil types. This effect was associated with the capacity of HS to regulate the concentration in soil solution of the different metals through the formation of stable complexes with different solubility depending on soil properties. Thus, in the presence of low concentrations of metal in soil solution and at basic pH (a situation directly linked to calcareous soils) HS increases metal availability through the formation of stable and soluble metal-HS complexes. However, in the presence of high metal concentration in soil solution and acid pH, HS decreases metal availability by the formation of stable metal-complexes with low solubility.

Likewise, in the case of Fe-HS complexes the effects on plant Fe uptake was significantly affected by the stoichiometry (solubility) of the complex. This effect was less marked in the case of Zn-, and Cu-HS complexes.

In general, the overall positive effect of metal-HS complexes on plant development was more remarkable than that associated with metal sulphates. In relation to the synthetic chelates used in our experiment (metal-EDTA), the metal-HS positive effects on plant growth were larger in the

case of Fe-, and Cu- compounds but less significant for Zn- compounds

Consequently, and bearing in mind that the doses used in the experiments (2.5 and 5 mg kg<sup>-1</sup>) are in line with the doses expected in practical agriculture, these results indicate that those metal-humic complexes with adequate stability and solubility are a valuable tool to supply available micronutrients to plants cultivated in soils favouring micronutrient deficiencies.

## References

- Alva A K and Obreza T A 1998 By-product Iron-humate increases Tree Growth and Fruit production of Orange and Grapefruit. *Hortscience*. 33, 71-74.
- Barnard R O, Watt H v H van der, Dekker J, Cronje I, Mentz W H, Cillie G E B and Laker M C 1992 Application of Fe and Zn to lime-rich soils in the form of formulated coal products. *Science Total Environ*. 117/118, 569-574.
- Bar-Ness E and Chen Y 1991 Manure and peat based iron-organo complexes. II. Transport in soils. *Plant and Soil*. 130, 45-50.
- Burau R G, White R G and MacGregor J M 1960 Uptake of applied iron by soybeans from calcareous soil treated with peat-based humates and synthetic chelates. *Proceedings 7th International Congress of Soil Science, Madison, WI*, vol 3, pp. 544-553.
- Chen Y and Aviad T 1990 Effects of humic substances on plant growth. *In Humic Substances in Soil and Crop Sciences : Selected Readings*. Ed. P MacCarthy, C E Clapp, R L Malcolm and P R Bloom. pp. 161-186. Soil Science Society of America, Inc, Madison.
- Chen Y, Clapp C E, Magen H and Cline V W 1999 Stimulation of Plant Growth by Humic Substances: Effects of Iron Availability. *In Understanding Humic Substances. Advances Methods, Properties and Applications*. Ed. E A Ghabbour and G Davies. pp. 255-263. Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Chen Y 1996 Organic Matter Reactions Involving Micronutrients in Soils and their Effect on Plants. *In Humic Substances in terrestrial ecosystems*. Ed. A. Piccolo. pp. 507-530. Elsevier, Amsterdam.
- Ennis M T and Brogan J C 1961 The availability of copper from copper-humic acid complexes. *Irish J. Agr. Res.* 1, 35-42.
- Ennis M T 1962 Some copper-complexing properties of peat. *Irish J Agr. Res.* 1, 139-147.
- García-Mina JM 2000 The influence of certain basic physical and chemical properties of different humic systems and humic system-metal complexes on the development and mineral nutrition of plants cultivated in alkaline and lime soils. IV. Effect of the different humic system-metal complexes on micronutrient uptake. *In Entering the Third Millenium with a common approach to Humic Substances, Organic Matter in water, soil and sediments*. Edit. IHSS Francia Revel et al., Volumen 2. pp 901-906.
- García-Mina JM<sup>a</sup>, Antolin MC and Sanchez-Diaz 2004 Metal-humic Complexes and Plant micronutrient uptake: a study based on different plant species cultivated in diverse soil types. *Plant and Soil*. 258, 57-68.
- Geering H R, Hodgson J F and Sdano C 1969 Micronutrient cation complexes in soil solution: IV. The chemical state of manganese in soil solution. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 33, 81-85.
- Gupta S K and Häni H 1980 Effect of copper supplied in the form of different Cu-saturated sludge samples and copper salts on the Cu-concentration and dry matter yield of corn grown in sand. *In Symposium on copper in animal wastes and sewage sludge*. Ed. P. L'Hermite and J. Dehand-schutter. pp. 67-69. Reidel Publishing Co., Dordrecht.
- Gupta S K 1986 Bioverfuegbarkeit von Kupfer in einem Huminsaeure- und Klaerschlamm-komplex. *Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.* 45, 61-66.
- Hodgson J F 1969 Contribution of metal-organic complexing agents to the transport of metals to roots. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 33, 68-75.
- Hodgson J F, Geering H R and Norwell W A 1965 Micronutrient cation complexes in soil solution: I. Partition between complexed and uncomplexed forms by solvent extraction. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 29, 665-669.
- Hodgson J F, Lindsay W L and Trierweiler J F 1966 Micronutrient cation complexing in soil solution. II. Complexing of zinc and cooper in displaced solution from calcareous soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 30, 723-726.
- Kumar M and Prasad B 1989 The relative contribution of natural zinc complexing agents and ZnSO<sub>4</sub> to growth and zinc nutrition of maize. *J. Nuc. Agr. Biol.* 18, 29-35.
- Lobartini J C and Orioli G A 1988 Absorption of iron Fe-humate in nutrient solutions by plants. *Plant and Soil*. 106, 153-157.
- Loué A 1993 Oligoelements en Agriculture. Editions Natham, Paris. p 577.
- Lucena J J, Gárate A and Carpena O 1987 Iron-chelates evaluation in a calcareous soil. *Plant and Soil*. 103, 134-138.
- Miravé J P and Orioli G A 1987 Edaphic mobility of complete humic acid and fractions of high and medium molecular weight. *Plant and Soil* 104, 169-174.
- Miravé J P and Orioli G A 1989 Zinc absorption and transport from complete humate and high and medium molecular weight fractions. *Science Total Environ*. 81/82, 679-682.
- Miravé J P, Lobartini J C and Orioli G A 1987 Absorción y transporte de hierro a partir de fuentes orgánicas de distinto peso molecular. *Ciencia del Suelo*. 5, 31-35.
- Nardi S, Concheri G and Dell'Agnola G 1996 Biological activity of humus. *In Humic Substances in terrestrial ecosystems*. Ed. A. Piccolo. pp. 361-406. Elsevier, Amsterdam.
- O'Connor G.A, Lindsay W L and Olsen S R 1971 Diffusion of iron chelates in soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 35, 407-410.
- Pandeya S B, Singh A K and Dhar P 1998 Influence of fulvic acid on transport of iron in soils and uptake by paddy seedlings. *Plant and Soil*. 198, 117-125.
- Pinton R, Cesco S, Santi S, Agnolon F and Varanini Z 1999 Water-extractable humic substances enhance iron deficiency responses by Fe-deficient cucumber plants. *Plant and Soil*. 210, 145-157.
- Schmidt W 1999 Mechanisms and regulation of reduction-based iron uptake in plants. *New Phytologist*. 141, 1-26.



## Caracterização do Carbono Pirogênico por Ressonância Magnética Nuclear

Etelvino H. Novotny<sup>1\*</sup> (PQ), Michael H.B. Hayes<sup>2</sup> (PQ), Eduardo R. de Azevedo<sup>3</sup> (PQ), Tito J. Bonagamba<sup>3</sup> (PQ), Vinícius de M. Benites<sup>1</sup> (PQ), Beáta E. Madari<sup>4</sup> (PQ), Tony J. F. Cunha<sup>5</sup> (PQ)

1 – Embrapa Solos, R. Jardim Botânico, 1.024 CEP 22460-000 Jardim Botânico, Rio de Janeiro-RJ

2 - Chemical e Environmental Sciences, University of Limerick, Ireland

3 – Instituto de Física de São Carlos - USP, Cx. P. 369, São Carlos-SP, CEP 13566-590

4 – Embrapa Arroz e Feijão, Cx.P. 179. Santo Antônio de Goiás-GO, CEP 75375-000

5 – Embrapa Semi-Árido, Cx.P. 23. Petrolina-PE, CEP 56300-970

\*e-mail: etelvino@cnpes.embrapa.br

Palavras Chave: Carbono Pirogênico, Ácidos Húmicos, RMN

### Introdução

Estimativas globais indicam que menos de 10% da matéria orgânica dos solos (MOS) é originada de carbono pirogênico (“Black Carbon” – BC)<sup>1</sup>. Na média, de 1 a 6% da MOS é de origem pirogênica, porém esta proporção pode alcançar 18% em pradarias nativas nos EUA<sup>2</sup>, 35% em solos agrícolas norte-americanas<sup>3</sup>; 30% em solos australianos<sup>4</sup>, até 45% em solos Chernozênicos da Alemanha<sup>5</sup>, acima de 65% em Chernozênicos canadenses<sup>6</sup>; e, em alguns solos contaminados, BC antropogênico pode atingir até 80% do carbono orgânico total<sup>7</sup>. Porém, estes valores podem estar superestimados devido a problemas metodológicos na determinação do conteúdo de BC<sup>8</sup>.

BC é altamente resistente à oxidação térmica, química e à foto-oxidação<sup>9,10</sup>. Embora o BC sofra alguma degradação natural<sup>11</sup>, a sua incorporação no solo é um mecanismo importante de seqüestro de carbono<sup>12</sup>.

A contribuição do BC à fertilidade do solo e à sustentabilidade desta fertilidade é atribuída principalmente à sua composição e estrutura molecular<sup>13</sup>. O BC é formado pela oxidação incompleta de materiais orgânicos<sup>8</sup> e assim é composto de unidades básicas poliaromáticas de diferentes tamanhos e níveis de organização<sup>14</sup>.

A gênese desta MO de alta estabilidade e reatividade é atribuída às transformações químicas e bioquímicas de resíduos carbonizados. Devido a oxidação parcial, as unidades aromáticas periféricas contêm grupos substituintes ácidos (carboxílicos e fenólicos)<sup>14,15</sup> aumentando sua Capacidade de Troca Catiônica (CTC). Assim as substâncias húmicas derivadas do intemperismo de carbono pirogênico apresentam altas aromaticidade e densidade de cargas, e são caracterizadas por serem estruturas aromáticas condensadas, deficientes em H e altamente carboxiladas<sup>14</sup>.

Em solos brasileiros, quantidades significativas de substâncias húmicas derivadas de BC são encontradas em solos com histórico de incêndios naturais ou provocados, como nos casos do

Cerrado<sup>16</sup> e ambientes rupestres altimontanos<sup>17</sup> (ARA) e de grande interesse são as chamadas Terras Pretas de Índio (TPI), que são solos de origem antropogênica existentes na Região Amazônica. Estes solos ocorrem em manchas de diferentes tamanhos (5 a 500 ha), e são caracterizados por apresentarem elevados níveis de nutrientes em forma assimilável para as plantas (ex. fósforo, cálcio, magnésio, zinco, manganês), maiores teores de matéria orgânica, propriedades físicas mais favoráveis (ex. estrutura e retenção de água) e atividade biológica mais elevada que nos solos adjacentes, menos enriquecidos em matéria orgânica, caulíníficos e fortemente intemperizados, onde não houve ação antrópica<sup>18</sup>. A mais importante propriedade das TPI, além da sua alta fertilidade, é a sustentabilidade desta fertilidade, que é confirmada pelos agricultores locais que usam as TPI numa maneira diferenciada de outros solos de baixa fertilidade para cultivar produtos de alto valor econômico. O declínio da fertilidade com o cultivo contínuo (>10-12 anos), mesmo sem a aplicação de fertilizantes químicos, é menor nas TPI do que em solos não-antrópicos da região. Esta característica peculiar das TPI pode ser atribuída às características da sua matéria orgânica<sup>15,19</sup>.

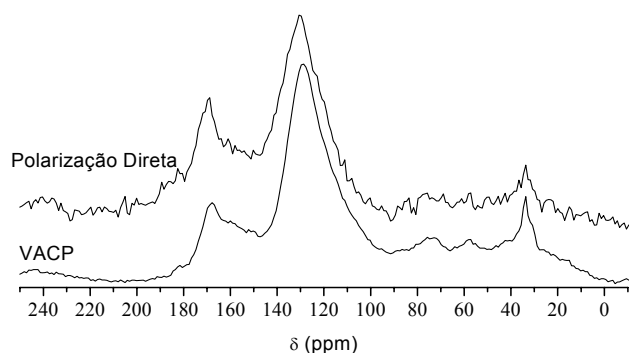
Várias hipóteses são aventadas sobre os processos de formação das TPI, porém a mais aceita sugere que as TPI são de origem pré-colombiana<sup>15</sup> e teriam sido formadas não intencionalmente pelas populações indígenas<sup>20</sup>.

Para melhor entender os aspectos relacionados à maior fertilidade e sustentabilidade dos solos enriquecidos com BC, assim como inferir sobre as causas da recalitrância deste C, amostras de ácidos húmicos (AH) extraídos de solos com elevados teores de carbono pirogênico (AHBC), tanto de origem natural (ARA) como antrópica (TPI), foram analisados por termogravimetria e composição elementar (CHN) e por novas técnicas de RMN no estado sólido. Amostras de AH extraídos de solos adjacentes não enriquecidos em BC foram analisadas como controle.

## Resultados e Discussão

Baseado nos dados da análise termogravimétrica, os AH estudados apresentaram baixos conteúdos de cinza variando de 0,1 a 9,2% com média de 3,7%.

Visando otimizar o tempo de uso do equipamento e pelas características das amostras estudadas foi necessário implementar algumas alterações na metodologia proposta por Mao e Schmidt-Rohr<sup>21</sup>. Embora a Polarização Direta (DP) provavelmente seja a mais quantitativa das técnicas de RMN no estado sólido<sup>21,22</sup>, a Polarização Cruzada (CP) é rotineiramente utilizada por demandar muito menos tempo de equipamento, e entre as diferentes técnicas semi-quantitativas utilizando CP é recomendado utilizar uma rampa de potência em um dos canais<sup>8,22,23</sup> (Ramped-CP ou VACP), especialmente quando trabalha-se com elevadas taxas de rotação (12-15 kHz) ao redor do ângulo mágico (MAS), como é preconizado por Mao e Schmidt-Rohr<sup>21</sup>. Visando verificar a possibilidade de substituir-se a DP por VACP selecionou-se uma amostra com um elevado ITG (5,62) e baixa razão atômica H/C, indicativos de alta aromaticidade, elevado conteúdo de estruturas policíclicas aromáticas e deficientes em H e conseqüentemente forneceria o espectro de CP menos quantitativo se comparado à DP. Entretanto o espectro adquirido com a seqüência VACP é quase idêntico aquele adquirido com DP (Figura 1) e assim, mesmo neste caso extremo, houve uma excelente concordância na quantificação dos diferentes grupos químicos pelas duas técnicas.

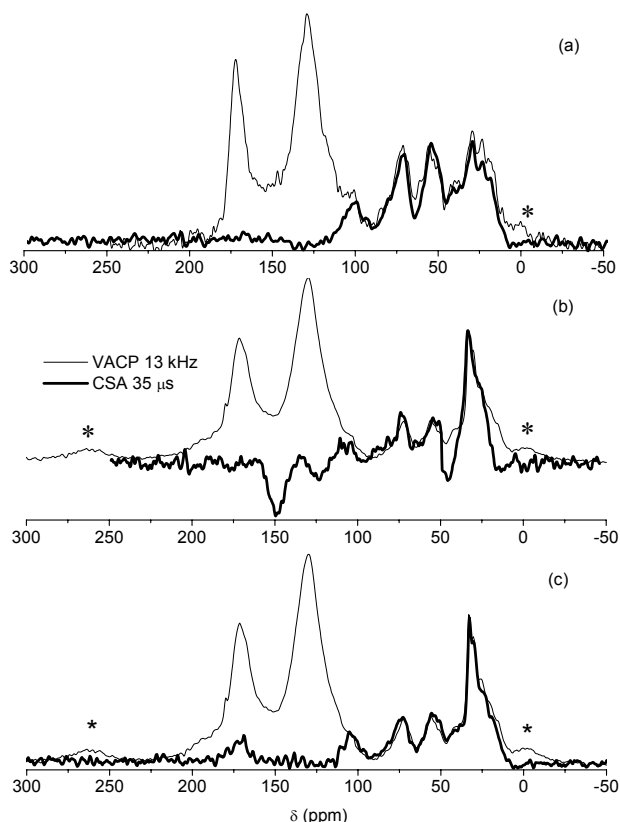


**Figura 1.** Espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN de uma amostra de AH extraída de um solo rico em Carbono Pirogênico

Adicionalmente, pelas características das amostras estudadas, não foi possível a inversão simultânea dos spins nucleares dos  $^{13}\text{C}$  nas diferentes regiões espectrais utilizando o mesmo tempo de pulso, mais especificamente, o pulso  $\pi$  do  $^{13}\text{C}$  para o C aromático foi sempre maior que aquele para os grupos alifáticos, mesmo para pequenos volumes de amostra ocupando a região da bobina de RF onde o campo  $B_1$  é mais uniforme. A presença de estruturas gráficas pode induzir a

reflexão do pulso de excitação - "skin effect"<sup>23,24</sup>, este problema é ainda mais importante quando se utiliza o filtro de anisotropia do deslocamento químico (CSA) e TOSS ("total suppression of spinning sidebands").

Estes experimentos envolvem a aplicação de uma série de pulsos  $\pi$  no  $^{13}\text{C}$  que ampliam os efeitos de imperfeições nestes pulsos. A figura 2 mostra os espectros VACP e CSA/TOSS de uma amostra padrão da IHSS (Soil HA - IS102H) e de uma amostra extraída de um solo rico em BC (AHBC). Para a amostra padrão da IHSS, o espectro CSA/TOSS apresentou todos os sinais positivos e boa supressão dos grupos com elevada CSA (Figura 2a). Porém o espectro da amostra rica em BC é caracterizado por sinais negativos e outras imperfeições (Figura 2b), então, devido a características intrínsecas da amostra, tal como estrutura gráfica, o uso de pulsos convencionais é inadequado. Para resolver este problema, todos os pulsos  $\pi$  foram trocados por pulsos  $\pi$  compostos<sup>22</sup>, com isto conseguiu-se a supressão dos sinais com elevada CSA e os sinais dos  $\text{C sp}^3$  mantidos tiveram excelente correspondência com aqueles do espectro não filtrado (Figura 2c).



**Figura 2.** Espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN (VACP e CSA/TOSS) (a) AH de solo (IHSS), pulsos  $\pi$  simples; (b) AHBC, pulsos  $\pi$  simples; (c) AHBC, pulsos  $\pi$  compostos. \* Bandas laterais

Os espectros da figura 3 são representativos das amostras analisadas e o resultado da quantificação dos grupos funcionais é sumarizado na tabela 1.

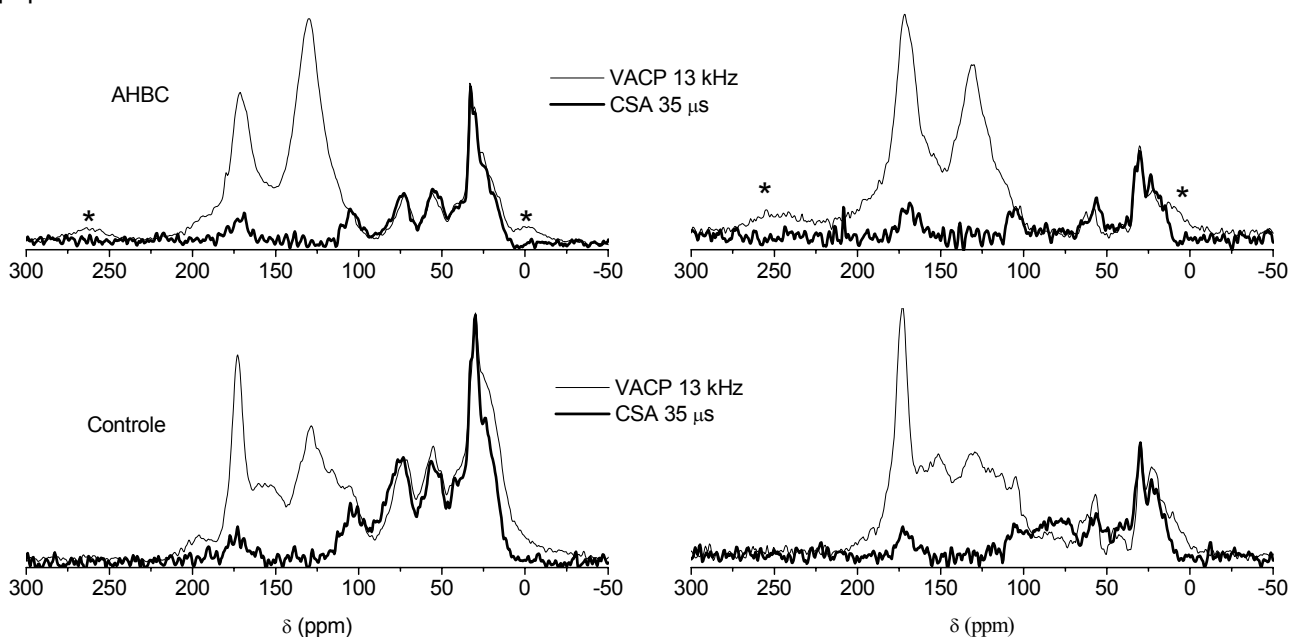
**Tabela 1.** Contribuição relativa (% da área total) dos diferentes grupos funcionais

Grupo funcional	TPI		ARA	
	AHBC n=18	Controle n=4	AHBC n=6	Controle n=4
	%			
Alquila	15,5	26,0	12,3	19,6
Metoxila (DD)	1,9	2,2	2,4	3,4
N-alquila	3,1	5,6	3,2	5,5
O-alquila	8,6	11,8	9,0	13,3
di-O-alquila	3,0	4,1	3,0	6,5
Cetose	2,8	4,0	2,7	6,1
Arila-H	36,8	21,0	46,9	31,0
Arila-C (DD)	22,7	13,4	31,1	11,1
O-arila	9,2	7,7	4,5	6,7
Carbox.; Amida	13,4	12,8	8,3	7,0
Carbonila	3,6	3,3	3,1	3,1

A persistência dos sinais a 21 e 30 ppm nos espectros com defasagem dipolar (DD), que mantém apenas os sinais de grupos não protonados e móveis (Figura 3, direita), indicam a presença de grupos CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub> móveis de cadeia longa, respectivamente<sup>23</sup>. O sinal do C metoxila é esperado a 56 ppm, ele se sobrepõe com ressonâncias de C N-alquila com deslocamento químico na região de 46-60 ppm. Os experimentos de DD confirmam a contribuição de C metoxila (Figure 3, direita). Estes sinais foram de maior intensidade nos AH controle (Tabela 1), indicando uma maior incorporação de resíduos de lignina e peptídeos.

Nestas amostras, os C aromáticos da lignina contribuíram para os sinais e ombros na região do C arila e O-arila (Figura 3, esquerda), enquanto que nas amostras AHBC a região aromática foi típica de AH derivados de BC, ou seja, sinais alargados e livres de detalhes<sup>8,23</sup>. Adicionalmente, a região alifática foi mais proeminente nas amostras controle. O baixo conteúdo de carboidratos observado em todas as amostras analisadas pode ser devido à hidrólise destes pelo tratamento de HF/HCl empregado na purificação dos AH. Estes carboidratos são principalmente cetoses (Tabela 1), provavelmente de celulose, pois o sinal do C anomérico permanece nos espectros com filtro duplo - CSA+DD (Figura 3, direita).

O sinal proeminente dos grupos carboxílicos (156-186 ppm) indica o elevado grau de oxidação das amostras, sendo que no caso das amostras controle há uma maior contribuição dos grupos amida dos peptídeos quando comparadas com as amostras AHBC. De forma semelhante, há uma maior contribuição de grupos metoxila da lignina no sinal C O-arila destas amostras, assim sendo, embora o conteúdo de grupos O-arila e carboxila/amida tenha sido semelhante entre as amostras (Tabela 1), o conteúdo de grupos efetivamente ionizáveis (acidez fenólica e carboxílica) é maior nas amostras AHBC, assim como os conteúdos de grupos arila e arila substituído (arila DD) (Tabela 1). Entretanto, um artefato decorrente do método de extração não pode ser descartado, pois a fração solúvel em álcali destes AH altamente aromáticos requer a presença de grupos hidrófilos<sup>14</sup>.

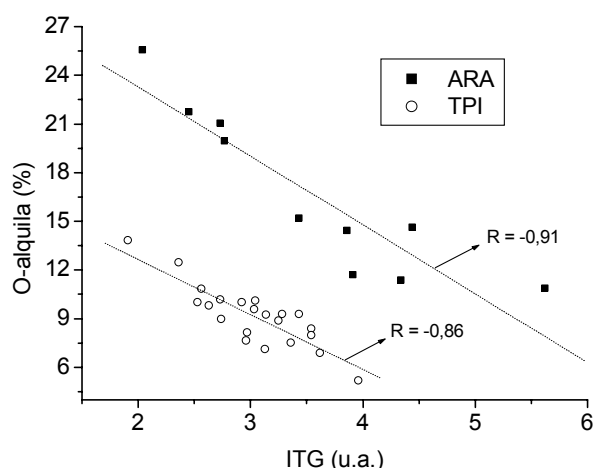


**Figura 3.** Espectros de <sup>13</sup>C RMN (VACP, DD e CSA). Esquerda: espectro total e com filtro de CSA; Direita: espectro correspondente após DD e CSA+DD. \* Bandas laterais

Obeve-se altas correlações (Tabela 2) entre a aromaticidade determinada por RMN e a razão atômica H/C e o índice termogravimétrico (ITG) definido pela razão entre a perda de massa no segundo evento exotérmico (623-923 K) e a perda de massa no primeiro evento (378-623 K), conforme procedimento descrito em Benites et al.<sup>17</sup>. Este mesmo índice teve altas correlações com outros sinais de RMN associados a estruturas lábeis, desde que as correlações fossem obtidas nos sub-grupos (TPI e ARA), provavelmente devido a grande diversidade estrutural destes AH (Figura 4).

**Tabela 2.** Coeficientes de correlação significativos ao nível de 5%

Grupo funcional	ITG	Razão atômica		
		H/C	O/C	C/N
Alquila	-0,61	0,81		
N-alquila; Metoxila			0,66	
Metoxila (DD)			0,66	
O-alquila			0,75	
di-O-alquila			0,75	
Cetose			0,59	
Arila-H	0,88	-0,86		0,67
Arila-C (DD)	0,84	-0,83		0,75
O-arila				-0,74
Total (n=32)				
Alquila	-0,73	0,81		-0,80
N-alquila; Metoxila	-0,82	0,86		-0,84
N-alquila	-0,62	0,61		-0,67
O-alquila	-0,86	0,79		-0,78
di-O-alquila	-0,85	0,77		-0,71
Cetose	-0,86	0,80		-0,77
Arila-H	0,82	-0,89		0,87
Arila-C (DD)	0,67	-0,72		0,78
TPI (n=22)				
Alquila	-0,61	0,79	0,70	
N-alquila; Metoxila	-0,87	0,97	0,88	-0,84
N-alquila	-0,75	0,89	0,73	-0,73
O-alquila	-0,91	0,96	0,92	-0,84
di-O-alquila	-0,90	0,69	0,83	-0,79
Arila-H	0,95	-0,95	-0,93	0,91
Arila-C (DD)	0,93	-0,94	-0,88	0,85
O-arila	-0,66	0,74	0,68	-0,76
ARA (n=10)				



**Figura 4.** Regressão linear entre o ITG e o conteúdo de grupos O-alquila

### Conclusões

Os dados obtidos indicam que os AH derivados de BC apresentam um elevado conteúdo de grupos arila e grupos funcionais oxigenados ionizáveis e recalcitrantes (carboxila e fenila) enquanto que os grupos funcionais oxigenados dos solos adjacentes são principalmente lábeis e não ionizáveis (carboidratos, proteínas e lignina). Isto pode explicar a maior fertilidade e sustentabilidade dos solos ricos em BC. As correlações obtidas entre as diferentes técnicas corroboram os dados obtidos e indicam que os grupos arila recalcitrantes, detectados por RMN, apresentam uma elevada resistência à degradação térmica e provavelmente sejam estruturas policondensadas. O uso de VACP NMR forneceu resultados semelhantes à DP, porém em um tempo muito menor. A técnica de filtro CSA, como propôs Mao e Schmidt-Rohr<sup>21</sup>, não foi adequada para amostras de HA oriundas de solos ricos em BC, provavelmente devido à elevada suscetibilidade magnética decorrente de estruturas gráficas. O uso de pulsos compostos para o TOSS e filtro CSA mostrou-se adequado para o estudo de amostras ricas em BC.

### Agradecimentos

Etelvino H. Novotny é grato à Universidade de Limerick pelo suporte financeiro

<sup>1</sup> Druffel, E.R.M. *Mar. Chem.* **2004**, *92*, 197.  
<sup>2</sup> Glaser, B.; Amelung, W. *Global Biogeochem. Cy.* **2003**, *17*, 1064  
<sup>3</sup> Skjemstad, J.O. et al. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **2002**, *66*, 1249.  
<sup>4</sup> Skjemstad, J.O. et al. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **1999**, *30*, 2283.  
<sup>5</sup> Schmidt, M.W.I. et al. *Eur J Soil Sci.* **1999**, *50*, 351.  
<sup>6</sup> Ponomarenko, E.V.; Anderson, D.W. *Can. J. Soil Sci.* **2001**, *81*, 285.  
<sup>7</sup> Schmidt, M.W.I. et al. *Org. Geochem.* **1996**, *25*, 29.  
<sup>8</sup> Simpson, M.J.; Hatcher P.G. *Naturwissenschaften* **2004**, *91*, 436.  
<sup>9</sup> Skjemstad, J.O. et al. *Aust. J. Soil Res.* **1996**, *34*, 251.  
<sup>10</sup> Wolbach, W.S.; Anders, E. *Geochim. Cosmochim. Ac.* **1989**, *53*, 1637.  
<sup>11</sup> Bird, M.I. et al. *Global Biogeochem. Cy.* **1999**, *13*:923.  
<sup>12</sup> Schmidt, M.W.I.e Noack, A.G. *Global Biogeochem. Cy.* **2000**, *14*, 777.

<sup>13</sup> Schmid, E.-M. et al. *Geoderma* **2001**, *88*, 1.  
<sup>14</sup> Kramer, R.W. et al. *Environ. Sci. Tech.* **2004**, *38*, 3387.  
<sup>15</sup> Glaser, B. et al. *Naturwissenschaften* **2001**, *88*, 37.  
<sup>16</sup> Roscoe, R. et al. *Geoderma* **2001**, *104*, 185.  
<sup>17</sup> Benites, V.M. et al. *Geoderma* **2005**, *127*, 104.  
<sup>18</sup> Kern, D.C.; Kämpf, N. *R. Bras. Ci. Solo.* **1989**, *13*, 219.  
<sup>19</sup> Madari, B.E. et al. In: Lehmann et al. *Amazonian Dark Earths. Origin, Properties, Management.* **2003**, 407.  
<sup>20</sup> Woods, W.I.; McCann, J.M. *Yearb Conf. Latin Am. Geogr.* **2001**, *25*, 7.  
<sup>21</sup> Mao, J.-D.; Schmidt-Rohr, K. *Environ. Sci. Technol.* **2004**, *38*, 2680.  
<sup>22</sup> Cook, R.L. *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *378*, 1484.  
<sup>23</sup> Knicker, H. et al. *Org. Geochem.* **2005**, *36*:1359.  
<sup>24</sup> Fernandes, M.B. et al. *Chemosphere* **2003**, *51*, 75.



## Experiências e perspectivas para aplicação conjunta de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas em plantas de interesse agrícola

Fábio Lopes Olivares<sup>1</sup>, Roberto Batista Marques Júnior<sup>2</sup>, Erineudo Canuto<sup>1</sup>, Vanessa Santos de Andrade<sup>1</sup>, Lúcia Gracinda da Silva<sup>1</sup>, Daniel Basílio Zandonadi<sup>2</sup>, Arnaldo Rocha Façanha<sup>1</sup>, Luciano Pasqualoto Canellas<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, Centro de Biociências e Biotecnologias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego 2000, 28013-602 Campos dos Goytacazes –RJ. [fabioliv@uenf.br](mailto:fabioliv@uenf.br)

<sup>2</sup> Laboratório de Solos, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego 2000, 28013-602 Campos dos Goytacazes –RJ.

\*e-mail: [canellas@uenf.br](mailto:canellas@uenf.br)

Palavras Chave: Interação, ácido húmico, fixação biológica

### Resumo

Existe um razoável consenso na comunidade científica envolvida com pesquisa agropecuária, apontando para a necessidade premente do desenvolvimento de modelos alternativos de produção agrícola para uma parcela significativa de produtores rurais em países sub-desenvolvidos e em desenvolvimento. A construção de modelos de produção sustentáveis e competitivos, é colocada como marco central para agricultura do século XXI, exigindo, dentre uma gama incontável de ações, o desenvolvimento de tecnologias alternativas para incremento da produção vegetal sustentada. Neste sentido, nosso grupo de trabalho tem experimentado um conjunto de ações em pesquisa no sentido de avaliar, validar e desenvolver tecnologias de aplicação conjunta de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas em plantas de interesse agrícola.

Substâncias húmicas são amplamente reconhecidas como principal componente da matéria orgânica, influenciando indiretamente as propriedades químicas, físicas e biológicas dos solos. Efeitos diretos de sua aplicação sobre o crescimento e metabolismo das plantas têm sido descritos para ácidos fúlvicos (Vaughan & Malcolm, 1985, Varanini et al., 1993), e mais recentemente para ácidos húmicos (Chen & Aviad, 1990; Nardi et al., 2000). A avaliação do potencial de ácidos húmicos (AH's) isolados de diferentes fontes de matéria orgânica sobre o crescimento e desenvolvimento de plantas de interesse agrônomo tem sido amplamente exploradas em experimentos em casa-de-vegetação (Chen et al., 1990; Façanha et al., 2002; Canellas e Façanha, 2004). Tais efeitos estimuladores do crescimento se refletem na aceleração das taxas de crescimento radicular, incremento de biomassa vegetal e alterações na arquitetura do sistema radicular (p.ex., incremento da emissão de pêlos radiculares e de raízes laterais finas), resultando no aumento

na área superficial/comprimento do sistema radicular. Embora as bases celulares e moleculares da ação de AH's não estejam estabelecidas, estudos apontam para uma estimulação das bombas H<sup>+</sup>-ATPases da membrana plasmática e uma ação predominantemente auxínica (Nardi et al., 1991; Pinton et al., 1999; Canellas et al., 2002; Quaggiotti et al., 2004).

Na última década, estudos envolvendo bactérias diazotróficas endofíticas tem se intensificado por suas potencialidades como agente de promoção de crescimento e proteção de plantas. No Brasil, dentre outros, merecem destaque os estudos envolvendo interações endofíticas entre plantas da família *Poaceae* [p.ex. cana-de-açúcar (*Saccharum* hyb.); arroz (*Oriza sativa*); milho (*Zea mays*); sorgo (*Sorghum bicolor*); capim elefante (*Pennisetum purpureum*)] e bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Azospirillum* e *Burkholderia* (Döbereiner et al., 1992a, b). Na cultura da cana-de-açúcar, estudos envolvendo seleção de genótipos da planta e de estirpes bacterianas eficientes na fixação biológica de N<sub>2</sub> (FBN) tem apontado para contribuições médias, em torno de 30% de nitrogênio obtido via fixação biológica (Urquiaga et al., 1992; Oliveira et al., 2002). Além da FBN, Olivares e colaboradores (2000) evidenciaram o potencial de promoção do crescimento pela inoculação de estirpes selecionadas de *G. diazotrophicus* e *H. seropedicae* em plantas micropropagadas de cana-de-açúcar, com incrementos na biomassa radicular entre 50 e 350% com relação ao controle não inoculado. Ademais, de modo similar aos ácidos húmicos, foram observadas alterações na geometria da raiz, incremento da proporção relativa de raízes finas, área e comprimento radicular, bem como incremento no teor de nitrogênio, fósforo e potássio em raízes e na parte aérea.

Os efeitos positivos da aplicação de AH's e bactérias diazotróficas sobre o desenvolvimento vegetal, associados a compatibilidade ecológica e

econômica destas técnicas, bem como a possibilidade de sinergismo de resposta, motivaram o desenvolvimento de estudos conjuntos envolvendo a interação substâncias húmicas – bactérias diazotróficas, o qual oferta uma nova frente de pesquisa para o desenvolvimento de tecnologias alternativas para a agricultura, ou mesmo tempo que acena para geração de um insumo biológico com vias ao aumento de produtividade das culturas, natural e ecologicamente correto e economicamente viável.

Os primeiros ensaios de avaliação de aplicação conjunta de bactérias e ácidos húmicos (BACAH) foram conduzidos em plantas de milho e cana-de-açúcar inoculadas com estirpes de *Herbaspirillum seropedicae*. Nos ensaios com plantas de milho, ácidos húmicos oriundos de duas fontes: extraídos de torta de filtro (AHtf) e de vermicomposto (AHv), foram aplicados em plântulas de milho var. UENF 506/6) na concentração de 40 mg.L<sup>-1</sup>, combinados em com a aplicação de *H. seropedicae* estirpe Z67 (BR 11175). As Tabelas 1 e 2 apresentam uma sumarização dos resultados, que de forma geral revelaram que o uso das fontes de ácido húmico (AHtf e o AHv) isoladamente, ou em co-inoculação com *H. seropedicae* estirpe Z67, atuam de maneira

semelhante sobre a morfogênese radicular de plântulas de milho. Os ácidos húmicos afetaram de forma marcante o padrão de crescimento radicular, aumentando a área, massa e o número de raízes emergidas. O tratamento com a bactéria também foi capaz de promover estímulos marcantes no desenvolvimento de plântulas de milho. A utilização de bactérias junto com AHv promoveu maior número de raízes emergidas em menor espaço de tempo. A avaliação do efeito do uso em conjunto de ácidos húmicos e bactérias diazotróficas endofíticas sobre a promoção do desenvolvimento de toletes de cana-de-açúcar var RB 72-454, foi realizada pelo uso AH extraídos de vermicomposto na dose 40 mg.L<sup>-1</sup>, e a inoculação de *H. seropedicae* estirpe HRC54. Toletes previamente tratados termicamente e não tratados, foram imersos durante 24 horas em meio na presença do inóculo. Após esse período, os toletes foram transferidos para vasos Leonard em casa de vegetação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis repetições. As características avaliadas foram: matéria seca e fresca de raiz e parte aérea, área e comprimento radicular, relação raiz parte aérea e altura das plantas.

**Tabela 1** – Efeito de ácidos húmicos isolados de torta de filtro (40 mg AH<sub>TF</sub> L<sup>-1</sup>), da co-inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* estirpe Z67 (Bac+AHtf) e das bactérias sobre: área radicular, comprimento radicular, área específica, comprimento específico, massa seca de raízes, número de sítios de mitose e número de raízes laterais emergidas de plântulas de milho (*Zea mays* L., var UENF 506-6) crescidas por 5 dias em meio mínimo (CaCl<sub>2</sub> 2 mM)

Tratamento	Área radicular -----%-----	Comprimento radicular	Área específica m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup>	Comprimento específico m.g <sup>-1</sup>	Massa seca da raiz g	Sítios de mitose ----n <sup>o</sup> ----	Raízes emergidas ----n <sup>o</sup> ----
Controle	100 ± 09(C)*	100 ± 10(C)	0,060(B)	607(B)	0,0182 ± 0,0016(C)	16 ± 2,17(B)	15 ± 8,5(B)
Bactéria	220 ± 23(B)	179 ± 09(B)	0,101(A)	823(AB)	0,0245 ± 0,0027(B)	58 ± 2,73(A)	118 ± 6,1(A)
ÁHtf	261 ± 12(A)	189 ± 12(B)	0,084(AB)	568(B)	0,0336 ± 0,0021(A)	40 ± 18,8(AB)	107 ± 4,3(A)
Bac.+AHtf	264 ± 11(A)	269 ± 14(A)	0,096(AB)	957(A)	0,0297 ± 0,0024(A)	28 ± 15,1(B)	44 ± 4,6(B)
CV(%)	18,3	30,2	34,7	30,8	27,2	34,2	34,2
F	39,71**	15,62**	4,50*	6,50*	8,53*	8,73*	16,46**
n	10	10	10	10	10	10	10

\*Média ± erro padrão da média; médias seguidas de letras diferentes na coluna são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (p<0,05)

**Tabela 2** – Efeito de ácidos húmicos isolados de vermicomposto (40 mg AHv. L<sup>-1</sup>), da co-inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* estirpe Z67 (Bac+AHv) e das bactérias sobre: massa seca de raiz, área radicular, área específica, número de bactérias, altura das plântulas, número de sítios de mitose e número de raízes laterais emergidas de plântulas de milho (*Zea mays* L., var UENF 506-6) crescidas por 5 dias em meio mínimo (CaCl<sub>2</sub> 2 mM)

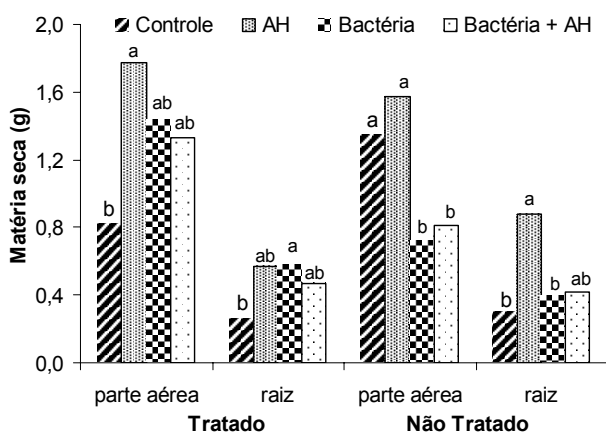
Tratamento	Massa seca de raiz g	Área radicular %	Área específica m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup>	Número de bactérias células.g <sup>-1</sup>	Altura mm	Sítios de mitose ----n <sup>o</sup> ----	Raízes emergidas ----n <sup>o</sup> ----
Controle	0,0207(B)*	100(B)	0,00042(B)	nd***	6,47(B)	65(B)	16(C)
Bactéria	0,0298(A)	113(AB)	0,00041(B)	7,5x10 <sup>7</sup>	21,77(A)	62(B)	58(B)
AHv	0,0239(AB)	133(A)	0,00074(A)	nd	19,76(A)	110(AB)	63(B)
Bac.+AHv	0,0298(A)	124(AB)	0,00052(B)	4,5x10 <sup>7</sup>	22,31(A)	131(A)	132(A)
CV(%)	22,7	21,0	29,6	-----	7,0	33,1	29,4
F	4,58*	3,28*	9,87*	-----	9,26*	5,02*	23,85**
N	10	10	10	3	4	4	4

\*médias seguidas por letras diferentes em colunas são estatisticamente diferentes pelo teste Tukey (P<0,05)

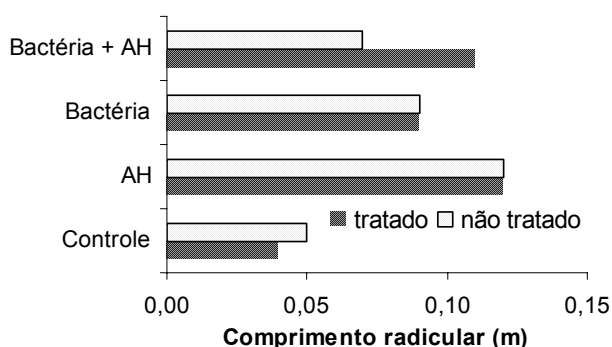
\*\*\*não detectado

Os tratamentos com bactérias diazotróficas e ácidos húmicos alteraram sensivelmente os parâmetros de crescimento radiculares de toletes de cana-de-açúcar (Figura 1, 2 e 3). Incrementos no comprimento radicular de 60% e 118%, foram observados respectivamente para o tratamento bactéria e AH, com ou sem o tratamento térmico. A combinação propiciou incrementos de 40% em toletes não tratados termicamente, e porém, menor do que o estímulo causado pelas bactérias (80%) e pelo ácido húmico (140%) isoladamente. As bactérias estimularam o desenvolvimento radicular dos toletes tratados termicamente promovendo um incremento de massa (123%) semelhante ao efeito do AH. Na ausência do tratamento térmico, os efeitos positivos foram são devido ao AH.

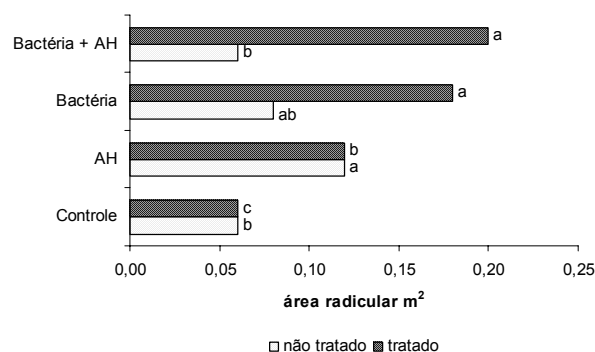
A significância agrônômica dos resultados sugere o aprofundamento de estudos básicos no sentido de verificar a inter-relação entre as bactérias e os ácidos húmicos com vias a otimização de uma formulação biológica não limite os efeitos potenciais de ambos insumos.



**Figura 1** – Efeito da aplicação conjunta de ácido húmico (AH) e da bactéria diazotrófica *H. seropedicae* estirpe HRC54 no acúmulo de biomassa seca de raízes e parte aérea de plantas de cana-de-açúcar var. RB 72454 oriundas de toletes tratados termicamente ou não (n = 4)



**Figura 2** – Efeito da aplicação conjunta de ácido húmico (AH) e da bactéria diazotrófica, *H. seropedicae* estirpe HRC54 no comprimento radicular de plantas de cana-de-açúcar var. RB 72454 oriundas de toletes tratados termicamente ou não (n = 4)



**Figura 3** – Efeito da aplicação conjunta de ácido húmico (AH) e da bactéria diazotrófica *H. seropedicae* estirpe HRC54 na área radicular de plantas de cana-de-açúcar var. RB 72454 oriundas de toletes tratados termicamente ou não (n = 4)

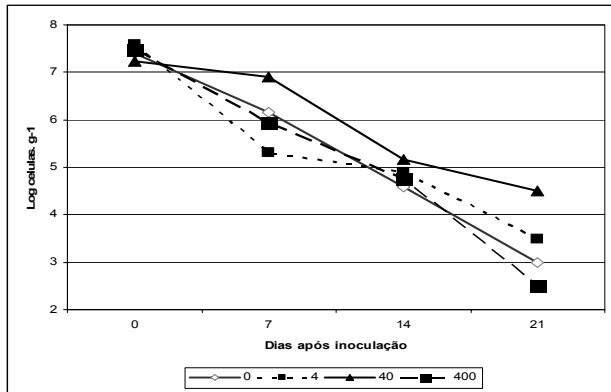
Neste sentido, estudos de laboratório foram conduzidos no intuito de verificar primeiramente as propriedades nutricionais dos ácidos húmicos, através da avaliação do efeito de fontes e doses de ácido húmico sobre a dinâmica populacional das bactérias diazotróficas, avaliando a biodisponibilidade de carbono e nitrogênio para suporte do crescimento bacteriano em meio líquido, sob condições de não-fixação de N<sub>2</sub> (dados não apresentados). Verificou-se ausência de efeito estimulatório/inibitório do crescimento paras as doses crescentes de AHv (0, 4, 40 e 400 mg.l<sup>-1</sup>) em meio líquido contendo ácido como fonte de carbono e cloreto de amônio como fonte de N. Paralelamente, as mesmas doses e fontes de AH foram utilizados para avaliar o crescimento bacteriano em meio semi-sólido isento de N, nesta caso, sob condições de fixação biológica de N<sub>2</sub>, avaliando as taxas de FBN pelo método de redução de acetileno (Tabela 3).

**Tabela 3** – Efeito da dose de Ácido Húmico extraído de vermicomposto (AHv) e de Cambissolo (AHC) sobre a atividade da nitrogenase *Herbaspirillum seropedicae* Z67, avaliada pela atividade de redução de acetileno (ARA) em meio JNFb semi-sólido com diferentes doses de AH (0, 2, 20 e 200 mg C<sub>AH</sub>.L<sup>-1</sup>) após 24, 48, 72, 96 e 120 horas de crescimento a 30°C

Doses	mg C <sub>AH</sub> .L <sup>-1</sup>	ARA (nmol.C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> .mg proteína <sup>-1</sup> )*				
		horas de crescimento				
		24h	48h	72h	96h	120h
Doses AHv	0	0	30	65	42	0
	2	0	64	62	43	0
	20	0	23	60	45	43
	200	0	45	36	0	0
Doses AHC	0	0	28	54	37	0
	2	0	63	65	42	0
	20	0	45	40	36	0
	200	0	26	34	0	0

\*média de três repetições

A FBN não foi inibida pela presença de AH em diferentes doses, embora tenha se verificado uma redução no período de fixação em doses mais elevadas de AH. De outra forma, as doses intermediárias incrementaram as taxas de fixação avaliada as 48 horas após incubação, bem como sugerem um aumento no período de fixação para dose aplicada em plantas ( $AH_v$  a  $40 \text{ mg.l}^{-1}$ ). Outros estudos tem sido conduzidos no intuito de avaliar o potencial dos AH (propriedades físicas), atuando como veículos para condicionamento da atividade biológica das bactérias presentes no inoculante. Nesta direção, a dinâmica populacional de *H. seropedicae* aplicado ao solo, tem sido avaliado na presença ou ausência de AHs (Figura 4). O incremento da sobrevivência e da competitividade das bactérias selecionadas no solo e no ambiente radicular em função da aplicação conjunta com AHs, pode representar uma importante contribuição a longevidade a atividade de inóculo bacteriano, ampliando as chances de sucesso da inoculação na direção da promoção do crescimento.



**Figura 4** – Avaliação da dinâmica de sobrevivência de *Herbaspirillum seropedicae* estirpe Z67 no horizonte B de um argissolo obtido como TFSA, condicionado pela aplicação de diferentes doses de AH aplicadas ao solo (0, 4, 40 e 400 mg. L<sup>-1</sup>). (n=3)

Na presente apresentação, diante das evidências experimentais e da reflexão do grupo sobre os resultados serão discutidas as perspectivas para geração de um produto pré-tecnológico com vias a aplicação de plantas de interesse agrícola que possuem parte de seu ciclo ontogênico em viveiro. Ademais, discute-se a possibilidade de uso de AHs agentes condicionadores de substratos enriquecidos com microrganismos benéficos. Neste caso, a inoculação BACAH produziria substratos para mudas inoculadas por bactérias, melhorando as condições gerais de estabelecimento das mesmas a campo, submetidas a diferentes tipos de estresses. Por fim, as possibilidades e entravês a aplicação deste produto em culturas a campo serão consideradas.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a UENF, FAPERJ e CAPES pela concessão das bolsa de estudo, bem como ao PRONEX, IFS, CNPq e FAPERJ pelo apoio financeiro ao projeto de pesquisa.

## Referências

- CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.O.; OLIVARES, F.L. & FAÇANHA, A.R. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiol.*, 130: 1951-1957, 2002.
- CHEN, Y. & AVIAD, T. Effects of humic substances on plant growth. In: MACCARTHY, P.; CLAPP, C.E.; MALCOM, R.L. & BLOOM, P.R. (Eds), *Humic Substances in Soils and Crop Science: Selected Readings*, Soil Science Society of America, Madison, 1990. pp. 161-186.
- CHEN, Y.; CLAPP, C.E & MAGEN, H. Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: The role of organo-iron complexes *Soil Sci. Plant Nutrit.*, 50: 1089-1095, 2004
- DÖBEREINER J. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. *Symbiosis* 13: 1-13, 1992b.
- DÖBEREINER J. Recent changes in concepts of plant bacteria interactions: Endophytic N<sub>2</sub> fixing bacteria. *Ciência e Cultura*, v.44: 310-313, 1992a.
- ELLAS, L.P. & FAÇANHA, A.R. Relationship between nature of soil humified fractions and their bioactivity. *Pesq. Agropec. Bras.*, 39: 233-240, 2004.
- FAÇANHA, A.R.; FAÇANHA, A.; OLIVARES, F.L.; GURIDI, F.; SANTOS, G. de A.; VELLOSO, A.C.X.; RUMJANEK, V.M.; BRASIL, F.; SCHRISPEMA, J.; BRAZ-FILHO, R.; OLIVEIRA, M.A. & CANELLAS, L.P. Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. *Pesq. Agropec. Brás.*, 37: 1301-1310, 2002.
- NARDI, S.; CONCHERI, G.; DELL'AGNOLA, G. & SCRIMIN, P. Nitrate uptake and ATPase activity in oat seedlings in the presence of two humic fractions. *Soil Biol. & Biochem.*, 23: 833-836, 1991.
- NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; GESSA, C.; FERRARESE, L.; TRAINOTTI, L. & CASADORO, G. A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings. *Soil Biol. & Biochem.*, 32: 415-419, 2000.
- OLIVARES FL, REIS VM AND FAÇANHA AR. The role of endophytic diazotrophs in sugarcane rootmorphogenesis and development. In: Finan TM, O'Brian MR, Layzell DB, Vessey JK and Newton W (Eds), *Nitrogen fixation: Global perspectives*. Oxon: CAB International, p. 476-477, 2000.
- OLIVEIRA ALM, URQUIAGA S, DÖBEREINER J AND BALDANI JI. The effect of inoculating endophytic N<sub>2</sub>-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. *Plant and Soil* 242: 205-215, 2002.
- PINTON, R.; CESCO, S.; IACOLETTI, G.; ASTOLFI, S. & VARANINI, Z., Modulation of nitrate uptake by water-extractable humic substances: involvement of root plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase. *Plant Soil* 215: 155-163, 1999.
- QUAGGIOTTI, S.; RUPERT, B.; PIZZEGHELLO, D.; FRANCIOSO, O.; TUGNOLI, V. & NARDI, S. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays L.*). *J. Exp. Bot.*, 55: 803-813, 2004.
- URQUIAGA, S.; CRUZ, H.S.; BODDEY, R.M. Contribution of nitrogen fixation to sugarcane: nitrogen-15 and nitrogen balance estimates, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56 (1992) 105-114.
- VARANINI, Z.; PINTON, R.; DE BIASI, M.G.; ASTOLFI, S. & MAGGIONI, A. Low molecular weight humic substances stimulated H<sup>+</sup>-ATPase activity of plasma membrane vesicles isolated from oat (*Avena sativa L.*) roots. *Plant Soil*, 153: 61-69, 1993.
- VAUGHAN, D. & MALCOM, R.E. Influence of humic substances on growth and physiological processes. In: AUGHAN, D. & MALCOM, R.E. (Eds), *Soil Organic Matter and Biological Activity*. Dordrecht, Martinus Nijhoff/ Junk W, 1985. pp. 37-76.

# Chemical stabilization of soil nitrogen by phenolic lignin residues in anaerobic agro-ecosystems

Daniel C. Olk

USDA-ARS, National Soil Tilth Laboratory, 2150 Pammel Drive, Ames, IA 50011, USA.

e-mail: [olk@nstl.gov](mailto:olk@nstl.gov)

## Introduction

In agricultural soils, soil organic matter forms primarily from incorporated crop residues. In some agro-ecosystems, the transformation of crop residues into new soil organic matter (SOM) occurs primarily or partly under anaerobic conditions. These systems include irrigated lowland rice (*Oryza sativa* L.) grown in the tropics and in temperate regions and either in monoculture or in rotation with other crops, and also taro (*Colocasia esculenta* L.) in Hawaii. In other agrosystems, decomposition can be partly anaerobic, such as in seasonally flooded soils and in maize (*Zea mays* L.)-based rotations under no-tillage in cooler and wetter regions of temperate climates. Scattered evidence exists for an impedence of nutrient cycling in all of these anaerobic agrosystems, especially for nitrogen (N). This report summarizes evidence for the N disorders in selected agro-ecosystems and presents one plausible explanation for them that is based on chemical interactions of N with SOM.

## Intensively Cropped Irrigated Lowland Rice In Tropical Asia

The agrosystem best characterized by anaerobic decomposition is tropical continuous rice, with two to three annual crops. Soils are flooded for 8 to 11 months each year and large biomasses of roots and stubble are incorporated at the onset of each cropping period. Results from some long-term field experiments indicated yield declines of >30% during 20 or more years of intensive rice cropping (Cassman et al., 1995; Dobermann et al., 2000). The yield decline was associated with a late-season deficiency in crop N uptake. Because most fertilizer N was applied at early growth stages and inorganic N is not stable in flooded soils for more than a few weeks, the late season N deficiency indicates decreasing availability of soil N that was mineralized from SOM.

Such long-term intensive rice cropping also resulted in a large accumulation of phenolic compounds in SOM (Olk et al., 1996, 1998). These compounds were derived from lignin that comprises the woody tissues of plant roots and straw. Under laboratory conditions phenols readily bind covalently with nitrogenous compounds, forming anilide-like structures (Fig. 1) that would be relatively less available for crop N uptake. Until recently, available

technology has been unable to detect anilide structures in SOM that formed under field conditions. Through recent advances in nuclear magnetic resonance spectroscopy, phenolic lignin residues were shown to covalently bind agronomically significant quantities of N in a labile humic fraction, the mobile humic acid (MHA) fraction, from a triple-cropped lowland rice soil in the Philippines, while much smaller amounts of lignin residues and covalently bound N were found in the MHA of a nearby aerated soil (Schmidt-Rohr et al., 2004). The difference in anilide N between these two fields corresponded to ~55 kg N ha<sup>-1</sup> in the plow layer, while the yield decline was caused by decreased crop uptake of about 60 kg N ha<sup>-1</sup> season<sup>-1</sup>. Hence impaired cycling of anilide N could contribute substantially to the yield decline.

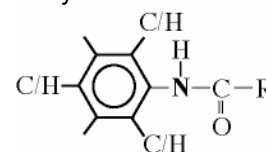


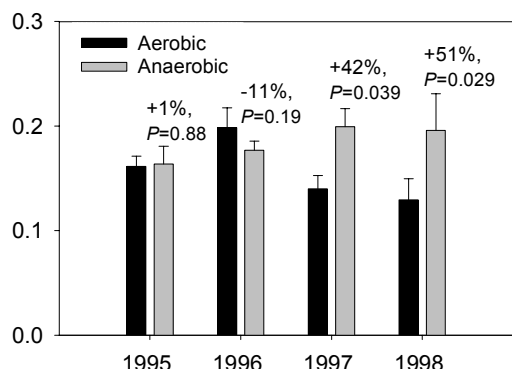
Figure 1 - Chemical structure of anilide.

Phenol enrichment of the MHA fraction was detected by nuclear magnetic resonance spectroscopy for a range of intensively cropped rice soils that differed greatly in their degree of drying during two-month fallows, due to local climatic conditions (Olk et al., 1998). At all sites, the crop residues—the parent material of new SOM—were incorporated and decomposed under anaerobic conditions, following standard field practices for tropical rice farmers. The common accumulation of phenolic compounds despite varying durations of soil wetness led to the hypothesis that anaerobic decomposition of incorporated crop residues was the key feature of intensive rice cropping that promotes the accumulation of phenolic lignin residues and their binding with soil organic N.

In a subsequent experiment of double-cropped lowland rice in the Philippines, aerobic decomposition of crop residues promoted faster N mineralization from the mobile humic acid fraction during the growing season compared to anaerobic decomposition. During the third wet season in 1997, 22 kg N ha<sup>-1</sup> more was mineralized from the MHA fraction with aerobic decomposition than with anaerobic decomposition, and this difference was 20-25% of crop N uptake in this field (Olk et al.,



2006b). Crop uptake of soil N was also greater with aerobic decomposition than with anaerobic decomposition. Decomposition of phenolic compounds during the growing season was enhanced by aerobic decomposition (Fig. 2).



**Figure 2** - Relative abundance of 2-methoxyphenol in the mobile humic acid fraction for aerobic decomposition of crop residues and anaerobic decomposition of crop residues during a four-year field experiment. Percent increase in relative abundance from aerobic to anaerobic decomposition and level of significance of this difference are indicated. Standard errors appear above each bar. Phenols were measured by tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis, and relative abundance was calculated as the ratio of the peak

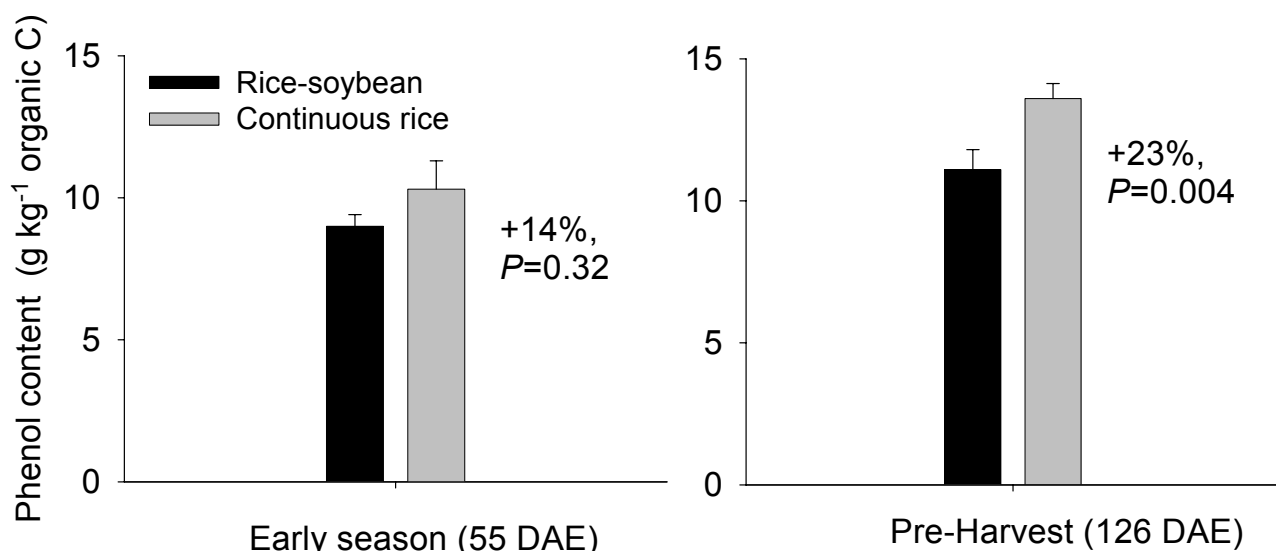
area for 2-methoxyphenol to the peak area for an internal standard. Source: Olk et al. (2006a).

### Continuous Rice Cropping In Arkansas, USA

Soil is anaerobic much of the year in a continuous rice rotation in Arkansas, U.S., where fields are kept flooded during winter months for over-wintering birds. In a four-year field experiment, yield of continuous rice was 19% less than for rice following soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) (Anders et al., 2004). Following local recommendations, all fertilizer was applied at one time early in the rice growing season. Application of <sup>15</sup>N-labeled fertilizer in microplots during the 2002 growing season demonstrated for the continuous rice rotation a late-season slowing of crop uptake of unlabeled N, suggesting an inhibition of soil N mineralization (Table 1). Decomposition of lignin-derived phenols during the growing season was also slower under continuous rice than under rice following soybean (Fig. 3). Comparable trends were seen in the 2004 growing season. Similar to tropical rice, therefore, relatively anaerobic soil conditions were associated with both an inhibition of soil N mineralization and an accumulation of soil phenols.

**Table 1.** Rice crop uptake (kg ha<sup>-1</sup>) of labeled fertilizer N and unlabeled soil N for two crop rotations in 2002. Standard errors are in parentheses. DAE is days after emergence.

N pool	Crop rotation	Panicle initiation 83 DAE	50% heading 103 DAE	Harvest 133 DAE
Fertilizer	Rice-soybean	58 (6)	51 (3)	54 (9)
	Rice-rice	51 (3)	42 (4)	40 (8)
	difference	7	9	14
Soil	Rice-soybean	51 (2)	69 (11)	91 (26)
	Rice-rice	45 (8)	44 (8)	67 (10)
	difference	6	25	24



**Figure 3** – Soil content of lignin-derived phenols (coumaryl, syringyl, and vanillyl phenols) extracted by cupric oxide analysis for rice-soybean and continuous rice rotations at two sampling dates in Stuttgart, Arkansas. DAE is days after emergence. Percent increase from the rice-soybean rotation to continuous rice rotation, level of significance (*P*) of this difference, and standard error for each bar are indicated. Source: Olk et al. (2006a).



## Hawaii Taro

Taro is commonly grown under paddy conditions, in which floodwaters are maintained in the field for as many as 13 consecutive months. Paddy taro is normally grown continuously, and fallows between crops are of short duration. Taro is harvested for starch that accumulates in the corm, a thickened section of the root. In Hawaii, the statewide mean taro yield declined from 24.8 t ha<sup>-1</sup> to 18.4 t ha<sup>-1</sup> between 1965 and 1979 (U.S. Department of Agriculture 1975, 1980). Long-term yield trends for individual fields have not been recorded, and it is unknown whether the yield decline is due to nutrient disorders, pest damage, or other causes. Anecdotal evidence suggests an N deficiency, despite monthly applications of N fertilizer. Future work will establish the taro yield response to more frequent application of N fertilizer.

## No-Tillage In Temperate Climates

No-tillage in temperate regions prolongs the decomposition of crop residues into the springtime. A yield gap is commonly associated with no-tillage of continuous maize in regions where the spring is cool and wet. A few studies of <sup>15</sup>N-labeled fertilizer indicated decreased crop uptake of N mineralized from SOM, even while the crop readily took up fertilizer N (Kitur et al., 1984; Rice et al., 1986; Clay et al., 1990). The effects of no-tillage on the chemical nature of SOM are unexplored.

## Conclusions

Nutrient deficiencies and yield gaps occur in a number of agro-ecosystems that share anaerobic decomposition of crop residues. In some of these agrosystems, phenolic compounds were shown to accumulate. Their covalent binding of organic N offers one explanation for the impedance of N cycling and yield gaps, as this chemical stabilization seems possible in any soil where woody crop tissues decompose anaerobically. Chemical binding of soil N might impair crop production whenever all factors of crop growth other than N availability are optimized and N fertilizer is not applied in synchrony with crop N demand.

For each of these anaerobic agro-ecosystems, future research should (i) measure the abundance of soil phenols, (ii) determine whether lignin residues are binding significant amounts of N, (iii) measure rates of N cycling, including the covalently bound N, (iv) determine whether the impedance of N cycling is responsible for the yield gaps, and (v) identify mitigation options.

## References

- Anders, M.M., Olk, D., Harper, T., Daniel T., Holzhauer, J. 2004. The effect of rotation, tillage, and fertility on rice grain yields and nutrient flows. Proceedings, 26<sup>th</sup> Southern Conservation Tillage Conference for Sustainable Agriculture, 8-9 June 2004, Raleigh, NC. North Carolina Agricultural Research Service Technical Bulletin TB-321, CD format.
- Cassman, K.G., de Datta, S.K., Olk, D.C., Alcantara, J., Samson, M., Descalsota, J., Dizon, M. 1995. Yield decline and the nitrogen economy of long-term experiments on continuous, irrigated rice systems in the tropics. p. 181-222. In R. Lal and B.A. Stewart (ed.) Soil management: Experimental basis for sustainability and environmental quality. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Clay, D.E., Malzer, G.L., Anderson, J.L., 1990. Tillage and dicyandiamide influence on nitrogen fertilizer immobilization, remineralization, and utilization by maize (*Zea mays* L.). Biol. Fertil. Soils 9: 220-225.
- Dobermann, A., Dawe, D., Roetter, R.P., Cassman, K.G., 2000. Reversal of rice yield decline in a long-term continuous cropping experiment. Agron. J. 92, 633-643.
- Kitur, B.K.; Smith, M.S.; Blevins, R.L.; Frye, W.W. 1984. Fate of <sup>15</sup>N-depleted ammonium nitrate applied to no-tillage and conventional tillage corn. Agron. J. 76:240-242.
- Olk, D.C.; Cassman, K.G.; Randall, E.W.; Kinchesh, P.; Sanger, L.J.; Anderson, J.M. 1996. Changes in chemical properties of organic matter with intensified rice cropping in tropical lowland soil. Eur. J. Soil Sci 47:293-303.
- Olk, D.C, Cassman, K.G., Randall, E.W., Mahieu, N. 1998. Conserved chemical properties of young humic acid fractions in tropical lowland soil under intensive irrigated rice cropping. Eur. J. Soil Sci. 49:337-349.
- Olk, D.C., Cassman, K.G., Schmidt-Rohr, K., Anders, M.M., Mao, J-D., Deenik, J.L. 2006a. Chemical stabilization of soil organic nitrogen by phenolic lignin residues in anaerobic agrosystems. Soil Biol. Biochem: (submitted).
- Olk, D.C., Samson, M.I., Gapas, P. 2006b. Inhibition of nitrogen mineralization in young humic fractions by anaerobic decomposition of rice crop residues. Eur. J. Soil Sci.: (submitted).
- Rice, C.W.; Smith, M.S.; Blevins, R.L. 1986. Soil nitrogen availability after long-term continuous no-tillage and conventional tillage corn production. Soil Sci. Soc. Am. J. 50:1206-1210.
- Schmidt-Rohr, K.; Mao, J-D.; Olk, D.C. 2004. Nitrogen-bonded aromatics in soil organic matter and their implications for a yield decline in intensive rice cropping. Proceedings, Nat. Acad. Sci. (U.S.) 101:6351-6354.
- U.S. Department of Agriculture, 1975. USDA Agricultural statistics 1975.
- U.S. Department of Agriculture, 1980. USDA Agricultural statistics 1980.

## Compostos húmicos sedimentares: caracterização e reatividade

Maria Marta de Souza Sierra

Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil.

e-mail: sierra@qmc.ufsc.br

### Introduction

Humic substances (HS) are ubiquitous and represent a significant proportion of the organic carbon cycle on Earth having, consequently, a profound influence on the biogeochemical cycles of both natural and anthropogenic constituents in natural environments.<sup>1,2</sup> Therefore, a knowledge of the physical and chemical properties of these substances as well as of their interactions with xenobiotics are aspects that should always be considered in studies related to the management and remediation of ecosystems. The newest concept attributed to humus mixtures is that they consist of associations of relatively small molecules with similar characteristics, held together via supramolecular interactions.<sup>3-5</sup> Such a definition is, in some aspects, in line with the “building blocks” arrangements proposed by Schnitzer and Khan.<sup>6</sup>

A detailed characterization of HS requires the application of several analytical tools combined with chemical, spectroscopic and fractionation methods. Elemental analysis (C, H, N, O and S) is the first step in such a processes. The atomic ratios H/C, N/C and O/C can then be used to indicate the organic matter source, the degree of condensation and the environmental conditions under which the HS were generated.<sup>7,8</sup> Fourier Transform infrared spectroscopy (FT-IR) has also been widely used for HS characterization in spite of the fact that in HS, each type of functional group exists in a variety of different chemical environments and yields infrared spectra with overlapped broad bands. Even after the advent of more specific analytical techniques such as proton and solid-state cross-polarization magic angle spinning carbon nuclear magnetic resonance (<sup>1</sup>H and CP/MAS <sup>13</sup>C-NMR) or pyrolysis coupled to gas chromatography and mass spectrometry (Py-GC/MS), these classical techniques remain necessary to support the interpretation of the results.

Soil HS have been frequently studied, however a lack of knowledge remains with respect to chemical properties of HS from aquatic systems, mainly estuaries. An estuary has distinct sources of organic matter such as rivers, rainfall, marshes, seawater, release from living and dead organisms and degradation products of phytoplankton. Such mixture is expected to produce humic materials with specific characteristics. With the purpose of improving understanding vis-à-vis the structural features of HS from estuarine/aquatic systems as

well as determining the relationships between such features and the sources and evolution of organic matter (OM) within these environments, a set of fulvic acid (FA) and humic acid (HA) samples were isolated from marine, estuarine and lacustrine subtropical sediments, in the southeast coast of Brazil. South-brazilian mangroves are well-developed ecosystems of diverse fauna and vegetation, presenting characteristic phytocenosis. The degree of light intensity and the hydric regime contribute to the resistance of the typical vegetation to the sub-optimal temperature and the permanent river inputs and the rainfall rates contribute to the slowing down of the salt increase in the sediment. These mangroves, as similar ecosystems, behave as a source of nutritive matter to the adjacent coastal zone, showing intrinsic environmental diversity, and working as a barrier for heavy metal exportation.<sup>9</sup> In order to avoid bias and variability related to experimental details, our samples were prepared using the method suggested by the IHSS. Such care produced a homogeneous set of samples of HS for which confident comparisons of the results were possible.

### Results And Discussion

#### Elemental, FT-IR and CP/MAS <sup>13</sup>C-NMR analysis

Elemental analysis showed that estuarine HS exhibit mixed continental-marine influences, these being highly influenced by site location. In some respects, they are well correlated with the marine OM (e.g. low C/H ratio), while in others they are better associated to terrestrial material (e.g. high C/N ratio).<sup>10-12</sup> High rates of microbiological activity, combined with a tide-dependent contribution of an aliphatic marine-like source of organic matter, may account for such results. Chemical anomalies were not observed in samples from polluted sites, indicating that moderate anthropogenic disturbances will affect chemical processes related to humic compounds rather than their chemical design.

Elemental composition together with spectroscopic studies (FT-IR and CP/MAS <sup>13</sup>C-NMR) showed that HA are relatively richer in nitrogen and in aliphatic chains than FA from the same sediments. Conversely, FA are richer in carboxylic groups and in ring polysaccharides than HA. Nitrogen is mostly present as amide groups and, for lake and marine HS the FT-IR peaks around 1640 cm<sup>-1</sup> and 1540 cm<sup>-1</sup> identify polypeptides. Overall, the data suggest that aquatic and mixed HS are more aliphatic than has been proposed in

current models and also that amide linkages form an important part of their structural configuration.<sup>11,12</sup> A set of experiments, using model-compounds, was carried out in order to evaluate the influence of such amide linkages on acidity measurements of HS.<sup>13</sup> Three benzene carboxylic acids (2,4-dihydroxybenzoic acid; 3,5-dihydroxybenzoic acid and phthalic acid) and two peptides (DL-alanyl-DL-alanine and glycyl-L-leucine) were employed to simulate the major acidic functional groups present in humic material. The acidity of the samples was measured, using the Schnitzer and Gupta<sup>14</sup> methods, for each compound separately, as well as for selected mixtures with different compound combinations. General results showed that, in the absence of peptides, phenolic groups with high  $pK_a$  values are not detected in the barium hydroxide reaction and the data so obtained do not represent the real concentrations of the acidic groups. For the mixtures containing peptides, the presence of amide linkages distorts the results relative to the total acidity (TA) mainly because under the extreme conditions of the reaction with  $Ba(OH)_2$  hydrolysis of the peptide occurs, consuming extra hydroxyl groups and increasing artificially the phenolic content. Such a condition is minimized by the reduction of the reaction time.

### **3D-Fluorescence and RP-HPLC analysis**

Excitation/emission matrix (EEM), single-scan excitation and synchronous fluorescence spectra of the samples were also investigated.<sup>15</sup> The EEM plots showed at least four spectral features whose corresponding *Ex/Em* pairs relate to the  $\alpha'$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  (or  $\delta$ ) fluorophores previously found in natural waters spectra.<sup>16</sup> The  $\alpha'$  and  $\alpha$  peaks, which identify typical humic-like components, are present in all samples, independently of the organic matter (OM) source. In FA, their *Ex/Em* pairs are  $\sim 260$  nm/460 nm and  $\sim 310$  nm/440 nm, respectively. In HA their excitation and emission maxima are red-shifted, the corresponding *Ex/Em* pairs being located at  $\sim 265$  nm/525 nm and  $\sim 360$  nm/520 nm, respectively. The appearance of  $\beta$  and  $\gamma$  (or  $\delta$ ) peaks is dependent both on the OM origin and on HS aging. The former (*Ex/Em*  $\sim 320$  nm/430 nm), that has been associated with the incidence of marine humic-like material, is present only in a few marine and estuarine HA. It emerges as a shoulder on the  $\alpha$  peak and its detection is dependent on a balance between its magnitude and the magnitude and emission maxima location of the  $\alpha$  peak. The  $\gamma$  (or  $\delta$ ) peak (*Ex/Em*  $\sim 275$  nm/315 nm in FA, and  $\sim 275$  nm/330 nm in HA), on the other hand, is better visualized in FA than in HA diagrams. It has typical protein-, mainly tryptophan-like, fluorescence properties and appears with varied significance in a few marine and estuarine samples being hardly detected in samples from exclusively terrestrial environments. It has also

been shown in this study that with selected  $\lambda_{ex}$ ,  $\lambda_{em}$  and  $\Delta\lambda$  values, regular emission, excitation and synchronous spectra can, together, provide a good picture of the OM sources and aging for extracted HS.<sup>16</sup>

FA and HA were as well fractionated with reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) in a water/acetonitrile gradient, with fluorescence detection. Differences between FA and HA chromatograms pointed to a higher incidence of hydrophobic components in the latter. Excitation-emission matrix fluorescence diagrams of most fractions were similar to those of the bulk samples indicating that, in spite of their distinct polarities, the complexity and main spectral characteristics of the materials persisted. A primary group of fluorophores, which are present in most of the fractions, seems to be at the origin of the fluorescence properties of both kinds of HS. A bathochromic shift of the bulk solutions spectra in relation to the fraction emissions was attributed to a greater proximity of these fluorophores, possibly due to the formation of aggregates.<sup>17</sup> Generally, the results reinforced concepts that humic macromolecules consist of assemblages of structurally similar building blocks.

### **Reactivity aspects**

The interactions between HS and nonpolar compounds (pyrene and naphthalene) were also investigated.<sup>18,19</sup> Surface activity and fluorescence of HS, HS/pyrene and HS/naphthalene solutions were monitored under various pH conditions. For HS alone the surface tension of the solutions decreased with increasing acidity, with a minimum at around pH 4. This effect, which is a consequence of an increase in the amphiphilic character of structures, is much more pronounced in HA than in FA. The addition of pyrene ( $0.1 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) results, for HA, in a marked reduction in the migration of amphiphilic species to the solution surface. FA profiles are not modified in presence of pyrene at that concentration. A decrease in the pyrene  $I_1/I_3$  ratio in HS solutions shows that below pH 9 pyrene molecules react progressively to the change to a more hydrophobic environment, the greatest effect being observed at around pH 6 to 7. These signals are followed by a significant increase in the pyrene excimer fluorescence ( $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 334$  nm/450 nm), which is a consequence of the proximity of pyrene molecules. For FA, the  $I_1/I_3$  decrease is less significant and no excimers develop. This set of effects is explained in view of conformational adjustments of HS, mainly HA, which become arranged in micelle-like domains in aqueous solution, the aromatic moieties being assembled around the pyrene molecules.

A few parallel studies have equally showed that the pyrene solubility is greatly influenced by the presence of both HA (higher effect) and FA (lower

effect) in the aqueous solutions. The extent of this effect depends on the concentration as well as on the origin of the sample (peat HA > soil HA > estuary HA) and is directly related to the Koc value.

### Acknowledgment

This work was supported by the Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq, Brazil) and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil). Special acknowledgment to the following collaborators: Prof. Dr. Eduardo Juan Soriano-Sierra (Núcleo de Estudos do Mar, UFSC); Prof. Dr. Nito Angelo Debacher; Prof. Dr. Bruno Szpoganicz; Prof. Dr. Luiz Augusto S. Madureira; Dr. Thalita Grando Rauen; Ms. Andreia Neves Fernandes; Gr. Luciano Tormen (Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina); Prof. Dr. Marcelo Giovanela (Universidade de Caxias do Sul); Prof. Dr. Edith Parlanti (Université de Bordeaux, France); Prof. Dr. Valdemar Esteves (Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Portugal).

### References

- <sup>1</sup> Lovley, D.R.; Coater, J.D.; Blunt-Harris, E.L.; Philips, E.J.P. e Woodward, J.C. *Nature* **1996**, *382*, 445.
- <sup>2</sup> Haitzer, M.; Abbt-Braun, G.; Traunspurger, W.; Steinberg, C.E.W. *Environ. Toxicol. Chem.* **1999**, *18*, 2782.
- <sup>3</sup> Piccolo, A.; Nardi, S., Concheri, G. *Chemosphere* **1996**, *33*, 595.
- <sup>4</sup> Sein Jr., L.T.; Varnum, J.M. e Jansen, S.A., *Environ. Sci. Technol.* **1999**, *33*, 546.
- <sup>5</sup> Cizzolino, A.; Conte, P. e Piccolo, A. *Soil Biol. Biochem.* **2001**, *33*, 563.
- <sup>6</sup> Schnitzer, M. e Khan, S. U., 1972. Humic substances in the environment, Marcel Dekker, New York, 327 pp.
- <sup>7</sup> Rice, J.A. e MacCarthy, P., *Org. Geochem.* **1991**, *17*, 635.
- <sup>8</sup> Steelink, C., 1985. Implications of elemental characteristics of humic substances. In: Aiken, G. R., McKnight, D. M., Wershaw, R. L., MacCarthy, P. (Eds.), Humic substances in soil, sediments and water. Wiley Interscience, New York, pp 457-476.
- <sup>9</sup> Soriano-Sierra, E.J.; Despouy de Ledo, B.J.; Sierra, M.M.D. *Courrier de la Nature*, **2004**, *211*, 18.
- <sup>10</sup> Sierra, M.M.D.; Giovanela, M.; Soriano-Sierra, E.J. *Environ. Technol.* **2000**, *21*, 979.
- <sup>11</sup> Sierra, M.M.D.; Giovanela, M.; Parlanti, E.; Soldi, M.; Soriano-Sierra, E.J. *Geochem. J.* **2004**, *38*, 255.
- <sup>12</sup> Sierra, M.M.D.; Giovanela, M.; Esteves, V. I.; Duarte, A.C.; Fransozo, A.; Soriano-Sierra, E.J. *J. Coastal. Res.* **2005**, *42*, 370.
- <sup>13</sup> Sierra, M.M.D.; Fernandes, A.N.; Szpoganicz, B. *Talanta* **2004**, *62*, 687.
- <sup>14</sup> Schnitzer, M.; Gupta, U.C. *Soil Soc. Am. Proc.*, **1965**, *29*, 274.
- <sup>15</sup> Sierra, M.M.D.; Giovanela, M.; Parlanti, E.; Soriano-Sierra, E.J. *Chemosphere* **2005**, *58*, 715.
- <sup>16</sup> Parlanti, E.; Wörz, K.; Geoffroy, L.; Lamotte, M. *Org. Geochem.* **2000**, *31*, 1765.
- <sup>17</sup> Sierra, M.M.D.; Giovanela, M.; Parlanti, E.; Soriano-Sierra, E.J. *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *in press*.
- <sup>18</sup> Rauen, T.G.; Soriano-Sierra, E.J.; Sierra, M.M.D. *Quím. Nova* **2002**, *26*, 909.
- <sup>19</sup> Sierra, M.M.D.; Rauen, T.G.; Tormen, L.; Debacher, N.A.; Soriano-Sierra, E.J. *Water Res.* **2005**, *39*, 3811.

## Seção 1



Todos os resumos publicados neste livro são reproduções de cópias fornecidas pelos autores. O conteúdo dos resumos é de responsabilidade exclusiva dos autores. O Comitê Organizador do VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas não se responsabiliza pelas conseqüências do uso de qualquer dado, afirmação ou opinião publicada neste livro.



# Efeitos da aplicação de ácidos orgânicos na produção de uva cv. Itália no Vale do São Francisco

Luís Henrique Bassoi\*<sup>1</sup>(PQ), Soraya Teixeira Silva<sup>1</sup>(PQ), Ademar Virgolino da Silva Filho<sup>2</sup>(TC)

1 - Embrapa Semi-Árido, C.P. 23, 56302-970, Petrolina – PE 2 – Companhia de Agroquímicos S.A., Rua Tiradentes, 520, 56328-170, Petrolina – PE. \*e-mail: lhbassoi@cpatsa.embrapa.br

Palavras Chave: *Vitis vinifera L.*, baga, diâmetro.

## Introdução

Os estudos sobre aplicação de substâncias húmicas no crescimento das plantas, em condições adequadas de nutrição mineral, mostram consistentemente efeitos positivos na germinação de sementes e no crescimento das plântulas, na iniciação da raiz e seu crescimento, e no desenvolvimento da parte aérea, o que acarreta em maior biomassa. No entanto, os estímulos ao sistema radicular são mais visíveis que os da parte aérea (Chen & Aviad, 1990).

No Vale do São Francisco, o uso de ácidos orgânicos na fruticultura irrigada vem despertando o interesse de muitos produtores, em consequência de resultados positivos quanto ao aumento de produção em outros locais. Entretanto, são incipientes os resultados de pesquisas em condições edafoclimáticas do semi-árido brasileiro.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi o de analisar os efeitos dos ácidos orgânicos na produção de uva de mesa cv. Itália.

Um experimento foi realizado em uma área com a videira cv. Itália sobre porta-enxerto IAC 572, plantada em espaçamento de 3,5 x 3 m, em um solo de textura arenosa e irrigada por microaspersão, no Perímetro Irrigado Senador Nilo Coelho, em Petrolina – PE. Foram realizadas avaliações nas colheitas de 3 ciclos de produção consecutivos (2º semestre de 2000, 1º e 2º semestres de 2001).

A aplicação de fertilizantes realizada pelo produtor baseou-se na análise de solo e na recomendação de adubação para a videira. No 1º ciclo, foram aplicados 30 m<sup>3</sup>.ha<sup>-1</sup> de esterco em toda a área, e nos 3 ciclos, foram aplicados 60 e 80 kg ha<sup>-1</sup> de N, 100 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, e 200 a 250 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O. A variação nas doses de N e K<sub>2</sub>O foi decorrente dos resultados da análise do solo para cada ciclo. Também foram realizadas, dependendo do ciclo, 6 a 8 aplicações foliares de Zn 3%, B 0,5%, Fe 0,5%, Mn 0,5%, e Mo 0,02%. Foram empregados dois tratamentos: 1 – testemunha (adubação utilizada pelo produtor); 2 – adubação utilizada pelo produtor + aplicação de ácidos orgânicos originados da leonadita (Codahumus 20<sup>TM</sup>, 10,0 % de ácidos húmicos p/p, 10,2 % de ácidos fúlvicos p/p, densidade 1,37 g.cm<sup>-3</sup>, pH 12,0) na dose de 20 L.ha<sup>-1</sup>, durante 10 semanas consecutivas, a partir da poda.

Foram medidos o peso médio do cacho (PMC), o número de cachos por planta, o diâmetro médio de bagas (d), obtido a partir do diâmetro de 15 bagas de 10 cachos por planta, e determinada a classificação dos cachos segundo os valores de d (BR d ≥ 25 mm, tolerância para 15% das bagas com d ≥ 24 mm; NE d ≥ 24 mm, tolerância para 20% das bagas com d ≥ 23 mm; VS d ≥ 22 mm, tolerância para 10% das bagas com d ≥ 21 mm; MI d < 22 mm).

O delineamento utilizado foi o de blocos ao acaso, com 4 repetições no 2º semestre de 2000 e 1º semestre de 2001, e 3 repetições no 2º semestre de 2001. Cada parcela continha 10 plantas, sendo as 6 plantas centrais consideradas como área útil.

## Resultados e Discussão

A análise de variância do peso médio dos cachos mostra que houve efeito dos tratamentos no 2º semestre de 2001 (3º ciclo). No entanto, o número de caixas classificadas como NE e VS diferiram entre os tratamentos no 2º semestre de 2000 (Tabela 1).

**Tabela 1.** Análise de variância do peso médio dos cachos (PMC, g) e número de caixa (C) de uva cv. Itália NE, VS e MI, nos ciclos do 2º semestre de 2000 e do 1º e 2º semestre de 2001.

ciclo	PMC		CNE	
	teste F	p	teste F	p
2º sem. 00	0,58	0,50	5,65	0,097*
1º sem.01	0,70	0,46	0,99	0,393
2º sem.01	17,55	0,051*	2,43	0,258
	CVS		CMI	
	teste F	p	teste F	p
2º sem. 00	6,76	0,080*	1,00	0,391
1º sem.01	1,09	0,373	3,00	0,181
2º sem.01	0,23	0,678	1,00	0,42

\* significativo a 10 % de probabilidade

Os valores médios de PMC e do número de caixas classificadas como NE e VS para o tratamento com aplicação de ácidos orgânicos, foram superiores aos da testemunha para os ciclos acima mencionados (Tabela 2). O PMC foi de 755,8 e 795,3 g no 2º semestre de 2000, e de 776,8 e 791,0 g no 1º semestre de 2001, respectivamente, para os tratamentos testemunha e aplicação de ácidos orgânicos, sem que houvesse diferenças significativas entre eles.



O diâmetro de bagas, analisado segundo um esquema de medidas repetidas, apresentou diferenças quanto aos tratamentos no 1º semestre de 2001 (Tabela 3). O valor médio do tratamento com aplicação de ácidos orgânicos foi maior que a testemunha (Tabela 4).

**Tabela 2.** Valores médios do peso médio dos cachos (PMC, g) do 2º semestre de 2001, e número de caixas NE e VS do 2º semestre de 2000 em função do tratamentos testemunha e com aplicação de ácidos orgânicos.

tratamentos	PMC	CNE	CVS
testemunha	643,0 b	21,0 a	16,3 a
aplicação de ácidos orgânicos	683,7 a	17,0 b	13,0 b

Valores seguidos pela mesma letra em uma coluna não diferem pelo teste t a 10% de probabilidade

**Tabela 3.** Análise de variância do diâmetro de bagas, no esquema de medidas repetidas.

causa da variação	2º sem. 2000		1º sem. 2001		2º sem. 2001	
	teste F	p	teste F	p	teste F	p
tratamentos	2,00	0,206	4,512	0,077*	0,003	0,957
diâmetro	1,162	0,337	1,383	0,218	1,025	0,439
interação	0,604	0,787	0,354	0,951	1,197	0,326

\* significativo a 10% de probabilidade

**Tabela 4.** Valores médios do diâmetro de baga em função dos tratamentos.

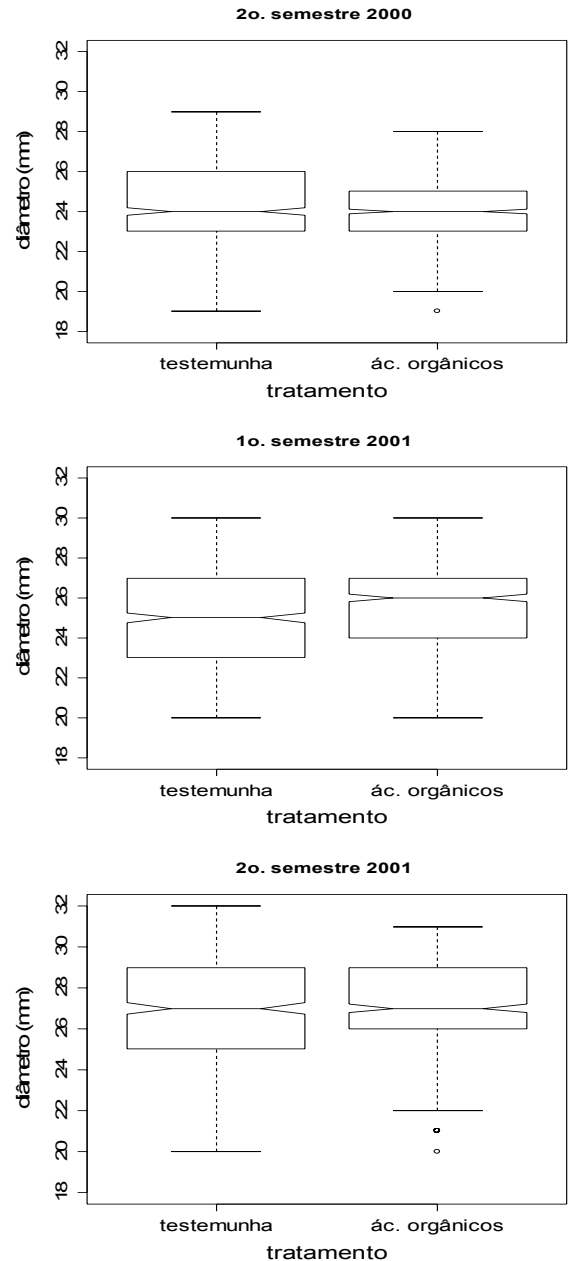
tratamentos	2º sem. 2000	1º sem. 2001	2º sem. 2001
testemunha	24,3 a	25,2 b	27,0 a
aplicação de ácidos orgânicos	24,0 a	25,7 a	27,0 a

Valores seguidos pela mesma letra em uma coluna não diferem pelo teste t a 10% de probabilidade

Outro estudo sobre o uso de ácidos húmicos e fúlvicos na videira cv. Itália descreveu um aumento do rendimento da cultura, a partir de 40 L.ha<sup>-1</sup>, em relação à testemunha (sem aplicação). Não houve diferenças significativas no teor de sólidos solúveis, acidez titulável, e diâmetro da baga. Porém, as aplicações de 20 e 40 L.ha<sup>-1</sup> resultaram em predomínio de bagas com diâmetro 21 e 22 mm. Para a dose de 60 L.ha<sup>-1</sup>, 48% das bagas apresentaram diâmetro superior a 22 mm (Pinto et al., 2004).

Uma análise exploratória e descritiva (R Development Core Team, 2004) também foi realizada com os valores referentes ao diâmetro das bagas (Figura 1). No tratamento com aplicação de ácidos orgânicos, o diâmetro apresentou menor valor no 3º quartil no 2º e 3º ciclos analisados; uma menor dispersão no 1º e no 3º ciclos; e um maior valor da mediana no 2º ciclo. Os círculos presentes no 2º semestres de 2000 e 2001 representam valores outliers no tratamento com aplicação de

ácidos orgânicos. Somente no 2º semestre de 2000, cachos foram classificados como MI no tratamento testemunha. Tais resultados indicam que no tratamento com a aplicação de ácidos orgânicos, houve uma menor dispersão em torno da mediana, o que pode ser interpretado como uma maior homogeneidade do diâmetro das bagas.



**Figura 1.** Diâmetro de baga da uva cv. Itália, no 2º semestre de 2000 e no 1º e 2º semestre de 2001, para os tratamentos testemunha e com aplicação de ácidos orgânicos. A mediana é representada pela barra transversal ao retângulo, enquanto que a parte superior e inferior do retângulo representam o 1º e o 3º quartil, respectivamente. Os valores máximo e mínimo são representados pela barras horizontais acima e abaixo do retângulo, respectivamente

Considerando-se que o valor pago pela uva baseia-se, entre outros fatores, na sua classificação

de acordo com o diâmetro da baga, a maior homogeneidade dos valores apresentada com a aplicação de ácidos orgânicos pode permitir maior rentabilidade ao produtor, dependendo dos custos relativos ao produto e demais fatores de produção e do valor comercial da uva.

### Conclusões

A aplicação de ácidos orgânicos na videira cv. Itália pode favorecer maior homogeneidade no diâmetro das bagas. No entanto, esse benefício não foi observado em todas os ciclos de produção analisados, o que justifica a realização de futuras pesquisas para o melhor entendimento da resposta.

### Agradecimentos

Ao engenheiro agrônomo Newton Matsumoto, pela colaboração na condução do experimento na Fazenda Área Nova, no Projeto de Irrigação Senador Nilo Coelho (N9), em Petrolina – PE.

<sup>1</sup> Chen, Y.; Aviad, T. Effects of Humic Substances on Plant Growth. In: P. MacCarthy, C.E. Clapp, R.L. Malcolm, P.R. Bloom (ed.) **Humic Substances in Soil and Crop Sciences: Selected Readings**. Madison: American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, 1990. p.161-186.

<sup>2</sup> Pinto, P.A.C.; Carvalho, A.S.; Neto, J. Efficiency of humic acids and fulvic of leonardite (Naturvital Plus) applied in the culture of the grape. In: INTERNATIONAL MEETING OF IHSS, 12., Sao Pedro, **Proceedings**...São Pedro: IHSS, 2004. p.533-534.

<sup>3</sup> R Development Core Team (2004). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

# Caracterização da matéria orgânica de vermicomposto e de torta de filtro proveniente da industrialização da cana

Jader G. Busato\* (PG), Maribus A. Baldotto (PG), Luciano P. Canellas (PQ), Leonardo B. Dobbss (PG)

Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Laboratório de Solos. Av. Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ Cep 28013-600. \*e-mail: jbusato@uenf.br

Palavras Chave: Relação  $E_4/E_6$ , composição elementar

## Introdução

A importância mundial do Brasil como produtor de álcool combustível a partir da cana-de-açúcar é indiscutível. Além de deter tecnologia e condições climáticas favoráveis, a extensão territorial colabora para a obtenção de produção em grandes volumes. Entretanto, além do álcool destilado, uma grande quantidade de resíduos é obtida a partir da industrialização da cana.

A utilização de resíduos da indústria sulcro-alcooleira na agricultura é uma atividade consagrada em muitas regiões produtoras. Isto ocorre porque em sua constituição há nutrientes essenciais como potássio, fósforo, cálcio e magnésio. Além disso, há a necessidade de encontrar um destino apropriado para a reciclagem desse material. O uso de rejeitos industriais obtidos a partir do processamento da cana pode reduzir a aplicação de fertilizantes industriais, promovendo economia para os agricultores.

A torta de filtro é um dos principais rejeitos das usinas. Para cada tonelada de cana processada são gerados, em média, cerca de 94 kg de açúcar e 30 kg de torta de filtro, que são produzidos a partir da purificação do caldo sulfitado. Tradicionalmente, a aplicação da torta de filtro tem sido feita nas entrelinhas da cana-soca (40-50 t ha<sup>-1</sup>), no sulco de plantio (15-30 t ha<sup>-1</sup>) ou incorporada ao solo antes do plantio (80-100 t ha<sup>-1</sup>). O resíduo é enriquecido em matéria orgânica e apresenta uma quantidade razoável de P. A composição química média da torta de filtro varia dentro de uma faixa relativamente estável. Os valores médios foram compilados por Ramalho (1996) e se encontram na Tabela 1.

Os principais efeitos da aplicação da torta de filtro são aumentos da capacidade de retenção de cátions e de água pelo solo, melhoria da estrutura física e aumento da atividade microbiana do solo.

**Tabela 1.** Composição média da torta de filtro proveniente da indústria açucareira brasileira

	Umidade %	C g kg <sup>-1</sup>	N g kg <sup>-1</sup>	C/N -	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> g kg <sup>-1</sup>	K <sub>2</sub> O g kg <sup>-1</sup>	CaO g kg <sup>-1</sup>
Média	77,31	396	14	28	19,4	3,1	31
Desvio	2,35	42,2	2,7		6,3	0,6	16,7

Efeitos benéficos nas características do solo também são observados a partir da aplicação de vermicomposto. A vermicompostagem é uma prática comum e muito utilizada para acelerar a estabilização da matéria orgânica de resíduos animais e vegetais. As minhocas passam o material pelo seu trato intestinal, atuando como aceleradores do processo de decomposição. A aplicação de vermicomposto pode aumentar a capacidade de troca de cátions do solo e os teores de cálcio e de matéria orgânica (Yagi et al., 2003). Além disso, a aplicação de vermicomposto pode aumentar o conteúdo de C nas frações humificadas e melhorar a qualidade da matéria orgânica do solo.

Apesar de amplamente empregados na agricultura, não são muito comuns os trabalhos que abordam a natureza química da matéria orgânica de resíduos. A relação entre o C na fração ácidos húmicos (AH) e o C nos ácidos fúlvicos (AF) - CAH/AF - e as características espectroscópicas dos AH são índices que podem ser utilizados como indicadores da qualidade desse material.

Esse trabalho teve por objetivo avaliar a matéria orgânica da torta de filtro e do vermicomposto através do fracionamento químico e das características espectroscópicas dos AH.

## Material e Métodos

**Obtenção da torta de filtro** - A torta de filtro foi fornecida pela Usina Santa Cruz localizada no município de Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. O material é proveniente da filtração do caldo extraído na moenda que passa por um processo de clarificação para retirada de sólidos em suspensão. Para isso, o caldo é sulfitado e caleado, o que facilita a floculação das substâncias coloidais. O caldo clarificado e limpo é evaporado e o lodo segue para filtração a vácuo, onde é recuperada a sacarose ainda existente. Como o lodo ainda é rico em sacarose, o material líquido retido nos filtros é succionado e sofrerá novo tratamento de clarificação. O material sólido retido nas telas dos filtros é denominado torta de filtro. O material foi seco ao ar e analisado em laboratório de rotina de acordo com a metodologia da EMBRAPA (1997). Outra parte do material foi utilizada para os procedimentos de fracionamento da matéria

orgânica e extração das substâncias húmicas solúveis.

**Vermicompostagem** – O vermicomposto foi obtido a partir da utilização de esterco bovino que foi povoado com minhocas vermelhas da Califórnia (*Eisenia foetida*), indicada dada a sua habilidade de conversão de resíduos orgânicos, pelo rápido crescimento e por sua capacidade de multiplicação. A coleta do material foi realizada 90 dias após a instalação das pilhas de esterco e após 45 dias de colocadas as minhocas.

**Extração das substâncias alcalino-solúveis** – A obtenção, isolamento e purificação dos AH foi realizado a partir da utilização de NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> como solvente, na razão solvente: resíduo orgânico de 1:10 (v:v) em atmosfera inerte de N<sub>2</sub>. A separação dos AH foi realizada com o abaixamento do pH da solução até 1,0, utilizando-se HCl 6 mol L<sup>-1</sup>. A redissolução e precipitação foi repetida três vezes. Em seguida, adicionou-se 200 mL de solução aquosa diluída de HF e HCl (preparada com 5 mL de HCl e 5 mL de HF (p.a.), sendo o volume da solução completado para 1 L com água deionizada). O material foi agitado durante 8 horas e posteriormente centrifugado. Os AH precipitados foram então lavados com água até teste negativo com AgNO<sub>3</sub> e secos por liofilização.

**Composição Elementar** - Para as determinações do conteúdo de C, H e N nos AH foram utilizados de 1 a 3 mg de amostra em um analisador elementar acoplado a um espectrômetro de massa (Perkin Elmer 1420). O teor de cinzas foi obtido com a incineração de três amostras dos AH por tratamento em mufla a 700°C.

**Acidez Total, Carboxílica e Fenólica:** A acidez total foi determinada pelo método do Ba(OH)<sub>2</sub> através de titulação do excesso com HCl, a carboxílica pelo tratamento com Ca(OAc)<sub>2</sub> e a determinação do Ac liberado com NaOH. A acidez fenólica foi obtida por diferença, i.e. acidez total – carboxílica. Os procedimentos estão detalhados em Schnitzer & Gupta (1965).

**Relação E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub>:** A relação E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> foi obtida através da razão da absorbância de uma solução de AH (4 mg em 10 mL de NaHCO<sub>3</sub> 0,05 mol L<sup>-1</sup>). Para as leituras, em 465 e 665 nm, utilizou-se um espectrofotômetro Varian Ds 80.

## Resultados e Discussão

A composição elementar, acidez total, carboxílica e fenólica dos AH extraídos da torta de filtro e do vermicomposto estão apresentados na Tabela 2. O conteúdo de C, H, O e N nos AH dos dois materiais avaliados foi semelhante. Somente um discreto aumento no conteúdo de C nos AH do vermicomposto foi observado. Resultados semelhantes para as relações entre C/N, H/C e O/C foram observados, com um ligeiro acréscimo do C/N no vermicomposto.

Os valores de acidez total, fenólica e carboxílica do material extração da torta de filtro foram superiores ao do vermicomposto.

O valor da relação E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> é utilizado em estudos de matéria orgânica para caracterizar qualitativamente os ácidos húmicos e ácidos fúlvicos. A razão de absorbância entre 465 e 665 nm de comprimento de onda pode ser um indicador do gradiente de complexidade química dessas substâncias.

O maior valor da relação E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> (6,5) foi observado nos AH extraídos do vermicomposto. Isto pode ser um indicativo do maior conteúdo de grupamentos funcionais presentes nesse material. Também, é possível que os AH do vermicomposto possuam estruturas mais alifáticas quando comparadas aos AH da torta de filtro, o que sugere a sua matéria orgânica seja mais reativa. A relação E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> na torta de filtro foi de 3,5.

O conteúdo de C nos AH e AF extraídos da torta de filtro foi de 13,28 g Kg<sup>-1</sup> e 2,40 g Kg<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 3). A relação C<sub>AH/AF</sub> obtida para esse material foi de 5,53. Apesar do elevado valor de C total da torta (429,2 g Kg<sup>-1</sup>), somente 15,68 g kg<sup>-1</sup> (pouco mais de 4%) esteve associado às substâncias húmicas (AH + AF).

Já no vermicomposto, tanto AH quanto AF apresentaram-se enriquecidos em C quando comparados ao material da torta de filtro, apresentando valores de 39,90 g Kg<sup>-1</sup> e 16,65 g Kg<sup>-1</sup>. Embora o conteúdo de C nos AH do vermicomposto tenha sido bastante superior ao observado na torta de filtro, sua relação C<sub>AH/AF</sub> foi inferior. O elevado conteúdo de C na fração AF do vermicomposto colaborou para isso. O conteúdo de C associado às substâncias húmicas (AH + AF) no vermicomposto representou 28% do C total, bastante superior ao observado no material extração da torta de filtro.

**Tabela 2.** Principais características dos ácidos húmicos extraídos da torta de filtro e de vermicomposto de esterco bovino

Características	Torta de filtro	Vermicomposto
C (g Kg <sup>-1</sup> )	465	485
H (g Kg <sup>-1</sup> )	57	50
N (g Kg <sup>-1</sup> )	30	25
O (g Kg <sup>-1</sup> )	452	445
C/N	15,5	19,4
H/C	0,12	0,10
O/C	1	0,9
Acidez total	745	505
Acidez carboxílica	351	304
Acidez fenólica	394	285
Relação E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub>	3,5	6,5

Como nos solos normalmente ácidos e pobres em bases das regiões tropicais o valor da relação C<sub>AH/AF</sub> normalmente não passa de 1, a aplicação do resíduo da indústria da cana e do vermicomposto é justificável do ponto de vista da qualidade da

matéria orgânica. Em áreas agrícolas, principalmente a adição de vermicomposto pode aumentar o conteúdo de C associado à fração AH e melhorar a qualidade do solo.

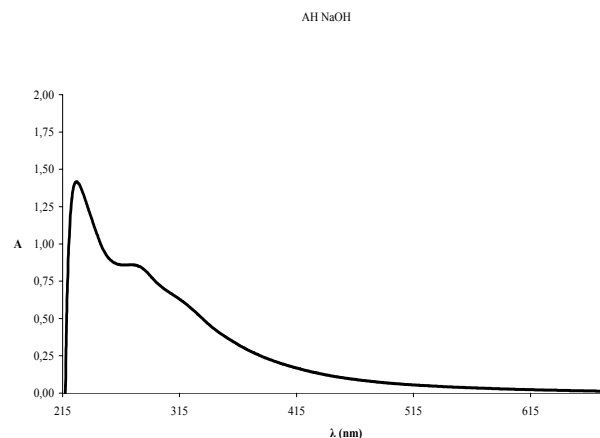
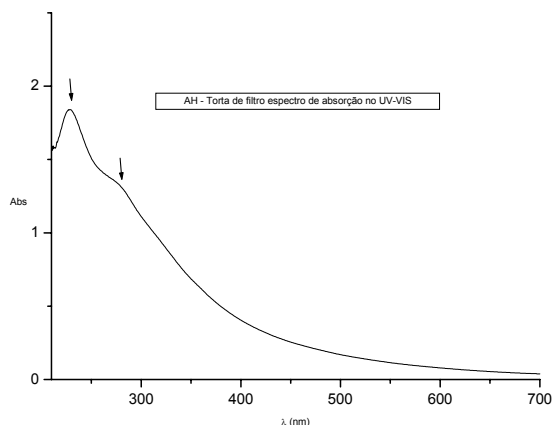
O conteúdo de huminas predominou amplamente sobre as demais frações húmicas na torta de filtro. A participação desse componente, que é o mais estável no solo, foi de 68%.

O pH da torta de filtro foi superior ao do vermicomposto. A explicação para isto pode ser a presença de bases como o cálcio, magnésio e, principalmente, potássio na composição do material (dados não apresentados). O pH ligeiramente alcalino da torta de filtro pode indicar a sua utilização como corretivo de acidez dos solos. Entretanto, com o passar do tempo, a liberação de  $H^+$  de diferentes componentes da matéria orgânica pode ocasionar efeito antagônico, diminuindo o pH do solo.

**Tabela 3.** Fracionamento da matéria orgânica de vermicomposto e de torta de filtro proveniente de usina de cana-de-açúcar

Características	Torta de Filtro	Vermicomposto
pH(H <sub>2</sub> O)	7,4	6,4
C (g Kg <sup>-1</sup> )	429,2	201
N (g Kg <sup>-1</sup> )	48,5	15
C/N	8,85	13,4
AH (g Kg <sup>-1</sup> )	13,28	39,90
AF (g Kg <sup>-1</sup> )	2,40	16,65
Huminas (g Kg <sup>-1</sup> )	32,90	Não avaliado
Relação C <sub>AH/AF</sub>	5,53	2,40

A relação C/N do o vermicomposto foi de 13,4, semelhante ao observado por Rivero et al. (2004) na avaliação de composto de tratamento de água. Já para a torta de filtro essa relação foi da ordem de 8,9 (Tabela 3). O conteúdo elevado de N da torta de filtro colaborou para reduzir o valor da razão C/N. Tanto para a torta de filtro quanto para o vermicomposto o índice C/N indica a predominância de componentes facilmente decomponíveis, o que resulta em baixa persistência no solo.



## Conclusões

A composição elementar dos AH da torta de filtro e do vermicomposto foi semelhante;

Ácidos húmicos extraídos do vermicomposto apresentam maior participação de grupamentos funcionais e estruturas alifáticas, quando comparados aos da torta de filtro;

- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solos. 2ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, CNPS, 1997. 212p.
- Ramalho, J.F.G.P. Metais pesados em solos com diferentes usos agrícolas no Estado do Rio de Janeiro. Seroédica: UFRJ, 1996. 143p. (Tese de Doutorado).
- Rivero, C.; Chirenge, T.; Ma, L. Q.; Martinez, G. Geoderma, 2004. Influence of compost on organic soil matter quality under tropical conditions, 123:355-361.
- Schnitzer, M.; Gupta, U. C. Soil Science Society America Proceedings, 1965. Determination of acidity in soil organic matter, 27:274-277.
- Yagi, R.; Ferreira, M. E.; Cruz, M. C. P.; Barbosa, J. C. Scientia Agricola, 2003. Organic matter fractions and soil fertility under the influence of liming, vermicomposto and cattle manure, 3:549-557.

## Solubilização de fosfatos naturais de rocha em resposta ao tratamento com ácidos húmicos

Lívia L. Cabral\* (IC), Jader G. Busato (PG), Luciano P. Canellas (PQ), Ary C. X. Velloso

1. Laboratório de Solos – CCTA (Centro de Ciências Tecnológicas e Agropecuárias) – UENF (Universidade Estadual do Norte Fluminense) – Av. Alberto Lamego, 2000 - Parque Califórnia - Campos dos Goytacazes, RJ. \*e-mail: livialc@uenf.br

Palavras Chave: ácido húmico, fósforo, rochas.

### Introdução

Na agricultura realizada em solos submetidos ao clima tropical, um fator limitante diz respeito ao conteúdo de fósforo (P) (Tiessen e Moir, 1993). Grande parte desses solos encontra-se em adiantado estágio de intemperismo, havendo pouco desse nutriente presente e em formas disponíveis. Vasta é a literatura que procura compreender os fenômenos envolvidos na disponibilização do P originado de diferentes fontes, não sendo raras as contradições entre os resultados obtidos.

Uma prática adotada para o fornecimento de P em diversas regiões do Brasil é a utilização de fosfatos naturais de rocha (FR). O principal obstáculo para a aplicação direta desse tipo de fertilizante é decorrente da baixa disponibilização do P na solução do solo (Kpombrekou e Tabatabai, 2003). Segundo esses autores, a utilização de FR tratado com soluções de ácidos orgânicos de baixo peso molecular pode ser uma alternativa aos procedimentos convencionais de tratamento de rochas fosfáticas, uma vez que aumenta a disponibilização do P.

A maior parte da matéria orgânica do solo (até 98%) é formada pelo húmus do solo que reúne compostos orgânicos de categoria definida (i.e., amino ácidos, polissacarídeos, lipídeos etc, chamadas de substâncias não húmicas) e as substâncias húmicas definidas operacionalmente como ácidos fúlvicos (solúveis em meio ácido ou básico), ácidos húmicos (solúvel em meio básico e insolúvel em meio fortemente ácido) e pela fração residual da extração alcalina denominada de huminas.

O húmus é produto da transformação de matéria orgânica por microorganismos, e é considerado um excelente condicionador do solo devido aos inúmeros efeitos que exerce sobre suas propriedades. O húmus diminui a densidade do solo e aumenta a permeabilidade à água, porosidade, aeração e resistência do solo à erosão. Contribuem ainda para aumentar a quantidade de nutrientes livres no solo, que será aproveitado pelas plantas.

### Materiais e Métodos

O experimento foi realizado na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, no município de Campos dos Goytacazes no período de fevereiro a junho de 2004.

Para a realização do trabalho foram extraídos ácidos húmicos (AH) de material resultante de vermicompostagem. A obtenção das frações que compõem as substâncias húmicas foi realizada por meio de extração com NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> na razão solo:extrator 1:15 (v/v). Os AH foram separados através da acidificação do extrato alcalino até pH 1,0-1,5, utilizando HCl 6,0 mol L<sup>-1</sup>, com posterior liofilização.

Em função da escassez de trabalhos publicados sobre a disponibilização de P com o uso de AH determinou-se, inicialmente, o tempo de maior disponibilização entre a solução de AH e o FR. Para isso, foram utilizados 1 g de fosfato natural de Araxá tratados com 10 mL de solução de AH em concentrações de 0, 0,1, 10, 50 e 100 mg L<sup>-1</sup> de AH. Alíquotas do material foram retiradas após 0, 6, 12, 24 e 48 horas de exposição do FR para a determinação de P, utilizando-se o procedimento de colorimetria, através da formação da cor azul do complexo fósforo-molibdato, na presença de ácido ascórbico como redutor (Saunders e Willians, 1955). As leituras foram realizadas em comprimento de onda de 880 nm (Anderson e Ingram, 1996).

Para a avaliação da disponibilização de P pelos AH foram utilizados três fontes diferentes de FR, sendo dois originados de rochas sedimentares (GAFSA e DJEBEL ONK) e um de origem ígnea (ARAXÁ). Em tubos de 50 mL foram acondicionados 1 g de cada FR e 25 mL de soluções de AH com concentrações de 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 mg L<sup>-1</sup>, com o pH ajustado para 5 e 7. O material foi agitado durante 6 horas, centrifugado e então alíquotado para a dosagem de P.



## Resultados e Discussão

Foi necessário estabelecer o tempo de exposição das rochas às soluções de ácidos húmicos, pois não foram encontrados trabalhos referentes ao experimento analisado. Para a determinação do melhor tempo para a disponibilização de P foram utilizados 1 g de fosfato de Araxá finamente moído e 10 mL de solução em concentrações de 0, 0,1, 10, 50 e 100 mg de AH L<sup>-1</sup>. O material foi agitado e alíquotas foram retiradas após 0, 6, 12, 24 e 48 horas de exposição ao FR para a dosagem de P nos extratos.

Como resultado observou-se que houve maior disponibilização de P nas alíquotas retiradas no tempo de 6 horas, sendo este, portanto, o período de tempo utilizado para as avaliações.

Os resultados da disponibilização do P pelas soluções de AH estão apresentados nas Figuras 1 e 2. Através da Figura 1 observa-se que nas soluções com o pH ajustado para 5,0 houve maior disponibilização de P nos FR de origem sedimentar, Djebel Onk e Gafsa, respectivamente. Os resultados obtidos na solução com pH 5,0 demonstram uma tendência semelhante na disponibilização entre os diferentes tipos de rocha. Entretanto, as rochas com formação sedimentar apresentaram valores de P disponibilizados ligeiramente superiores à rocha ígnea. Como tendência geral deste tratamento observa-se um pico de solubilização quando se utilizou a concentração de 40 mg L<sup>-1</sup>.

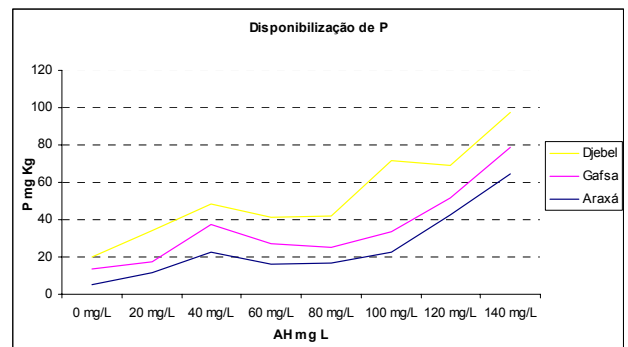
Já na avaliação do extrato com o pH corrigido para 7,0 pôde-se observar uma tendência diferente ao apresentado nas soluções com pH 5,0. Enquanto na solução em pH 5,0 o conteúdo de P nos extratos foi maior nas rochas de origem sedimentar em pH 7,0 o fosfato de Araxá (rocha ígnea) apresentou maior conteúdo de P. A disponibilização do P está sendo afetada pelo tipo de rocha atacada com as soluções de AH. Observa-se também que houve resposta entre a quantidade de P disponível e a concentração de AH utilizada, com os maiores valores sendo obtidos na utilização de soluções com 140 mg L<sup>-1</sup>.

A rocha Djebel teve uma variação praticamente irrelevante na disponibilização de P mesmo com o aumento de concentração de AH em solução. A faixa de variação do P disponibilizado foi de 10 a 25 mg/Kg P; com a variação da concentração de AH de 10 a 140 mg/L AH.

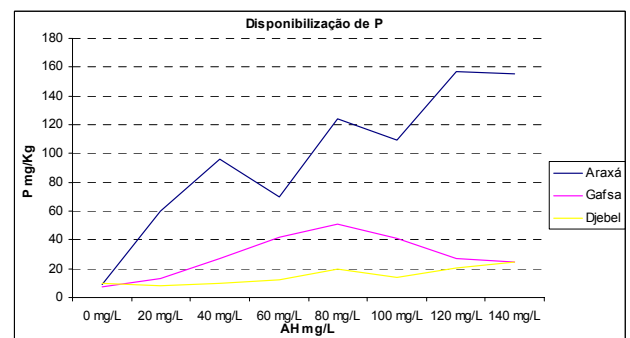
A rocha Gafsa apresentou uma variação considerável na disponibilização de P. Foram utilizadas as mesmas concentrações de AH, variando de 10 a 140 mg/L AH. A faixa de variação do P disponibilizado foi de 10 a 50 mg/Kg P.

A rocha Araxá demonstrou uma significativa disponibilização, variando de 10 a 160 mg/Kg P; resultado esperado de uma rocha ígnea.

**Figura 1.** Disponibilização de P em diferentes concentrações tratadas em solução ácida (pH=5).



**Figura 2.** Disponibilização de P em diferentes concentrações tratadas em solução ácida (pH=7).



## Conclusões

Para as soluções com de AH com o pH 5,0 as rochas de origem sedimentar disponibilizaram mais fósforo quando comparadas à rocha ígnea;

Para as soluções com o pH 7,0, entretanto, houve maior conteúdo de P nos extratos que utilizaram a fonte de fósforo de origem ígnea.

## Agradecimentos

Agradeço a Instituição UENF pelo incentivo e pela bolsa disponibilizada e ao CNPq e à FAPERJ pelo apoio financeiro.

<sup>1</sup> Anderson, J. M.; Ingram, J. S. I. Tropical soil biology and fertility: a handbook of methods. 2.ed. Wallingford: CAB International, 1996. 221p.

<sup>2</sup> Kpombrekou, K., & Tabatabai, M. A. (2003) Effect of low-molecular weight organic acids on phosphorus release and phytoavailability of phosphorus in phosphate rocks added to soils. Agriculture, Ecosystems and Environment, 100: 275-284, 2003.

<sup>3</sup> Saunders, W. M. H. & Willians, E. D. Observation on the determination of total organic phosphorus in soils. Journal of Soils Science, 3:254-267, 1955.

<sup>4</sup> Stevenson, F.J. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. Wiley, New York, USA. 1994.

<sup>5</sup> Tiessen, H. & Moir, J. O. (1993) Characterization of available P by sequential extraction. In: Carter, M. R. (Ed.). Soil Sampling and Methods of Analysis. Boca Raton: Lewis, 1993. p.75-86.

## Crescimento e fotossíntese de clones de cacau (*Theobroma cacao* L.) com resistência diferencial a *Verticillium dahliae* submetidos a diferentes doses de Turfa Líquida®

Daniele Ferrazo Caliman<sup>1\*</sup> (IC), Rafaela de Oliveira Paneto<sup>1</sup> (IC), Marco Antonio Galeas Aguilar<sup>2,3,4</sup> (PQ), Fabricio Borghi Folli<sup>6</sup> (PG), Carlos Alberto Spaggiari Souza<sup>2</sup> (PQ), Sabrina Sonegheti<sup>5</sup> (PG)

1. Graduanda de Ciências Biológicas; Unilinhares; Linhares – ES

2. Eng. Agrônomo, Dr., Pesquisador CEPEC/CEPLAC- Estação Experimental Filogônio Peixoto/ESFIP, Linhares – ES

3. Eng. Agrônomo, Dr., Professor Colaborador do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo/UFES, Vitória – ES

4. Eng. Agrônomo, Dr., Professor do Curso de Ciências Biológicas, Unilinhares, Linhares – ES.

5. Bióloga, Mestranda do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo/UFES, Vitória – ES.

6. Biólogo; egresso da Unilinhares.

\*e-mail: Daniele.caliman@ig.com.br

Palavras Chave: *Theobroma cacao* L., Substâncias húmicas, Fotossíntese.

### Introdução

O cacau (*Theobroma cacao* L.) é uma planta perene de clima tropical, nativa da região de floresta úmida da América. A importância sócio-econômica do cacau é muito grande para os países produtores, em particular para o Brasil que é o quinto produtor mundial e possui o quinto parque industrial chocolateiro do mundo. Porém, o cultivo do cacau em grandes áreas têm propiciado o aparecimento de inúmeras pragas como o pulgão, ácaros e fungos (Dias, 2001). O *Verticillium dahliae* é um patógeno invasor de solo que afeta as plantas através das raízes, nas quais penetra diretamente ou através de ferimentos, se espalhando por toda a árvore e também de árvore em árvore, sendo carregado na forma de esporos por insetos que introduzem o fungo no jovem xilema e daí os fungos se espalham dentro do sistema vascular de toda a planta levando-a a murchar e morrer. (Agrios, 1988). Assim diferentes compostos vêm sendo utilizados para minimizar as perdas causadas pelo fungo, entretanto, a utilização abusiva desses insumos químicos pode levar a desequilíbrios ecológicos e socioeconômicos que causam danos ao homem e ao meio ambiente (Silva et al., 1999).

Diante dessa situação pensou-se em desenvolver práticas sustentáveis de exploração agrícola. As substâncias húmicas são constituídas principalmente de ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e huminas, apresentando, do ponto de vista químico, composição semelhante à matéria orgânica do solo que é constituída de celulose, hemicelulose, lignina, e em menor quantidade, proteínas, açúcares, pentosanas, pectinas, taninos e substâncias betuminosas (Hayes et al., 1989). Segundo Nannipieri et al. 1993, essas substâncias aumentam a respiração e a velocidade das reações enzimáticas do ciclo de Krebs, resultando em um

aumento da produção de ATP, atuando também na promoção do desenvolvimento do sistema vascular além de estimularem o crescimento tanto do sistema radicular quanto da parte aérea.

Este experimento objetivou avaliar o crescimento e a fotossíntese de clones de cacau com resistência diferencial ao *Verticillium dahliae* submetidos a diferentes doses de Turfa Líquida®.

Foram instalados dois experimentos na ESFIP/CEPEC/CEPLAC - Linhares – ES, em condições de viveiro. No primeiro experimento, as estacas dos clones ICS-1, suscetível, e ML-1 resistente ao *V. dahliae*, foram preparadas com aproximadamente 15 cm de comprimento e tiveram suas bases mergulhadas em baldes contendo solução de Turfa Líquida® 3%, por um período de três horas. As estacas testemunhas não receberam tratamento de turfa. Posteriormente, as estacas foram plantadas em tubetes de polipropileno contendo substrato artificial Plantmax®, enriquecido com 300 g de Osmocot® e 600 g de PGmix®. Os tubetes foram colocados em bandejas, sendo estas transferidas para viveiro com sistema automatizado de nebulização, luminosidade de 50% e equipado com microaspersores. As mudas foram irrigadas semanalmente com Turfa Líquida® 1%, e com 85 dias de idade avaliou-se a área foliar. Utilizou-se o delineamento experimental de blocos casualizados em arranjo fatorial 2 x 2 constituído dos tratamentos com e sem Turfa Líquida® 1% e dois clones: ICS-1 e ML-1. O tamanho de cada parcela foi de 12 plantas.

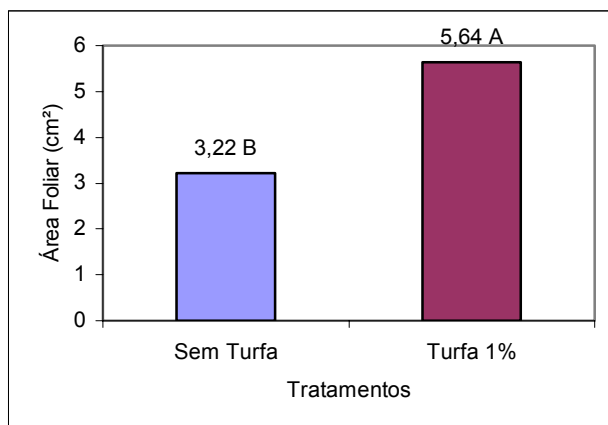
Aos 85 dias de idade as mudas foram transferidas para sacolas de polietileno 28 cm x 15 cm sendo o substrato formado por duas partes de terço de mata e uma parte de areia. O delineamento experimental empregado no segundo experimento foi o de blocos casualizados, com dez plantas por parcela, nove diferentes tratamentos e quatro

repetições. As mudas receberam a cada quinze dias as seguintes concentrações de Turfa líquida® (0, 0,5; 1,0; 1,5; 3,0; 6,0 e 12,0%). Aos 130 dias de idade as taxas fotossintéticas foram avaliadas com um medidor portátil de fotossíntese LI-COR, modelo LI-6400, ajustado para irradiância de 600  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Os resultados foram submetidos a ANAVA, regressões e teste de médias (Tukey 5%).

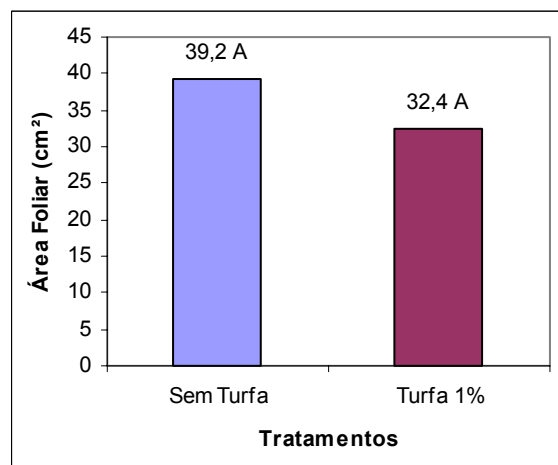
## Resultados e Discussão

No primeiro experimento observou-se que o crescimento da área foliar do clone ICS-1 quando tratado com solução de Turfa líquida 1% foi superior ao tratamento sem Turfa (Figura 1). Ayuso (1996) verificou em trabalhos com cevada que a adição de substâncias húmicas promove aumento não só no crescimento da parte aérea, mas também do sistema radicular. Esses resultados sugerem que, dentre outros aspectos, é plausível a idéia de que  $\text{H}^+$  - ATPase de membrana plasmática seja um dos principais alvos moleculares envolvidos na ação dos ácidos húmicos sobre o crescimento das plantas (Morsomme & Boutry, 2000).



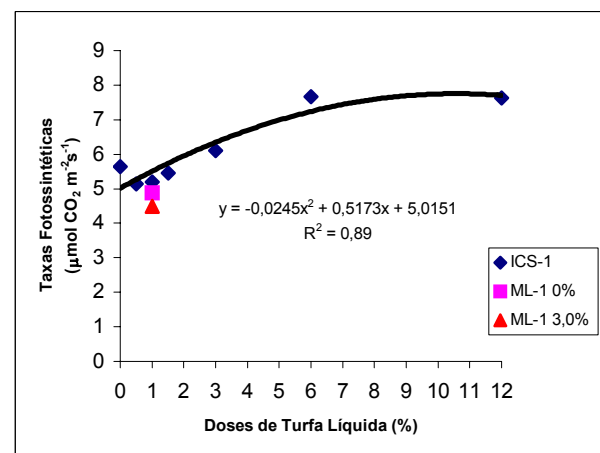
**Figura 1.** Área foliar do genótipo ICS-1 em função dos diferentes tratamentos. Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si (Tukey 5%).

O clone ML-1 não apresentou diferenças estatísticas significativas no crescimento da área foliar, quando as mudas foram tratadas com Turfa líquida® e na ausência do produto (Figura 2). Esse comportamento pode estar associado com a carga genética do clone utilizado, pois nem todos os genótipos, dentro de uma mesma espécie, respondem do mesmo modo à aplicação de um determinado produto, conforme verificado nesta pesquisa.



**Figura 2.** Área foliar do clone ML-1 em função dos diferentes tratamentos. Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si (Tukey 5%).

Nas avaliações de fotossíntese do clone ICS-1, observou-se aumento quadrático das taxas fotossintéticas com o aumento das doses de Turfa Líquida®. O aumento observado, comparando-se a menor dose com a maior, foi da ordem de 53%. Segundo Silva et al. (1995), esses aumentos podem estar relacionados com elevações da taxa respiratória, que também resultam em aumentos na produção de ATP e conseqüentemente na absorção de nutrientes. O clone ML-1 não demonstrou diferenças estatísticas fotossintéticas significativas.



**Figura 3.** Taxas fotossintéticas ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) do clone ICS-1 em função das doses de Turfa Líquida®.

## Conclusões

De maneira geral, verificou-se que a Turfa Líquida® promove maior crescimento em área foliar, assim como maiores taxas fotossintéticas em mudas clonais de ICS-1. As mudas clonais de ML-1 não apresentaram diferenças estatísticas significativas para o crescimento vegetativo e as taxas fotossintéticas quando tratadas com soluções de Turfa Líquida®.

## Agradecimentos

A J.R. Faria Fertilizantes pelo apoio.

<sup>1</sup> AGRIOS, G.N. Plant pathology. 4 ed. San Diego: Academic Press, **1997**

<sup>2</sup> AYUSO, M.; HERNANDEZ, T; GARCIA, C.; PASCUAL, J.A. Simulation of barley growth and nutrient absorption by humic substances originating from various organic materials. Bioresource and technology, Oxford, **1996**. v. 57, n. 3, p. 251-257.

<sup>3</sup> CHEN, Y.; MAGEM, H & CLAPP, C.E. The effect of humic substances on plants and their impact on organic agriculture. Viçosa, MG, Encontro Brasileiro de substâncias húmicas, Resumos de palestras e trabalhos apresentados, UFV, **2001**.

<sup>4</sup> DIAS, L.A.S. Origem e dispersão de Theobroma cacao L: novo cenário. In: DIAS, L. A. S. Melhoramentos genéticos do cacauero. Viçosa: FUNAPE, UFG, **2001**.

<sup>5</sup> HAYES, M.H.B.; MACCARTHY, P.; MALCOLM, R.L.; SWIFT, R.S. Humic substances II. In: Search of structure, West Sussex, UK: John Wiley & Sons, **1989**.

<sup>6</sup> Morsomme, P.; Boutry, M. The plant plasma membrane H<sup>+</sup> - ATPase : structure, function and regulation. Biochimica et Biophysica Acta, Amsterdam, **2000**.

<sup>7</sup> NANNIPIERI, P.; GREGO, S.; DELLAGNOLA, G.; NARDI, S. Proprieta biochimiche e fisiologiche della sostanza organica. Ciclo della sostanza organica nel suolo: aspetti agronomici, chimici, ecologici, ecologici & selvicolturali. Bologna, **1993**.

<sup>8</sup> SILVA, R.M., JABLONSKI, A., TEIXEIRA LESSA, R.N., VAHL, L.C. Produção de ácidos húmicos e fúlvicos a partir de diferentes matérias primas orgânicas. EGATEA: Revista da Escola de Engenharia, Porto Alegre, **1995**. v. 23, n. 2, p. 53-60

<sup>9</sup> SILVA, R.M. da JABLONSKI, A.; SIEWERDT, L.; SILVEIRA JÚNIOR, P. Crescimento da parte aérea e do sistema radicular do milho cultivado em solução nutritiva adicionada de substâncias húmicas. Revista Brasileira de Agrociência, **1999**, v. 5, n. 2, p. 101-110.

<sup>10</sup> STADNICK, M. J. Induction of resistance in wheat by a benzothiadiazole derivative against the powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. tritici): practical aspects and mechanisms of action. University of Hohenheim, Stuttgart, **1999** (PhD Thesis).

<sup>11</sup> TAIZ, L.; ZEIGER, E. Plant Physiology. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., Publishers, **1998**.

## Grau de humificação dos agregados organominerais de Latossolos e a sorção de 2,4-D e diuron

Wadson S.D. da Rocha<sup>1\*</sup>, Jussara B. Regitano<sup>2</sup>, Luís R.F. Alleoni<sup>3</sup> e Débora M.B.P. Milori<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Faculdades Integradas de Rondonópolis, União de Escolas Superiores de Rondonópolis, Rua Floriano Peixoto, 597, CEP 78700-040, Rondonópolis, MT. <sup>2</sup> Laboratório de Ecotoxicologia, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Caixa Postal 97, CEP 13400-970, Piracicaba, SP. <sup>3</sup> Departamento de Solos e Nutrição de Plantas, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Caixa Postal 09, CEP 13418-900, Piracicaba, SP. <sup>4</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de novembro, 1452, CEP 13560-970, São Carlos, SP. \*e-mail: wsdrocha@yahoo.com.br

Palavras Chave: Carbono orgânico, Fracionamento físico, Herbicidas.

### Introdução

A quantidade de matéria orgânica (MO) e a sua composição são muito importantes para a dinâmica de pesticidas e outras moléculas orgânicas no ambiente. Os estudos com pesticidas no solo são feitos, na maior parte dos casos, em amostras com diâmetros menores que 2 mm (Landry et al., 2004). Porém, o tamanho do agregado interfere de forma diferente na retenção de compostos orgânicos no solo. A associação entre os argilominerais, óxidos de ferro e de alumínio, a MO e outros componentes formam agregados de diferentes tamanhos (Tisdall e Oades, 1982). A composição do agregado depende do tipo de manejo do solo, o que afeta diretamente a retenção dos pesticidas (Celis et al., 1999). As partículas menores normalmente apresentam maior superfície específica e maior conteúdo de carbono orgânico. Desta forma, o coeficiente de sorção de pesticidas, nas frações menores que 53  $\mu\text{m}$ , chega a ser muitas vezes maior que na amostra de solo não fracionada. Portanto, é importante determinar a sorção de herbicidas nas diferentes frações físicas do solo.

No solo a interação entre a argila e a matéria orgânica (MO) determina a sorção de compostos orgânicos. Deste modo, o uso do fracionamento físico é recomendado, uma vez que ele permite manter o máximo possível da integridade do agregado durante a sua separação (Barriuso e Koskinen, 1996), ao contrário do fracionamento químico. A MO participa ativamente da formação e da estabilidade de agregados do solo (Ristori et al., 1992), além de influenciar na sorção dos pesticidas. O fracionamento físico do solo permite separar a MO menos humificada, geralmente associada à fração grosseira do solo, da mais humificada, associada à fração com diâmetro menor que 50  $\mu\text{m}$  (Barriuso e Koskinen, 1996). Nesta fração menor, os agregados, que são mantidos pela forte ligação com óxidos de Fe e Al (Tisdall e Oades, 1982), contêm compostos orgânicos resultantes da decomposição microbiana, com carbono derivado principalmente de estruturas aromáticas (Chefetz et al., 2002).

As propriedades físico-químicas do pesticida são, também, determinantes na sua interação com os agregados organominerais. O diuron é uma molécula não ionizável e tem nas interações hidrofóbicas o principal mecanismo de sorção. O 2,4-D é um herbicida muito usado no Brasil, sendo um ácido fraco que sofre deprotonação nos valores de pH comumente encontrados nos solos agricultáveis e fica na forma aniônica. Portanto, as interações eletrostáticas também atuam como mecanismo de sua sorção.

O objetivo do trabalho foi determinar a influência da quantidade de carbono orgânico e o grau de humificação na sorção de 2,4-D e diuron em agregados organominerais de quatro Latossolos.

### Material e Métodos

Foram utilizadas amostras da camada de 0 a 0,2 m de um Latossolo Amarelo distrófico (LAd), localizado em Piracicaba, SP (22°42' S e 47°38' O), de um Latossolo Amarelo ácrico (LAW) e de um Latossolo Vermelho ácrico (LVw-1), localizados em Uberlândia, MG (19°54' S e 48°16' O), e de Latossolo Vermelho ácrico (LVw-2), localizado em Canoinhas, SC (26°10' S e 50°24' O). Esses solos foram selecionados por apresentarem diferentes teores de MO (Tabela 1).

Amostras de 50 g dos solos, em duplicata, foram acondicionadas em frascos de Bartha de 300 ml, adicionando-se água suficiente para atingir 75 % da capacidade máxima de retenção de água. Após uma semana de incubação, o herbicida 2,4-D (ácido, 99 % de pureza) foi aplicado na dose de 2,7 kg i.a. ha<sup>-1</sup> e o Diuron (96% de pureza) na dose de 3,2 kg i.a. ha<sup>-1</sup>, juntamente com a molécula radiomarcada (<sup>14</sup>C-2,4-D e <sup>14</sup>C-Diuron, atividade específica: 2,51 MBq mg<sup>-1</sup> e 2,43 MBq mg<sup>-1</sup>, respectivamente), na concentração radioativa de 0,69 kBq g<sup>-1</sup> de solo.

Após a incubação, as amostras dos solos foram colocadas em tubos de centrifuga de 250 ml e procedeu-se à extração com 150 ml de CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup>. Os tubos foram agitados por 40 minutos a 140 agitações min<sup>-1</sup>. Após este período, a suspensão de solo foi centrifugada a 12.100 g, por



20 minutos. Este processo foi repetido mais duas vezes. As amostras de solo foram secas e oxidadas para determinar a quantidade de resíduos dos herbicidas remanescente no solo.

Para o fracionamento físico, amostras de 40 g de solo e 160 ml de água destilada foram acondicionadas em tubos de centrifuga de 250 ml, que foram agitados por 16 horas, em um agitador horizontal. Posteriormente, os tubos foram colocados em banho de ultra-som a 240 W, por 15 minutos. Após a dispersão, a suspensão de solo passou por peneiras com malhas de diâmetros iguais a 150  $\mu\text{m}$  e 53  $\mu\text{m}$ , separando os agregados maiores que 150  $\mu\text{m}$  e os de diâmetro entre 53 e 150  $\mu\text{m}$ . O restante da suspensão foi transferida para uma proveta de 1000 ml, devidamente acondicionada em sala climatizada a  $22 \pm 2$  °C. A separação dos agregados nas frações entre 21 e 53  $\mu\text{m}$ , entre 2 e 20  $\mu\text{m}$  e menores que 2  $\mu\text{m}$  foi feita por sedimentação, de acordo com a Lei de Stokes. Após o fracionamento, os agregados foram secos em estufa ( $55 \pm 5$  °C), sendo as quantidades de resíduos dos pesticidas determinadas por ECL, após combustão e captura do  $^{14}\text{CO}_2$  desprendido. O teor de carbono orgânico (CO) nos agregados foi quantificado em equipamento LECO CR 412, após combustão.

O grau de humificação da MO nas amostras de solos e nos agregados organominerais foi determinado pela incidência de um feixe de laser com comprimento de onda de 351 nm, potência de 0,248 W, sendo a fluorescência emitida captada por um fotomultiplificador, com tensão de 839 V. As leituras nas diferentes intensidades resultaram na formação de um espectro, cuja área foi utilizada para calcular o grau de humificação da MO. Como o teor de CO é variável entre as amostras, o valor da área foi normalizado para este teor, ou seja, o valor da área calculado pela integração do espectro foi dividido pelo teor de carbono da amostra (Milori et al., 2002a).

## Resultados e Discussão

O LAd apresentou maior grau de humificação da MO em relação ao LVw-1 e ao LVw-2 (Tabela 2). O LAd foi coletado em área cultivada, onde muitos macroagregados da camada superficial foram revolvidos e quebrados e, nessa condição, a MO ficou mais exposta à oxidação (Tisdall e Oades, 1982). Já os solos de áreas não cultivadas, como o LVw-2, apresentam maior teor de MO, com menor grau de humificação (Tabela 2). Geralmente, quanto mais cultivado o solo, maior a decomposição e o grau de humificação da sua MO (Bayer et al., 2002; Milori et al., 2002b).

**Tabela 1.** Atributos dos Latossolos

Solos	M.O.	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	ADA	Argila	pH
0 – 0,2 m	----- g kg <sup>-1</sup> -----				H <sub>2</sub> O
LAd	22 <sup>d</sup>	57,5 <sup>c</sup>	240,0 <sup>a</sup>	410,0 <sup>c</sup>	5,23 <sup>a</sup>
LAW	30 <sup>c</sup>	62,8 <sup>bc</sup>	93,3 <sup>c</sup>	770,0 <sup>a</sup>	4,50 <sup>b</sup>
LVw-1	37 <sup>b</sup>	104,2 <sup>a</sup>	166,7 <sup>b</sup>	773,3 <sup>a</sup>	4,63 <sup>b</sup>
LVw-2	48 <sup>a</sup>	66,0 <sup>b</sup>	80,0 <sup>c</sup>	543,3 <sup>b</sup>	4,60 <sup>b</sup>

\* Médias com a mesma letra não diferem a 5 % pelo teste de Tukey. LAd = Latossolo Amarelo distrófico; LAW = Latossolo Amarelo ácido; LVw-1 = Latossolo Vermelho ácido (Uberlândia); LVw-2 = Latossolo Vermelho. Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = óxido de ferro; ADA= argila dispersa em água.

**Tabela 2.** Grau de humificação dos agregados e dos solos

Solos	--- Agregados organominerais ( $\mu\text{m}$ )---					Solo
	A>150	53<A<150	20<A<53	2<A<20	A<2	
LAd	359	789	336	184	274	309
LAW	359	397	277	333	391	365
LVw-1	164	300	198	96	177	181
LVw-2	157	222	205	144	116	174

Além do cultivo, a posição do solo no relevo também pode interferir no grau de humificação do solo. O LAW e o LVw-1 foram coletados no ápice da chapada Sul-Americana, sendo que o LAW localizava-se em área de subsidência, onde o acúmulo de água era constante. Nessas condições, o ferro pode ter sido reduzido, solubilizado e transportado para outras áreas, justificando o menor teor de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> no LAW em relação ao LVw-1 (Tabela 1). Deste modo, a MO do LAW pode ter sido mais facilmente oxidada pois havia menos ferro para cimentar os agregados (Tabela 1), resultando maior grau de humificação (Tabela 2). De forma geral, solos altamente intemperizados apresentam forte ligação entre as partículas e os óxidos de Fe e Al, o que reduz sua exposição à humificação (Tisdall e Oades, 1982). Por outro lado, a decomposição da MO é mais rápida em solos de regiões tropicais úmidas, com boa drenagem, o que pode favorecer a ruptura dos agregados maiores (Bayer et al., 2002).

A sorção de pesticidas ocorre principalmente nos agregados menores, de tamanhos silte e argila, com maiores teores de CO. No entanto, isto só foi observado para o LAd, em que a maioria do 2,4-D ficou retida nos agregados < 2  $\mu\text{m}$  e o Diuron nos



agregados entre 2 e 20  $\mu\text{m}$  (Tabela 3). Nos latossolos ácidos, a maioria dos herbicidas ficou retida nos agregados  $> 150 \mu\text{m}$ , seguida da fração entre 53 e 150  $\mu\text{m}$ , sendo que os agregados  $> 150 \mu\text{m}$  apresentaram maior quantidade total de CO (Tabela 4). A quantidade total de CO, ao invés do teor de CO nos agregados (Tabela 4), expressa o total de sítios disponíveis para a retenção do herbicida, principalmente, os sítios hidrofóbicos (DeSutter et al., 2003).

**Tabela 3.** Sorção de 2,4-D e Diuron nos agregados dos Latossolos em diferentes 70% da capacidade máxima de retenção de água.

Solos	Agregados organominerais ( $\mu\text{m}$ )				
	A>150	53<A<150	20<A<53	2<A<20	A<2
----- 2,4-D -----					
LAd	10,6	8,0	3,33	26,6	51,5
LAW	25,7	19,2	9,79	28,4	16,8
LVw-1	35,2	15,3	7,20	23,57	18,7
LVw-2	35,1	25,5	8,38	17,6	13,4
----- Diuron -----					
LAd	6,3	13,9	7,79	54,9	17,4
LAW	30,0	28,0	6,83	27,5	7,6
LVw-1	31,0	22,1	6,18	29,6	11,1
LVw-2	38,4	37,1	5,57	14,6	4,5

**Tabela 4.** Produto entre a quantidade de carbono orgânico total e a massa de agregado organomineral

Solos	Agregados organominerais ( $\mu\text{m}$ )				
	A>150	53<A<150	20<A<53	2<A<20	A<2
LAd	5,2 <sup>Ca</sup>	1,1 <sup>Cc</sup>	1,1 <sup>Cc</sup>	2,7 <sup>Cb</sup>	4,9 <sup>Aa</sup>
LAW	9,0 <sup>Ba</sup>	3,6 <sup>Bb</sup>	3,7 <sup>Ab</sup>	3,0 <sup>Cb</sup>	3,2 <sup>Bb</sup>
LVw-1	12,5 <sup>Aa</sup>	3,8 <sup>Bb</sup>	2,6 <sup>Be</sup>	8,9 <sup>Ab</sup>	4,6 <sup>Ac</sup>
LVw-2	12,6 <sup>Aa</sup>	6,3 <sup>Ac</sup>	3,2 <sup>ABd</sup>	7,3 <sup>Bb</sup>	3,3 <sup>Bd</sup>

\* Médias com a mesma letra não diferem a 5 % pelo teste de Tukey, sendo letras maiúsculas nas colunas e minúsculas na linha.

No LAd, a quantidade total de CO nos agregados  $< 2 \mu\text{m}$  e  $> 150 \mu\text{m}$  foram praticamente iguais (Tabela 4), sendo a retenção do 2,4-D maior nos

agregados menores (Tabela 3). Isto seria esperado, uma vez que a sorção de ácidos orgânicos fracos, tal como o 2,4-D, também depende da superfície das partículas (Celis et al., 1999), que é maior nos agregados da fração argila. Neste caso, as maiores SE dos agregados menores resultaram em maior exposição dos sítios catiônicos e hidrofóbicos, nos quais o herbicida pode ser retido. Já em relação ao Diuron, a sua retenção foi maior nos agregados entre 2 a 20  $\mu\text{m}$  (Tabela 3), que é a fração com a maior quantidade de CO (Tabela 5). Isto é devido ao caráter polar do Diuron, que é sorvido pelos sítios hidrofílicos.

**Tabela 5.** Carbono orgânico total nos agregados dos Latossolos

Solos	Agregados organominerais ( $\mu\text{m}$ )				
	A>150	53<A<150	20<A<53	2<A<20	A<2
LAd	13,1 <sup>Dc</sup>	6,6 <sup>Cd</sup>	14,7 <sup>Dc</sup>	29,9 <sup>Ca</sup>	18,8 <sup>Db</sup>
LAW	20,4 <sup>Cc</sup>	19,7 <sup>Bc</sup>	36,0 <sup>Aa</sup>	23,7 <sup>Db</sup>	20,8 <sup>Cc</sup>
LVw-1	30,2 <sup>Bb</sup>	22,6 <sup>Ad</sup>	29,8 <sup>Bb</sup>	55,7 <sup>Aa</sup>	26,8 <sup>Bc</sup>
LVw-2	34,6 <sup>Ab</sup>	22,6 <sup>Ad</sup>	24,8 <sup>Cc</sup>	47,1 <sup>Ba</sup>	45,7 <sup>Aa</sup>

\* Médias com a mesma letra não diferem a 5 % pelo teste de Tukey, sendo letras maiúsculas nas colunas e minúsculas na linha.

Nesse trabalho também foram avaliados quais os atributos do solo correlacionaram-se com a retenção do 2,4-D nos agregados. Correlação positiva entre a retenção do 2,4-D nos diferentes agregados e o produto entre a quantidade total de CO (Tabela 4) e o grau de humificação (Tabela 2) foi observada para os latossolos ácidos: o LAW ( $r = 0,86$ ,  $p < 0,10$ ), o LVw-1 ( $r = 0,99$ ,  $p < 0,005$ ) e o LVw-2 ( $r = 0,93$ ,  $p < 0,05$ ). Nesses solos, portanto, a retenção do 2,4-D foi maior nos agregados com maior quantidade de CO e com maior grau de humificação da MO. No entanto, esse mesmo tipo de correlação não foi observado para o LAd.

## Conclusões

Nos latossolos ácidos (LAW, LVw-1 e LVw-2), em que os teores de argila dispersa em água eram menores, a retenção do 2,4-D foi maior nos agregados maiores ( $> 150 \mu\text{m}$ ). No LAd, em que a argila encontrava-se mais dispersa, a retenção foi maior nos agregados menores ( $< 20 \mu\text{m}$ ).

## Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de doutorado ao primeiro autor (Processo nº 00/08370-1).

- <sup>1</sup> Barriuso, E.; Koskinen, W.C. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1996**, 60,150-157.
- <sup>2</sup> Bayer, C.; Mielniczuk, J.; Martin-neto, L.; Ernani, P.R. *Plant Soil* **2002**, 238,133-140.
- <sup>3</sup> Celis, R.; Hermosín, M.C.; Cox, L.; Cornejo, J. *Environ. Sci. Technol.* **1999**, 33, 1200-1206.
- <sup>4</sup> Chefetz, B., Tarchitzky, J., Deshmukh, A.P., Hatcher, P.G., Chen, Y. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **2002**, 66, 129-141.
- <sup>5</sup> Desutter, T.M.; Clay, S.A.; Clay, D.E. *Weed Sci.* **2003**, 51, 456-462.
- <sup>6</sup> Landry, D.; Dousset, S.; Andreux, F. *Chemosphere.* **2004**, 54, 735-742.
- <sup>7</sup> Milori, D.M.B.P.; Martin-neto, L.; Bayer, C. Fluorescência induzida por laser para análise da matéria orgânica de solos intactos. **2002a** EMBRAPA, São Carlos, Brasil. 18 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 03).
- <sup>8</sup> Milori, D.M.B.P.; Martin-neto, L.; Bayer, C.; Mielniczuk, J.; Bagnato, V.S. *Soil Sci.* **2002b**, 167, 739-749.
- <sup>9</sup> Ristori, G.G.; Sparvoli, E.; Nobili, M. de; D'acqui, L.P. *Geoderma* **1992**, 54, 295-305.
- <sup>10</sup> Tisdall, J.M., Oades, J.M. *J. Soil Sci.* **1982**, 33, 141-163.

# Carbono e nitrogênio do solo no cultivo de couve em consórcio com leguminosas anuais, sob manejo orgânico de produção

Edmilson Evangelista da Silva<sup>1\*</sup> (PG), Helvécio De-Polli<sup>2</sup> (PQ), Arcângelo Loss<sup>3</sup> (IC), Marcos Gervásio Pereira<sup>4</sup> (PQ), José Guilherme Marinho Guerra<sup>2</sup> (PQ)

1. Mestrando em Fitotecnia CAPES; 2. Pesquisadores da Embrapa-Agrobiologia, 23851-970, Seropédica – RJ. Professor da UFRRJ; 3. Graduando em Engenharia Agrônoma da UFRRJ. \*e-mail: evangerural@yahoo.com.br

Palavras Chave: couve, consórcio, leguminosas

## Introdução

Por mais de um século o carbono do solo foi estudado apenas sob seu aspecto quantitativo, e raros foram os estudos de fracionamento químico. Quando se considera a ciclagem de nutrientes em sistemas orgânicos, o fracionamento químico é uma ferramenta importante, pois permite localizar e compreender seus diversos *pools*, que possuem características próprias, de composição química, *turnover*, proteção contra decomposição, etc.

Apesar da importância do fracionamento nos estudos de matéria orgânica (MO) do solo e sua crescente utilização em sistemas agrícolas, visando indicar práticas de manejo que levem a uma maior conservação da MO, raros são os trabalhos de fracionamento na caracterização de áreas sob cultivo orgânico. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o nitrogênio, carbono e suas frações químicas, no cultivo de couve em consórcio com leguminosas anuais, sob manejo orgânico.

## Material e métodos

O trabalho foi iniciado em maio de 2003 com o cultivo de couve seguido de milho no verão e novamente couve na área do Sistema Integrado de Produção Agroecológica (ALMEIDA, et al. 1999). As leguminosas para adubação verde utilizadas neste trabalho foram mucuna anã (*Mucuna deeringiana*), mucuna cinza (*M. pruriens*), *Crotalaria spectabilis* e *C. juncea*. A mucuna anã e a *C. spectabilis* foram cultivadas em consórcio com a couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*), por serem espécies de menor agressividade que a mucuna cinza e *C. juncea*, que foram semeadas em consórcio com o milho. A cultivar de couve utilizada foi o híbrido HS-20, e a cultivar de milho (*Zea mays*) utilizada foi a variedade Nitrodente.

A parcela experimental de couve constou de cinco linhas de 4 m de comprimento, espaçadas de 1 m X 0,50 m. Os adubos verdes foram semeados 28 e 50 dias após o transplante da couve no ano de 2003 e 2004 respectivamente, em ruas alternadas. A semeadura da *C. spectabilis* foi realizada em duas linhas espaçadas de 25 cm da linha da couve e de 50 cm entre si, na densidade de 30 sementes por metro linear e mucuna anã na densidade de 15

sementes por metro linear. Por ocasião do transplante da couve foi realizada uma adubação uniforme na cova de plantio com esterco bovino, na dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N em ambos os anos. Todo o sistema foi conduzido na forma de plantio direto.

O delineamento utilizado foi o de blocos ao acaso, sendo os tratamentos dispostos em arranjo fatorial 3x2, com quatro repetições. Os tratamentos constaram de: couve solteira, couve consorciada com mucuna anã, couve consorciada com *C. spectabilis*, e níveis de adubação em cobertura com "cama" de aviário nas doses equivalentes a 0 e 100 kg ha<sup>-1</sup> de N aplicada na 6ª e 16ª colheitas no ano de 2003 (200 kg ha<sup>-1</sup> N) e 10ª colheita no ano de 2004. No milho o delineamento e arranjo da parcela foi o mesmo, diferenciando-se por não receber adubação orgânica em cobertura, plantio de *C. juncea* em sincronia com o milho e da mucuna cinza aos 50 dias depois da semeadura, em todas as linhas, e espaçamento na linha do milho de 0,25 m.

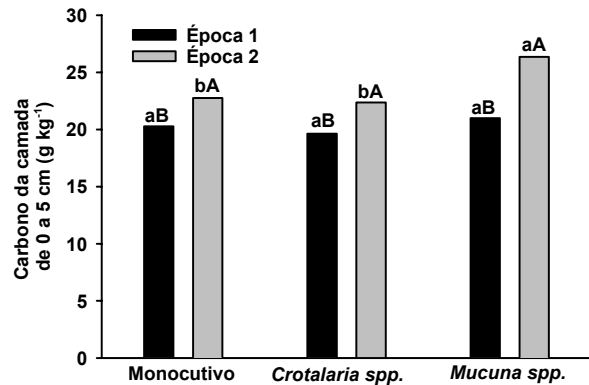
As determinações apresentadas neste trabalho foram efetuadas no segundo cultivo de couve, logo após o cultivo de milho, que constaram de carbono total determinado por EMBRAPA (1997), fracionamento químico do carbono (BENITES, et al. 2003) e nitrogênio (BREMNER & MULVANEY, 1982) nas camadas de 0-5 cm e 5-10 cm, no início e no final do segundo ciclo da couve (período de 6 meses), sendo as amostras retiradas com ajuda de trado, procedendo-se de 20 a 30 tradagens e forma aleatória na parcela, sendo o material seco ao ar e peneirado em peneira de 2mm.

## Resultados e Discussão

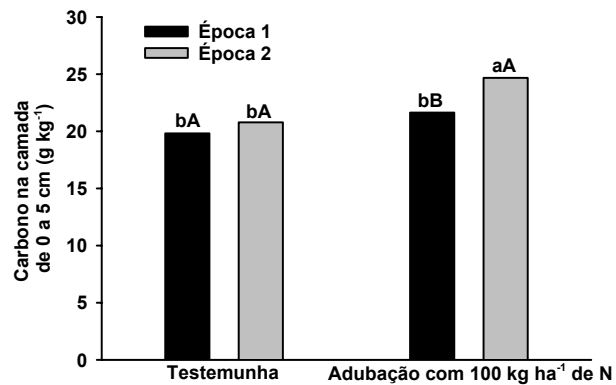
O uso das leguminosas em consórcio com a couve promoveram um aporte de matéria seca de 1612 kg ha<sup>-1</sup> de *C. spectabilis* e 1782 kg ha<sup>-1</sup> de mucuna anã no ano de 2003; 2830 kg ha<sup>-1</sup> de *C. juncea* e 5560 de mucuna cinza no cultivo consorciado com o milho no ano 2003/2004; 1390 kg ha<sup>-1</sup> de *C. spectabilis* e 1460 kg ha<sup>-1</sup> de mucuna anã no ano de 2004.

A interpretação da análise de variância revelou efeitos significativos para os fatores analisados. Houve aumento na quantidade de carbono na camada de 0-5 cm e ao longo do tempo, com predominância da mucuna cinza sobre *C.*

spectabilis e o monocultivo. Deve-se ressaltar que o aumento ao longo do tempo ocorrido até mesmo na testemunha pode ser atribuído aos restos culturais oriundos do milho e vegetação espontânea que foram deixados em cobertura (Figura 1), o mesmo ocorrendo com a adubação (Figura 2). O estoque de carbono proporcionado por estas técnicas de cultivo nos dias de hoje se torna muito importante, pois retira carbono da atmosfera e o fixa em hidratos de carbono, o repassando posteriormente ao solo, criando melhores condições químicas e físicas no solo, como já é reconhecidamente constatado, além de reduzir gases de efeito estufa.



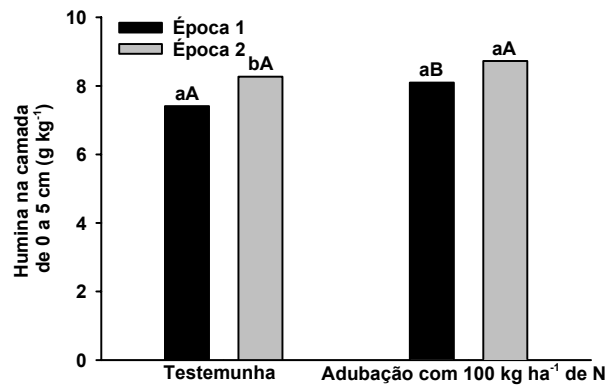
**Figura 1.** Carbono na camada de 0 a 5 cm ( $\text{g kg}^{-1}$ ) determinado em duas épocas (inicial e final do ciclo), em monocultivo de couve, consorciada com *C. juncea* e mucuna cinza, em sistema orgânico de produção. Letras minúsculas em colunas de mesma época e maiúsculas no mesmo tipo de consórcio, diferem pelo teste de Scott-Knott a 5%.



**Figura 1.** Carbono na camada de 0 a 5 cm ( $\text{g kg}^{-1}$ ) determinado em duas épocas (inicial e final do ciclo) em cultivo de couve submetido a dose de 0 e 100  $\text{kg ha}^{-1}$  de N em cobertura na forma de “cama de aviário”. Letras minúsculas em colunas de mesma época e maiúsculas no mesmo nível de adubação, diferem pelo teste de Scott-Knott a 5%.

Posteriormente a análise de carbono total, foi realizado o fracionamento químico do solo. Na camada de 5-10 cm não foi realizado o fracionamento químico pelo fato desta camada não ter apresentado diferenças significativas na

quantidade de carbono. No fracionamento de 0-5 cm a quantidade de ácido húmico já se encontrava significativamente maior nas parcelas que vinham recebendo adubação em cobertura em cultivos anteriores, não demonstrando aumentos no final do ciclo da couve, não ocorrendo o mesmo com o ácido fúlvico, que não apresentou diferenças significativas, demonstrando que esta fração talvez possua uma menor escala de formação ou até mesmo seja menos estável no solo e se perca com maior facilidade, principalmente por se encontrar em solo de textura arenosa. A quantidade de humina aumentou após a adubação em cobertura até o final do ciclo da cultura (Figura 3), demonstrando efeito benéfico da adubação orgânica, criando cadeias de carbono que conhecidamente são mais estáveis no solo, funcionando como um “pool”, atuando em características físicas e químicas do solo.



**Figura 3:** Humina na camada de 0-5 cm ( $\text{g kg}^{-1}$ ) determinado em duas épocas (inicial e final do ciclo), em cultivo de couve submetida a dose de 0 e 100  $\text{kg ha}^{-1}$  de N em cobertura na forma de “cama de aviário”. Letras minúsculas em colunas de mesma época e maiúsculas no mesmo nível de adubação, diferem pelo teste de Scott-Knott a 5%.

Na determinação do nitrogênio total do solo, a camada de 0-5 cm foi superior a camada de 5-10 cm (Figura 4). A adubação em cobertura promoveu aumentos na quantidade de nitrogênio, sendo que este aumento não foi constatado ao longo do tempo, demonstrando que o mesmo, já vinha sendo estocado no solo devido aos cultivos anteriores, ou mais provavelmente, se perde com maior facilidade por processo de desnitrificação e volatilização, comuns em solo com boa drenagem em zonas tropicais.

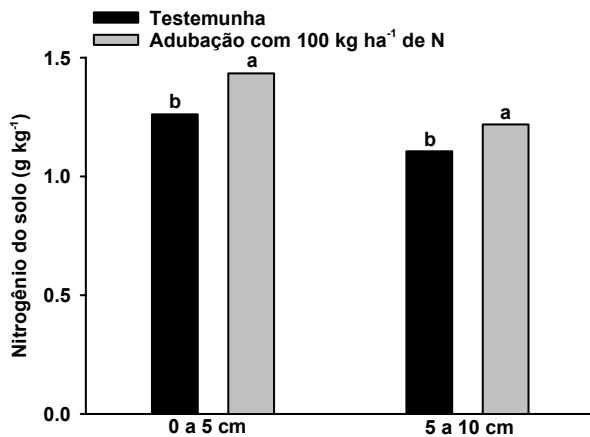


Figura 4: Nitrogênio na camada de 0-5 e 5-10 cm ( $\text{g kg}^{-1}$ ), em cultivo de couve submetida a dose de 0 e  $100 \text{ kg ha}^{-1}$  de N em cobertura, na forma de “cama de aviário”. Letras minúsculas em colunas com mesma profundidade, diferem pelo teste de Scott-Knott a 5%.

O uso de leguminosas em sistema orgânico de produção tem proporcionado aumentos no estoque de carbono e nitrogênio no solo, melhorando características físicas e químicas do solo, como foi constatado por DA SILVA (2005), onde este mesmo experimento promoveu ganhos significativos de produtividade, refletindo exatamente os benefícios advindos destas técnicas.

### Conclusões

O uso de leguminosas em consórcio e adubação orgânica em cobertura promove o aumento de carbono na camada de 0-5 cm, quando em sistema

de plantio direto, não ocorrendo o mesmo na camada de 5-10 cm.

Determinadas frações do carbono como as huminas, podem se formar preferencialmente nestes sistemas.

O nitrogênio disponibilizado por estas práticas se concentra na cama de 0-5 cm, mas pode se deslocar a camadas mais profundas.

### Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPERJ pelo auxílio financeiro e a Embrapa Agrobiologia pelo espaço físico e apoio técnico.

### Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, D. L.; RIBEIRO, R.L.D.; GUERRA, J.G.M. Sistema de Produção Agroecológico (“Fazendinha” Agroecológica KM 47). Agricultura Ecológica. 2.Simpósio de Agricultura Orgânica e 1.Encontro de Agricultura Orgânica; Edmilson Ambrosano (coord.).-Guaíba: Agropecuária, **1999**. 398p.
- BENITES, V. M.; MADARI, B.; MACHADO, P. L. O. A. Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo: um procedimento simplificado de baixo custo. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, **2003**. 7p. (Embrapa solos. Comunicado Técnico, 16).
- BREMNER, J. M.; MULVANEY, C. S. Nitrogen total. In: PAGE, A.L. (Ed.). Methods of soil analysis. 2.ed. Madison: Soil Science Society of America, **1982**. Part 2, p. 595-624.
- DA SILVA, E. E.; GUERRA, J. G. M.; RESENDE, A. L. S.; MOREIRA, V. F.; PEREIRA, A. J.; ALMEIDA, D. L.; MENESES, E. L. A.; RIBEIRO, R. L. D. Desempenho da couve em cultivos consorciados com diferentes leguminosas sob manejo orgânico de produção. In: Anais do XXX CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, **2005**, Recife. XXX Congresso Brasileiro de Ciência do Solo.
- EMBRAPA / CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SOLOS. Manual de métodos de análises de solos. Rio de Janeiro: EMBRAPA / CNPS, **1997**. 212p. 2a edição. ISBN 85-85864-03-6.

## Composição de substâncias húmicas e sua adição via tratamento de sementes na cultura da soja (*Glycine Max (L.) Merril*)<sup>1</sup>

Ricardo Muñoz da Silva<sup>2\*</sup> (PQ), Leandro Bortolon<sup>3</sup> (PQ), Roberto dos Anjos Reis Júnior<sup>4</sup>, André Jablonski<sup>5</sup> (PQ), Sílvia dos Santos Garcia<sup>6</sup> (PG), Alexandre Machado da Silva Neto<sup>7</sup> (IC)

1. Projeto financiado pela Florestal S.A./Orgânica Agro Negócios S. A./Grupo Cecrisa ([www.cecrisa.com.br](http://www.cecrisa.com.br)).
  2. Coordenador de Pesquisa e Desenvolvimento da Florestal S. A./Orgânica Agro, rua Almirante Barroso n°40/401. Bairro Comerciário, Criciúma, SC, CEP 88802 -250, fone/fax 048-4374374, celular: 048-91060274.
  3. Eng. Agr. MSc. Fertilidade do Solo e Adubação. Fundação Rio Verde. Rod da Mudança, Km 08, Fone/fax 65 549 1161. Lucas do Rio Verde, MT.
  4. Eng. Agr. DSc. Fertilidade do Solo e Adubação. Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária de Chapadão Rod. MS 306 Km 105, Cx Postal 39, Chapadão do Sul/MS, 79560-000.
  5. Professor Adjunto da UFRGS (Geólogo - DEMIN – EE – UFRGS).
  6. Discente do Curso de Doutorado do PPGEM – EE – UFRGS.
  7. Discente do Curso de Administração da FASC – Criciúma, SC.
- \*e-mail: [ricardomunozdasilva@yahoo.com.br](mailto:ricardomunozdasilva@yahoo.com.br)

Palavras Chave: turfa, ácidos húmicos, ácidos fúlvicos.

### Introdução

Os resultados obtidos com o uso de substâncias húmicas são variáveis e dependem, além da espécie testada, das substâncias húmicas utilizadas, da concentração, do grau de purificação do material e das condições em que foram realizados os experimentos. As substâncias húmicas (SH) constituem a fração mais importante da matéria orgânica e afetam as propriedades químicas, físicas e biológicas dos solos (Hayes et al., 1989). Efeitos benéficos das substâncias húmicas sobre o crescimento de plantas e do sistema radicular têm sido reconhecidos em muitos trabalhos mas, efeitos específicos destas substâncias sobre as várias partes das plantas e estádios de crescimento ainda não foram adequadamente investigados. Ácidos húmicos e fúlvicos em soluções nutritivas são utilizados na Europa, tanto em hidroponia como em gotejamento, sendo usadas quantidades de 10-20 kg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> de matéria húmica (Brun, 1993). Os grupos funcionais predominantes nas substâncias húmicas são os oxigenados, principalmente carboxílicos (COOH), hidroxilas (OH), carbonilas (C=O), metóxilas (OCH<sub>3</sub>) e ocasionalmente ésteres (COOR) e éteres (COC) (Hayes et al., 1989). A resposta das plantas aos ácidos húmicos e fúlvicos está na dependência da matéria-prima original e, principalmente da espécie vegetal. Matérias-primas orgânicas diversas apresentam em sua composição ácidos húmicos e ácidos fúlvicos diferentes, bem como distintas concentrações desses ácidos húmicos e fúlvicos (Brun, 1993). Existe uma associação entre enzimas e substâncias húmicas e o resultado desta associação leva ao estímulo da atividade de muitas enzimas (fosforilase, fosfatase, citocromo oxidase), à inibição de outras (IAA oxidase, fitase e peroxidase) e à síntese de enzimas

(invertase) (Pereira e Méndez, 1976; Pospíšil e Hrubcova, 1974; Vaughan e Ord, 1980). Desde 1917 já se sabe que estas substâncias apresentam uma ação sobre as plantas semelhante às auxinas e, em 1982, foram isolados ácidos húmicos que apresentaram efeito semelhante às giberelinas em *Raphanus sativus* (Petrovic et al., 1982).

Foram realizados dois ensaios em duas fundações o primeiro foi conduzido no CETEF no município de Lucas do Rio Verde, MT. A semeadura foi realizada manualmente no dia 11 de novembro de 2004, em um Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico, em semeadura direta sob palha de girassol+brachiária. A cultivar utilizada foi a Monsoy 8866 de ciclo tardio com população de 14 plantas.m<sup>-1</sup> linear. Os resultados da análise de solo estão na Tabela 1. A adubação de base foi feita com o auxílio de semeadora de parcelas tratorizada, com as quantidade de 450 kg.ha<sup>-1</sup> de Fosmag fórmula 2-22-11, em cobertura foi aplicado 100 kg.ha<sup>-1</sup> de KCl.

**Tabela 1** – Resultados da análise de solo do local em que foi realizado o experimento.

pH	pH CaCl <sub>2</sub>	Al	Ca	Mg	H+Al	K	CTC pH 7	P
cmol.(dm <sup>3</sup> ) <sup>-1</sup>							mg.(dm <sup>3</sup> ) <sup>-1</sup>	
5,8	5,1	0	2,6	1,3	4,3	0,21	8,4	4,9
V	MO	Cu	Fe	Mn	Zn	S	B	
% g.kg <sup>-1</sup>		mg.(dm <sup>3</sup> ) <sup>-1</sup>						
48,8	30	0,3	136	10,8	3,4	8,5	0,3	

O experimento foi implantado em delineamento em blocos casualizados com 5 repetições. As parcelas constavam de quatro linhas espaçadas em 45cm, com seis metros de comprimento. O controle de plantas daninhas e pragas e doenças foram



realizados quimicamente através de herbicidas, inseticidas específicos e fungicidas. Os tratamentos utilizados foram os seguintes: T1 – Testemunha – 0mL/100 kg de semente; T2 – HFF 75 mL/100 kg de semente; T3 – HFF 150 mL/100 kg de semente; T4 – HFF 225 mL/100 kg de semente e T5 – HFF 300 mL/100 kg de semente. As sementes foram tratadas previamente com inoculante específico, cobalto, molibdênio e fungicida. As pulverizações foliares com adição dos produtos conforme programa fornecido pela empresa foi realizada com pulverizador pressurizado (CO<sub>2</sub>), utilizando - se barras com 4 bicos espaçados em 50cm, com equipados com bicos Duplo Leque XR 11002, com vazão de 120 L.ha<sup>-1</sup>. O rendimento de grãos foi obtido da colheita das duas linhas centrais com 5m de comprimento, extrapolando para um hectare, considerando a umidade padrão de 13%. Os resultados foram submetidos a análise de variância e a análise de regressão polinomial (Sanest, 1984).

Um segundo experimento foi implantado na Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária de Chapadão em Chapadão do Sul/MS (18°46'47"S, 52°38'40"W, 816 m), foi conduzido sob Sistema Plantio Direto em um solo cujas características químicas e físicas estão descritas na Tabela 2, a seguir.

**Tabela 2** – Resultados da análise de solo do local em que foi realizado o experimento.

pH	Al	Ca	Mg	H+Al	K	SB	T	P	
		cmol.(dm <sup>3</sup> ) <sup>-1</sup>				mg.(dm <sup>3</sup> ) <sup>-1</sup>			
4,81	1,4	20	6,5	50,7	4,2	30,7	81,4	13,4	
V	MO	Cu	Fe	Mn	Zn	S	B		
%	g.kg <sup>-1</sup>	mg. (dm <sup>3</sup> ) <sup>-1</sup>							
38	28,5	1,3	38	6,07	3,7	6,1	0,4		

Este solo apresentava ainda, 470 g.kg<sup>-1</sup> de argila, 370 g.kg<sup>-1</sup> de areia e 160 g.kg<sup>-1</sup> de silte.

A partir dos resultados dessa análise foi realizada a calagem, com a incorporação de 1,0 t de calcário magnesiano (PRNT = 95%)/ha, em setembro/04. O ensaio foi, delineado em blocos ao acaso com cinco repetições, e cada parcela foi formada por cinco linhas de plantio, com espaçamento de 0,40 m e seis metros de comprimento. As avaliações foram realizadas nas plantas das duas fileiras centrais, descartando-se dois metros de cada extremidade como bordadura. As Sementes da variedade Pintado foram tratadas com Vitavax-Thiram 200 SC (0,25 L/100 kg de semente) e inoculante específico. As parcelas foram semeadas em 26/11/04 com adubação de 480 kg de Superfosfato Simples/ha. Foi realizada adubação de cobertura com 160 kg KCl.ha<sup>-1</sup> aos 25 DAE. Foram aplicados herbicidas Spider (42 g.ha<sup>-1</sup>) em pré-emergência, Podium S (1,0 L.ha<sup>-1</sup>) aos 25 DAE e Cobra (0,5 L.ha<sup>-1</sup>) aos 30 DAE. O inseticida utilizado foi o Azodrin (0,5 L.ha<sup>-1</sup>,

aos 45, 100 e 120 DAE). Os fungicidas aplicados foram Derosal (0,5 L.ha<sup>-1</sup>) + Folicur (0,5 L.ha<sup>-1</sup>) em R1 e Folicur (0,5 L.ha<sup>-1</sup>) em R4 e R5.3. O stand, as alturas de plantas (AP) e de inserção da 1ª vagem (AV), o peso de 100 sementes (PS) e a produtividade de soja (umidade corrigida para 13%) foram avaliados na colheita (07/04/05). Os dados foram analisados por meio de análise de variância e Teste de Médias (Duncan 5%). Nesse ensaio a precipitação pluviométrica no mês de fevereiro apresentou precipitação abaixo da média histórica da região, com um veranico de 17 dias. Neste ensaio foram utilizados 5 tratamento: T1 (testemunha = padrão), Tratamento 2 (100 mL de SH Florestal.100 kg<sup>-1</sup> de semente), Tratamento 3 (150 mL de SH Florestal.100 kg<sup>-1</sup> de semente), Tratamento 4 (100 mL de SH Florestal.100 kg<sup>-1</sup> de semente + 200 mL de Fertilizante orgânico com cepas de Trichoderma Sp.100 kg<sup>-1</sup> de semente), Tratamento 5 (150 mL de SH Florestal.100 kg<sup>-1</sup> de semente + 200 mL de Fertilizante orgânico com cepas de Trichoderma Sp.100 kg<sup>-1</sup> de semente)

## Resultados e Discussão

As análises das diferentes SH e do produto comercial foi realizada no LAGEAMB – EE – UFRGS e as mesmas são apresentadas na Tabela 3, a seguir.

**Tabela 3** – Resultados de Análises das amostras de Substâncias húmicas.

	SH Lote 5	Extrato Liq.	AF livre	AH precip.
Densidade (g.L <sup>-1</sup> )	1203,5	1021	1351,5	-
Materia seca (g.L <sup>-1</sup> )	400,40	126,71	0,628	-
Conc (g.L <sup>-1</sup> )	263,10	80,37	0,164	-
% cinzas	34,29	36,61	74,22	45,85
% S (daf)	1,02	0,63	0,31	0,94
% P (daf)	4,87	-	12,02	20,24
% K (daf)	3,65	3,0	7,75	9,40
% Ca (daf)	0,79	-	-	0,55
% C (daf)	32,14	51,54	9,97	49,65
% N (daf)	6,16	2,14	10,0	2,86
% H (daf)	13,78	5,82	2,48	6,48
% O(daf)	37,6	37,5	57,47	
diferença				
COOH (cmol.kg <sup>-1</sup> )	825,46	25,88	1501,21	987,84
OH (cmol.kg <sup>-1</sup> )	92,58	202,60	40,611	136,7
Acidez total (cmol.kg <sup>-1</sup> )	918,04	228,49	1541,82	1124,5
CO (cmol.kg <sup>-1</sup> )	333,60	478,67	669,54	492,01

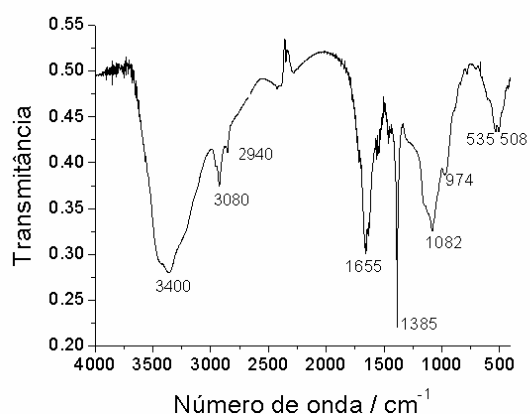


Figura 1 – Amostra SH Lote 5.

Observou-se que os Espectro de IR das amostras de SH lote 5 e do extrato líquido de SH foram similares apresentando regiões características de substâncias húmicas. Principais bandas de absorção foram observadas na região de 3400  $\text{cm}^{-1}$  ligação -H de grupos OH, 3080 a 3030  $\text{cm}^{-1}$  estiramento C-H de aromáticos e 2950-2840  $\text{cm}^{-1}$  estiramento C-H de alifáticos, 1660-1630  $\text{cm}^{-1}$  estiramento C=O de grupos amidas, de grupos quinonas e ou H ligados a cetonas, 1400-1370  $\text{cm}^{-1}$  deformação O-H e estiramento C-O de OH fenólico, 1080-1030  $\text{cm}^{-1}$  de impurezas do silício, 975-775  $\text{cm}^{-1}$  ligação C-H de aromático fora do plano.

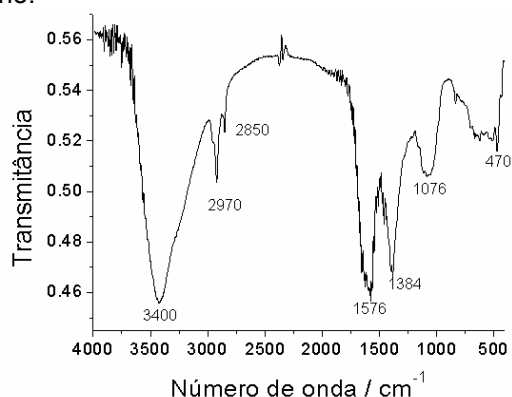


Figura 2. – IR do extrato de SH Líquido.

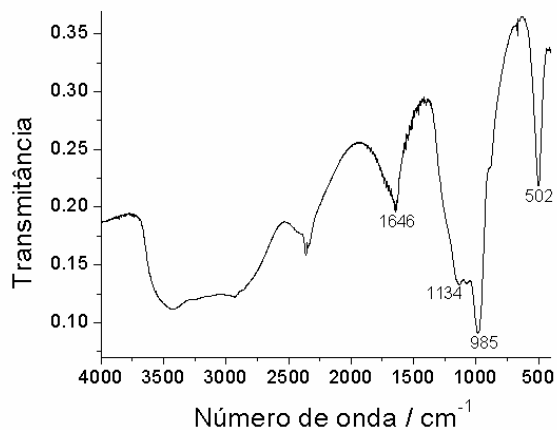


Figura 3 – IR do ácido fúlvico livre da SH Florestal.

Já o espectro de IR da amostra de ácido fúlvico as bandas na região de 3500-2000  $\text{cm}^{-1}$  não ficaram bem definidas, não sendo possível determinar os grupamentos nesta região, provavelmente devido a presença de impurezas inorgânicas. O que é comprovado pela banda intensa na região 985  $\text{cm}^{-1}$ .

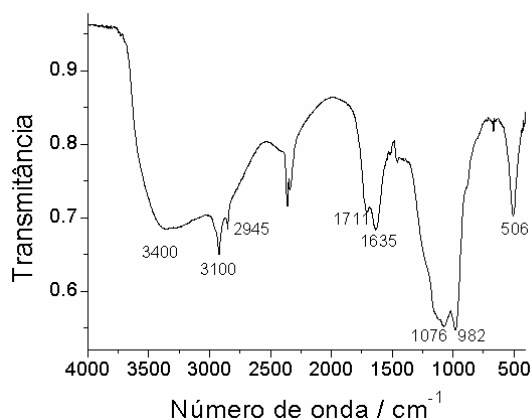


Figura 4 – IR do ácido húmico precipitado da Florestal S. A..

No IR do AH precipitado observa-se as bandas de absorção estão na região de 3400  $\text{cm}^{-1}$  (ligação -H de grupos OH), 3100  $\text{cm}^{-1}$  estiramento C-H de aromático, 2945  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento C-H alifático), 1711  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento C=O de COOH e de cetonas), 1635  $\text{cm}^{-1}$  estiramento C=O de grupos amidas, de grupos quinonas e ou H ligados a cetonas, 1076  $\text{cm}^{-1}$  impurezas do silício (Si-O), 982  $\text{cm}^{-1}$  ligação C-H de aromático fora do plano.

Os resultados obtidos no primeiro ensaio são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4** – Rendimento da soja com a adição de doses de SH.

Tratamentos	Época/via	Rendimento <sub>1</sub> (kg/ha)	Rendimento <sub>1</sub> (Sc/ha)
D1 – Testemunha	-	3424,60	54,2
D2 – 75 mL/100 kg de semente	Semeadura/ Tratamento sementes	3486,40	57,3
D3 – 150 mL/100 kg de semente	Semeadura/ Tratamento sementes	3488,00	60,1
D4 – 225 mL/100 kg de semente	Semeadura/ Tratamento sementes	3557,80	59,1
D5 – 300 mL/100 kg de semente	Semeadura/ Tratamento sementes	3419,00	59,0

Houve significância para o efeito das doses das substâncias húmicas, com resposta quadrática ( $P < 0,05$ ), verificando um acréscimo nas produções de 3,89%. Para a variável produção de soja em  $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  obteve-se a seguinte equação  $Y = 3415,548571 + 1,3488381X - 0,00422857X^2$  (PM = 3523,11  $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ , Dose = 159,49), onde o coeficiente

de determinação ( $R^2$ ) obtido foi de 0,65. Ocorreu um efeito positivo da adição da SH até a dose de 159,49 mL.100 kg<sup>-1</sup> de semente. Já para a variável produção de soja em sacas por hectare as substâncias húmicas elevaram a produção de soja em kg.ha<sup>-1</sup> em 4,61% e obteve-se igualmente uma resposta quadrática ( $P < 0,05$ ), tendo sido obtida a seguinte equação de regressão polinomial:  $Y = 56,165714 + 0,0265143X - 0,00008127X^2$  ( $R^2 = 0,67$ ,  $PM = 58,33$  sc.ha<sup>-1</sup>, dose = 163,12 mL.100 kg<sup>-1</sup> de semente). Os coeficientes de determinação obtidos indicaram que respectivamente, 65% da produção em kg.ha<sup>-1</sup> e 67% da variação obtida na produção em sacas de soja por há deveu-se as doses de SH utilizadas.

**Segundo ensaio:** o stand foi de 244.635 pls.ha<sup>-1</sup>. As alturas de planta (AP) e de inserção de vagem (AV), tampouco o peso de sementes (OS), não foram influenciados pelos tratamentos, apresentando valores médios de 0,81 m, 0,18 m e 16,1 g, respectivamente. A produtividade de soja foi estatisticamente influenciada pelos tratamentos ( $P < 0,01$ ). A Tabela 5 apresenta as médias observadas em cada tratamento.

**Tabela 5** – O Rendimento da soja com adição de SH e cepas de *Trichoderma sp.*

Tratamentos	Época/via	Rendimento kg.ha <sup>-1</sup>	Rendimento sc.ha <sup>-1</sup>
T1 (testemunha = padrão)	-	3.048b	50,8b
T2 (100 mL de SH.100 kg <sup>-1</sup> de semente)	Semeadura/ Tratamento sementes	2.994b	49,9b
T3 (150 mL de SH.100 kg <sup>-1</sup> de semente)	Semeadura/ Tratamento sementes	3.426a	57,1a
T4 (100 mL de SH.100 kg <sup>-1</sup> de semente + 200 mL de Fert. Org. com cepas <i>Trichoderma</i> <i>Sp.</i> 100 kg <sup>-1</sup> de semente)	Semeadura/ Tratamento sementes	3.684a	61,4a
T5 (150 mL de SH.100 kg <sup>-1</sup> de semente + 200 mL de Fert. Org. com cepas de <i>Trichoderma</i> <i>Sp.</i> 100 kg <sup>-1</sup> de semente)	Semeadura/ Tratamento sementes	3.420a	57,0a

Médias seguidas pela mesma letra são estatisticamente iguais entre si (Duncan 5%).

A utilização da SH lote 5 da Florestal S. A. isoladamente, na dose de 150 mL.100 kg<sup>-1</sup> de semente, ou associado com cepas de *Trichoderma sp.* na dose de 200 mL.100 kg<sup>-1</sup> de semente, resultou nas maiores produtividades de soja. A utilização da SH na dose de 100 mL.100 kg<sup>-1</sup> de semente não apresentou efeito sobre a produtividade.

## Conclusões

A SH comercial da Florestal apresenta IR e composição compatível com um extrato de SH;

A utilização da SH da Florestal eleva a produtividade da cultura da soja;

As alturas das plantas, a inserção das vagens e o peso de sementes não foram influenciados pelos tratamentos em nenhum dos dois ensaios apresentados;

A utilização de HFF isoladamente, na dose de 150 mL.100 kg<sup>-1</sup> de semente ou associado ao fertilizante orgânico com cepas de *Trichoderma sp.*, na dose de 200 mL.100 kg<sup>-1</sup> de semente aumentou a produtividade de soja.

## Agradecimentos

A Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária de Chapadão (Chapadão do Sul, MS), a Fundação Rio Verde (Lucas do Rio Verde, MT), ao Laboratório de Geoquímica Ambiental da UFRGS (Porto Alegre, RS) e as empresas do Grupo Cecrisa: Florestal S. A. e Orgânica Agro Negócios S.A..

<sup>1</sup>Hayes, M. H. B.; Maccarthy, P.; Malcolm, R. L. et al. Humic Substances II. In Search of Structure. 1989. West Sussex, UK: John Wiley & Sons Ltd. 1989. 733p.

<sup>2</sup>Brun, G. Pouvoir complexant des matieres humiques effets sur l'alimentation minerale des vegetaux. Toulouse, France, Institut National Polytechnique de Toulouse, 1993, 139p Thèse de doctorat, Specialite: Traitement des matieres premieres vegetales, Institut National Polytechnique de Toulouse, 1993.

<sup>3</sup>Pereira, J. R., Mendez, J. 1976. Inhibition of peroxidase by algal humic and fulvic acids. Biologic Plants, 1, 171-182.

<sup>4</sup>Pospisil, F.; Hrubcova, M. Ved. Pr. Vyzk. Ustavu Rostl. Vyroby., 1974, 18, 47-54.

<sup>5</sup>Vaughan, D.; Ord, B. G. Soil Biology Biochemistry. 1980, 12: 449-450.

<sup>6</sup>Petrovic, P.; Vitorovic, D.; Jablanovic, M. Acta Biol. Med. Exp., 1982, 7, 21-25.

<sup>7</sup>Zonta, E. P.; Machado, A. D., SANEST, Sistema de Análise Estatística para microcomputadores, Pelotas, RS, 1984, 75 p.

## Avaliação da interação substâncias húmicas – bactérias diazotróficas sobre o desenvolvimento radicular de plântulas de milho

Tiago M. David<sup>1</sup> (IC)\*, Roberto Batista Marques Júnior, Daniel Basílio Zandonadi, Leonardo de Oliveira Médice, Fábio Lopes Olivares, Arnoldo Rocha Façanha, Luciano P. Canellas<sup>2</sup> (PQ)

(1) Bolsista de Iniciação Científica da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamago, 2000 – Parque Califórnia – Campos dos Goytacazes, RJ. CEP: 28015 - 620. (2) Professor do Laboratório de Solos da UENF. \*e-mail: david@uenf.br

Palavras Chave: Interação, ácido húmico, fixação biológica.

### Introdução

Um dos maiores desafios hoje é o de buscar alternativas para produção agrícola sustentada para atender a segurança alimentar do país e gerar divisas através da exportação. Entre outras coisas, isso exigirá enorme esforço para dominar a ciência e a técnica para atingirmos condições de sustentabilidade. Trata-se de um problema central do século 21, diante do esgotamento, em curso, do modelo baseado na utilização intensiva de insumos químicos com a conseqüente destruição de solos, o aumento da poluição e o consumo exagerado de recursos e energia. Entre as alternativas utilizadas atualmente duas se destacam: O uso de matéria orgânica e a fixação biológica de nitrogênio (FBN).

A matéria orgânica tem grande importância para o fornecimento de nutrientes às culturas, a retenção de cátions, a complexação de elementos tóxicos e de micronutrientes, a estabilidade da estrutura, a infiltração e retenção de água, a aeração, e a atividade e biomassa microbiana, constituindo-se, assim, um componente fundamental da sua capacidade produtiva<sup>(1)</sup>.

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) talvez seja o processo microbiano relacionado à agricultura mais bem estudado e explorado tecnologicamente. A inoculação de sementes de leguminosas com bactérias diazotróficas é prática comum em vários países. No Brasil, a inoculação da soja com estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* ou *B. elkanii* propicia uma economia da ordem de US\$1,3 bilhão anuais em fertilizantes nitrogenados<sup>(3)</sup>.

No presente trabalho foi combinado o uso de matéria orgânica e bactérias fixadoras de N e avaliado o efeito dessa interação sobre o desenvolvimento das plantas. A maior parte da matéria orgânica é a fração humificada que afeta diretamente processos fisiológicos das plantas e entre eles, um de importância relevante, é a promoção do desenvolvimento radicular. Os mecanismos bioquímicos envolvidos nesse estímulo não são ainda bem compreendidos. Uma hipótese com evidências científicas concretas é a estimulação da atividade do sistema transportador de H<sup>+</sup><sup>(4)</sup>. A ação das H<sup>+</sup>-ATPases e a acidificação

do apoplasto são a base da teoria do crescimento ácido. Por outro lado, foi observado também um forte estímulo por parte de bactérias diazotróficas sobre o crescimento radicular e a atividade das bombas de H<sup>+</sup><sup>(5)</sup>.

O estudo da interação substâncias húmicas - bactérias diazotróficas pode abrir uma nova frente de pesquisa para o desenvolvimento de produtos biotecnológicos para a agricultura. Nesse período foi realizada a avaliação de alguns parâmetros de um ensaio sobre a interação de ácidos húmicos - bactérias diazotróficas em plantas de milhos (*Zea mays*).

### Materiais e Métodos

Após 4 dias da germinação das sementes de milho (*Zea mays* L., var. UENF 506/6), as plântulas foram transferidas para meio mínimo contendo apenas CaCl<sub>2</sub> 2 mmol L<sup>-1</sup> suplementado com: AH na concentração de 40 mg L<sup>-1</sup> (AHv); *Herbaspirillum seropedicae* estirpe Z67 (BR 11175) isolada de raiz de *Oryza sativa* (Bactéria) ou AHv + bactéria. Um controle adicional foi obtido com tratamento das plântulas de milho com uma solução com 10mM de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (alto N); O inóculo foi obtido a partir de crescimento bacteriano em meio DYG'S líquido, a temperatura de 30°C, por 36 horas, sob 140 rpm. A inoculação foi realizada adicionando-se 100 µL da suspensão bacteriana em meio líquido à solução nutritiva com e sem os ácidos húmicos ao redor das plântulas. O número de bactérias na raiz (expresso em log n° de bactérias por g de massa fresca da raiz) foi estimado tomando-se amostras de 1 g das raízes. Os frascos foram incubados a 30 °C, por 7 dias, decorrido este período avaliou-se o crescimento pela presença de uma película branca, na superfície do meio. O número de bactérias foi obtido pela consulta a tabela de McCrady para 3 repetições por diluição e os valores obtidos sofreram transformação logarítmica. Após cinco dias de crescimento nos diferentes tratamentos, as plântulas de milho foram coletadas. As raízes foram digitalizadas (300 dpi) e avaliado a área e o comprimento total das raízes através do programa Delta-T scan® e a massa seca das raízes.

A fração isolada de raízes de milho foi obtida através de centrifugação diferencial. As raízes

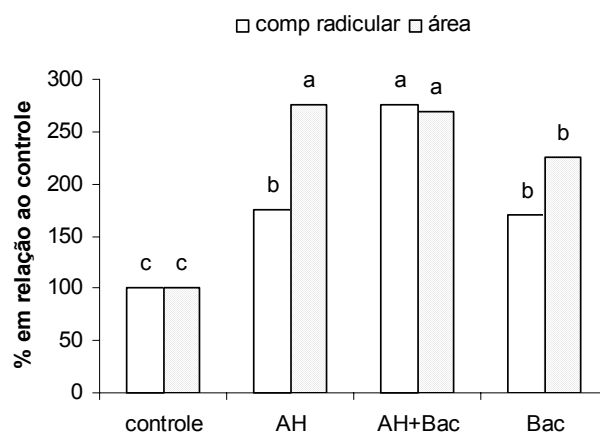
foram cortadas e pesadas e então homogeneizadas em meio tamponado, usando gral e pistilo. O tampão de extração foi composto de sacarose 250 mmol L<sup>-1</sup>, glicerol a 10 %, DTT 5,0 mmol L<sup>-1</sup>, EDTA 5 mmol L<sup>-1</sup>, 0,2 % de PVP-40, KCl 150 mmol L<sup>-1</sup>, BSA 0,13 %, PMSF 1 mmol L<sup>-1</sup>, Tris-HCl (pH 8,0) 0,1 mol L<sup>-1</sup>, na relação peso de tecido/volume de tampão de 1:2. As soluções usadas na preparação estavam geladas e toda a manipulação foi realizada de 0 a 4°C. O pH foi monitorado durante a homogeneização mantendo-se entre 7,6 e 8,0. O homogenato resultante foi então filtrado através de quatro camadas de gaze e submetido a centrifugação a 3000 x g durante dez minutos para a remoção de células não rompidas e núcleos. O sobrenadante foi submetido à nova centrifugação, a 100.000 x g por 40 minutos. O precipitado dessa segunda centrifugação foi solubilizado em solução tampão contendo: glicerol a 15 %, DTT 1 mmol L<sup>-1</sup>, PMSF 5,0 mmol L<sup>-1</sup>, tris-HCl 100 mmol L<sup>-1</sup> pH 7,6 e EDTA 5,0 mmol L<sup>-1</sup>, resultando numa concentração de proteína total de 1 a 2 mg mL<sup>-1</sup>.

A atividade ATPásica foi determinada colorimetricamente medindo-se a quantidade de fosfato inorgânico liberado pela reação. A reação foi iniciada com a adição da proteína e parada através da adição de ácido tricloroacético (gelado) para uma concentração final de 10 % (v/v). Composição do meio de reação: MOPS-Tris pH 6,5 50 mmol L<sup>-1</sup>; MgCl<sub>2</sub> 3 mmol L<sup>-1</sup>, KCl 100 mmol L<sup>-1</sup>, ATP 1 mmol L<sup>-1</sup> e 50 µg de proteína. A hidrólise de ATP representa a atividade sensível a 0,2 mmol L<sup>-1</sup> de vanadato. O transporte de próton foi monitorado pelo decréscimo da fluorescência da sonda metacromática, 9-amino-6-cloro-2-metoxiacridina (ACMA), excitada com feixe de λ 415 nm e a emissão captada a 485 nm. O meio de reação foi composto de 10 mmol L<sup>-1</sup> de MOPS-tris pH 6,5, KCl 100 mmol L<sup>-1</sup>, ACMA 2 µmol L<sup>-1</sup>, MgCl<sub>2</sub> 5 mmol L<sup>-1</sup> e ATP 1 mmol L<sup>-1</sup>.

A capacidade de troca de cátion (CTC) das raízes foi avaliada em amostras de 200 mg de raízes foram moídas, umedecidas com água destilada e colocadas num erlenmeyer. Em seguida foi adicionado 200 mL de HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup>, agitado por 5 minutos. Após esse período as raízes foram lavadas em papel de filtro com água destilada até teste negativo contra Cl<sup>-</sup>. Em um outro erlenmeyer foi adicionado as amostras de raízes 200 ml de KCl 1 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0). O pH de cada amostra foi ajustado para 7,0 com KOH 0,01 mol L<sup>-1</sup> durante 5 min. A capacidade de troca das raízes (CTC) foi estimada através do gasto de KOH necessário para titular as soluções.

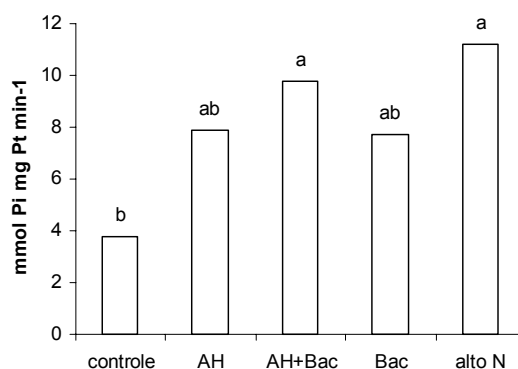
## Resultados e Discussão

O tratamento com AHs e o uso combinado com bactérias promoveram aumento no desenvolvimento radicular das plântulas de milho (Figura 01).



**Figura 1.** Aumento no crescimento radicular (em % em relação ao controle) avaliado através do comprimento radicular (comp. Radicular) e área radicular superficial (área). Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste Tukey (5%).

O aumento no desenvolvimento radicular foi acompanhado pelo estímulo provocado pelos ácidos húmicos e o uso combinado com bactérias na atividade de hidrólise da H<sup>+</sup>-ATPase vanadato sensível isolada da fração microsomal das raízes de milho (Figura 2).

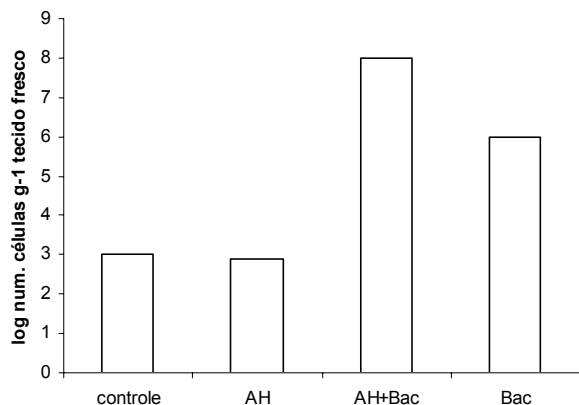


**Figura 2.** Hidrólise de ATP (µmol de Pi mg<sup>-1</sup> Pt min<sup>-1</sup>) pelas H<sup>+</sup>-ATPases vanadato sensível isoladas de vesículas de raízes de milho tratadas com ácidos húmicos (AH), bactérias (bac), ácidos húmicos + bactérias (AH+bac), controle e controle adicionando-se 10 mM de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (alto N).

Além do estímulo no crescimento radicular e na atividade da enzima H<sup>+</sup>-ATPase foi observado que o uso combinado de ácidos húmicos e bactérias promove aumento no número de microrganismos

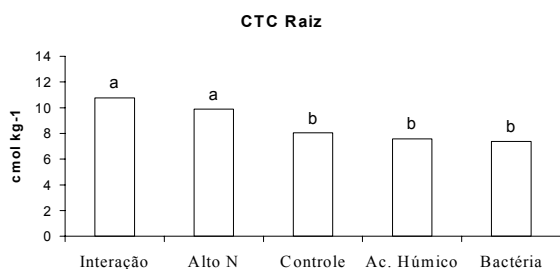


diazotróficos endofíticos responsáveis pela fixação biológica de nitrogênio (Figura 3).



**Figura 3.** Avaliação do número de bactérias diazotróficas endofíticas nas raízes de milho tratadas com ácidos húmicos (AH), bactérias (bac), ácidos húmicos + bactérias (AH+bac) e controle.

A maior CTC radicular foi observada nos tratamentos AH+Bac e alto N (Figura 4) mostrando uma relação entre a capacidade da parede celular de reter H<sup>+</sup> e a atividade de hidrólise de ATP pelas H<sup>+</sup>-ATPase de membrana plasmática (Figura 2).



**Figura 4.** Capacidade de troca de cátions (CTC) das raízes de milho tratadas com ácidos húmicos (AH), bactérias (bac), ácidos húmicos + bactérias (AH+bac) e controle e 10 mM de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (alto N).

Nesse trabalho, foi observado que o uso combinado de ácidos húmicos e bactérias diazotróficas endofíticas promove estímulos no crescimento radicular. O aumento da área e do comprimento radiculares (Figura 1) foi acompanhado do estímulo na hidrólise de ATP pelas H<sup>+</sup>-ATPases isoladas de membrana plasmática (Figura 2). O gradiente eletroquímico

gerado pela bomba de H<sup>+</sup> energiza transportadores membranares de íons e acidifica o apoplasto, condição necessária para o aumento da plasticidade da parede celular e, conseqüentemente, a expansão celular<sup>(6)</sup>. O aumento observado na área e no comprimento radiculares favorece o aparecimento de sítios de infecção nas raízes. Foi observado um aumento no número de bactérias no tratamento combinando o uso de ácidos húmicos e bactérias (Figura 3) indicando uma potente fonte de promoção da FBN em plantas não leguminosas.

Também foi observada uma relação entre a atividade da H<sup>+</sup>-ATPase e a CTC radicular. Os tratamentos com alto N e o uso combinado de AH com bactérias foram os que mais estimularam a hidrólise de ATP e os que tiveram maior valor de CTC radicular, indicando uma provável maior retenção de H<sup>+</sup> na parede celular.

### Conclusões

O uso combinado de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas estimulou a atividade das H<sup>+</sup>-ATPase de membrana plasmática, bem como o desenvolvimento radicular e a colonização das plântulas de milho. A inoculação em conjunto de *H. seropedicae* e SH pode se tornar uma tecnologia viável para a agricultura orgânica.

<sup>1</sup> Santos, G de A. & Camargo, F. A. O.. Fundamentos da matéria orgânica: ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre: Gênese, 1999. 544p.

<sup>2</sup> Santos, J. A. (coord.); Manuais práticos Vida: Minhocas, São Paulo, Ed. Três, 1986.

<sup>3</sup> Siqueira, J. O. e Franco, A. A. (1988). Biotecnologia do Solo: Fundamentos e Perspectivas. FAEPE/ABEAS/MEC/ESAL. Lavras. 236p.

<sup>4</sup> Canellas, L.P., Façanha, A.O., Olivares, F.L., Façanha, A.R Plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase from corn roots is induced by humic acids from vermicompost. Plant Physiology, 130:1951-1957, 2002.

<sup>5</sup> Olivares, F.L.; Reis, V. M.; Façanha, A.R; Baldani, J. I.; Baldani, V. L. D.; Ferreira, F. P.; Batista, Q. R.; Barreto, B. do R.; Silva, L.G.; Azevedo, I. G.; Brasil, F.C.; Rossio, R. O. P.; Miguens, F. C.; James, E. K. The role of endophytic diazotrophs in sugarcane root morphogenesis and development. In: 13TH International Congress on Nitrogen Fixation, 2001, Hamilton, Ontario. Nitrogen Fixation - Global Perspectives – Abstract Book. 2001. v. 1, p. 476-477.

<sup>6</sup> Cosgrove, D.J. Expansive growth of plant cell walls. Plant Physiology Biochemistry, v.38, p.109-124, 2000.



## Estoque e origem do carbono em frações da matéria orgânica de solo sob plantio de *Brachiaria humidicola* em monocultura e consorciada com *Desmodium ovalifolium*, no município de Itabela (BA)

David V. B. de Campos<sup>1</sup>(RD), Pedro L.O. de A. Machado<sup>2</sup>(PQ), Erika F.M. Pinheiro<sup>3</sup>(PG), Gabriel A. Santos<sup>3</sup>(PS), Ricardo Tarré<sup>3</sup>(PG), Robert Macedo<sup>2</sup>(PQ), Bruno J.R. Alves<sup>3</sup>(PQ), Segundo Urquiaga<sup>3</sup>(PQ), Robert M. Boddey<sup>3</sup>(PQ)

<sup>1</sup> EMBRAPA CNPS, <sup>2</sup> EMBRAPA CNPAF, <sup>3</sup> IA/UFRRJ, <sup>4</sup> EMBRAPA CNPAB. \*e-mail: davidcamposbr@yahoo.com.br

Palavras Chave: Fracionamento físico, estoque de carbono, composição isotópica de  $\delta^{13}\text{C}$ .

### Introdução

A mata atlântica originalmente situa-se desde a região Sudeste até o sul da região Nordeste do Brasil. No extremo Sul da bahia, na localidade de Itabela, uma considerável proporção dessa floresta foi derrubada para a implantação de pastagens e para o uso agrícola, promovendo alterações na matéria orgânica do solo.

No processo de fotossíntese, ocorre uma discriminação isotópica do  $^{13}\text{C}$  do  $\text{CO}_2$  do ar, quando incorporado aos tecidos vegetais. A diferença da composição isotópica entre plantas de via fotossintética  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$  permite identificar a origem do carbono no solo ou em frações da matéria orgânica quando uma gramínea  $\text{C}_4$  é introduzida em solo anteriormente sob floresta, onde predominam espécies de ciclo  $\text{C}_3$ . A matéria orgânica reflete o valor de  $\delta^{13}\text{C}$  da planta sobre o solo. No caso dos solos tropicais, a matéria orgânica de solo sob floresta, onde predominam plantas de ciclo  $\text{C}_3$ .

Foram determinados os estoques e a origem do carbono nas frações da matéria orgânica obtidas por fracionamento físico (Machado, 2002), em solo sob floresta secundária, pastagem de braquiária em monocultura e braquiária consorciada com leguminosa, em um experimento conduzido em Itabela, no Extremo Sul da Bahia (Tarré et al., 2001).

### Material e Métodos

O estudo foi realizado sobre um argissolo vermelho amarelo, na Estação de Zootecnia do Extremo Sul da Bahia (ESSUL/CEPLAC-CEPEC), município de

Itabela (BA). Os tratamentos avaliados foram um plantio de *Brachiaria humidicola* em monocultura e plantio de *Brachiaria humidicola* consorciada com *Desmodium ovalifolium*, instalado em 1988 sobre um Argissolo Vermelho Amarelo. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições. Cada tratamento ocupa uma área de aproximadamente 1 ha, com lotação de 3 animais por hectare. Adjacente ao experimento havia uma área com cobertura de floresta secundária.

Em 1997, foram coletadas amostras de solo até 30 cm de profundidade nas 3 repetições, sendo posteriormente secas ao ar e peneiradas (2mm). As amostras foram fracionadas em 2 replicatas, no laboratório de análise de solo e planta (LASP), na Embrapa Solos (Machado, 2002). Ambas amostras de 5 g de solo foram misturadas com 35 mL de NaI 1,80 g  $\text{cm}^{-3}$ . Após centrifugação, foi coletada a fração leve livre (FL). Depois, foi aplicado ultra-som (400 J  $\text{mL}^{-1}$ ), e após outra centrifugação, coletada a fração leve intra-agregado (FI). As amostras residuais foram combinadas, e esse material foi separado por peneiramento (fração areia, peneira de 53  $\mu\text{m}$ ) e sedimentação pelo método da alíquota, onde a fração silte foi determinada por diferença entre a fração total (0-53  $\mu\text{m}$ ) e a fração argila (0-2  $\mu\text{m}$ ). As frações obtidas foram secas em estufa a 55  $^\circ\text{C}$ , moídas e analisadas por via seca em aparelho Perkin-Elmer CNHS/O Analyser Series II 2400. Foi determinada também a densidade do solo em cada parcela. As amostras de solo foram moídas finamente em moinho de rolagem, onde apresentavam o aspecto de “talco”, sendo posteriormente analisadas para teores de C, N e  $^{13}\text{C}$ , em espectrômetro de massa (Finnigan DeltaPlus) acoplado a um analisador automático de C total, no laboratório de ciclagem de nutrientes na Embrapa Agrobiologia. Baseado nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  encontrados, calculou-se a proporção de  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$  de acordo com a fórmula proposta por Balesdent et al. (1987).

$$\% \text{C-C}_4 = 100 \times (\delta_G - \delta_F) / (\delta_{\text{liteira}} - \delta_F)$$

Considerando-se que:

$\% \text{C-C}_4$  é a proporção de carbono derivado da planta  $\text{C}_4$

$\delta_G$  é valor de  $\delta^{13}\text{C}$  do solo sob planta  $\text{C}_4$

$\delta_F$  é o valor de  $\delta^{13}\text{C}$  do solo sob floresta secundária

$\delta_{\text{liteira}}$  é o valor de  $\delta^{13}\text{C}$  da liteira da planta  $\text{C}_4$

Utilizou-se os valores de -10,66 ‰ e -25,31 ‰, para as liteiras de *Brachiaria humidicola* e *Desmodium ovalifolium*, respectivamente. A estimativa da proporção da leguminosa no consórcio foi determinada usando a equação

proposta por Cadisch & Giller (1996), que baseia-se na hipótese que o carbono remanescente da floresta é igual tanto na monocultura quanto no consórcio.

## Resultados e Discussão

A composição isotópica das frações indicou o tipo de vegetação que está influenciando a matéria orgânica do solo. No solo sob mata, os valores encontrados foram característicos de floresta, entre -24 e -29 ‰. Com a introdução das pastagens, os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  tenderam a ficar positivos, chegando a -18‰, indicando a incorporação de carbono da gramínea. No consórcio, devido á leguminosa, a mudança da composição isotópica foi menos pronunciada.

**Tabela 1** - Composição isotópica de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) nas frações da matéria orgânica de solo sob braquiária em monocultura, consorciada com leguminosa e floresta secundária.

	FLL	FLI	FA	Fsil	F arg
Monocultura					
0 a 5 cm	-20,0	-24,1	-17,8	-21,8	-22,1
5 a 10 cm	-20,3	-24,3	-19,0	-22,4	-22,4
10 a 20 cm	-18,8	-25,3	-19,1	-22,4	-24,7
20-30 cm	-18,8	-24,6	-20,4	-22,5	-25,1
Consórcio					
0 a 5 cm	-21,1	-24,1	-19,1	-23,0	-22,6
5 a 10 cm	-22,0	-25,1	-20,8	-23,8	-24,0
10 a 20 cm	-21,7	-25,5	-21,0	-25,1	-25,0
20-30 cm	-21,1	-24,4	-21,2	-25,6	-25,3
Mata					
0 a 5 cm	-27,3	-25,8	-25,4	-28,1	-26,6
5 a 10 cm	-25,8	-24,6	-25,0	-27,7	-26,3
10 a 20 cm	-24,9	-24,3	-23,3	-27,8	-26,2
20-30 cm	-24,5	-24,2	-25,8	-27,4	-25,7

Na fração leve livre foram encontrados estoques de carbono próximos a 3 Mg C ha<sup>-1</sup>. Observou-se uma tendência ao aumento de carbono nas pastagens em relação á mata. A proporção de carbono derivado das pastagens foi igual a 42% e 49% na monocultura e no consórcio, respectivamente (Figura 1).

### Fração leve livre

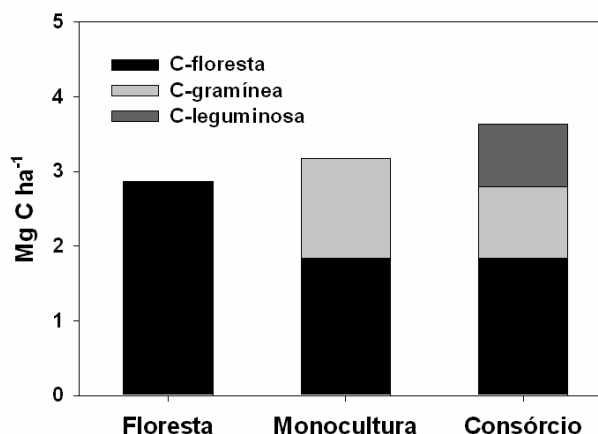


Figura 1- Estoque de carbono na fração leve livre.

Na fração leve intra-agregado, apesar de serem encontrados os menores estoques, próximos a 1 Mg C ha<sup>-1</sup>, foi observada a maior conservação do carbono derivado de floresta (Figura 2).

### Fração leve intra-agregado

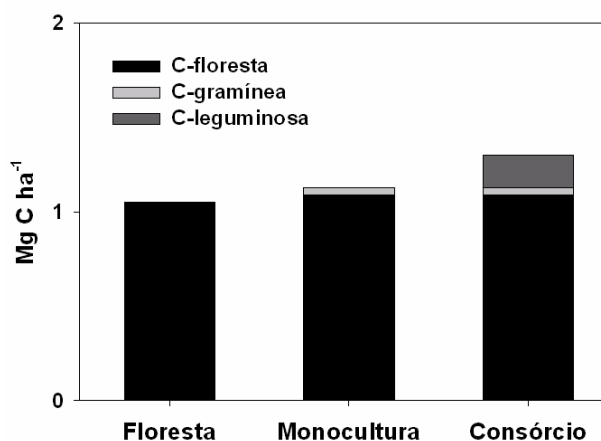
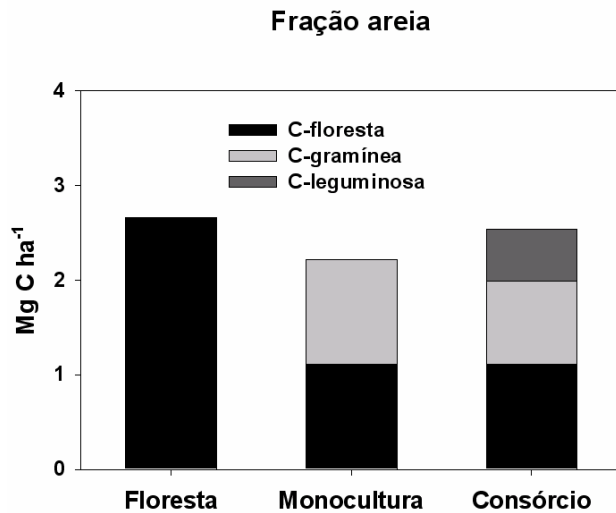


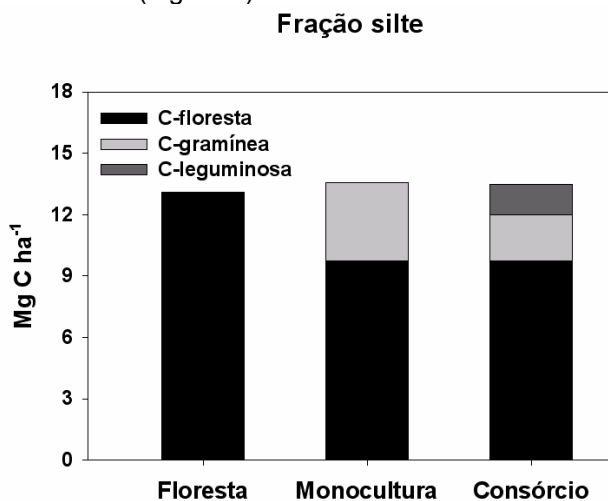
Figura 2 - Estoque de carbono na fração leve intra-agregado.

Na fração areia foram encontradas as maiores proporções de carbono novo, chegando a 50% na monocultura e a 56% no consórcio. Os estoques de carbono foram menores que 3 Mg C ha<sup>-1</sup>. Sob monocultura foi observada uma tendência a maior redução do estoque de carbono (Figura 3).



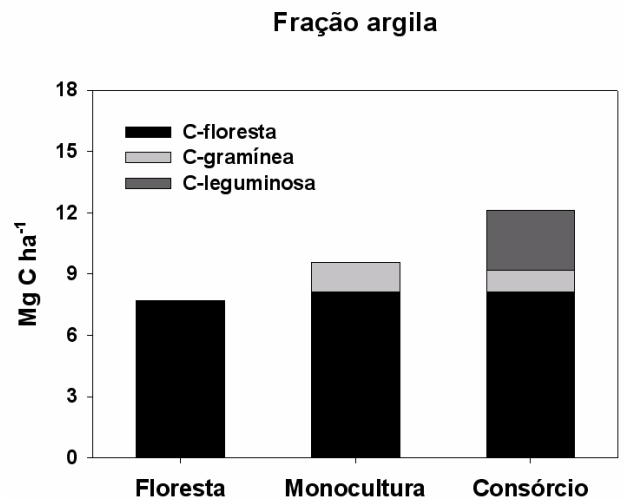
**Figura 3** - Estoque de carbono na fração areia.

Nas frações mais finas foram encontrados os maiores estoques de carbono do solo. Na fração silte, os estoques de carbono encontrados foram superiores a  $13 \text{ Mg C ha}^{-1}$ . As contribuições de carbono novo chegaram a 28% do carbono acumulado (Figura 4).



**Figura 4** - Estoque de carbono na fração silte.

Na fração argila, onde foram encontrados estoques variando entre  $7,7$  e  $12,1 \text{ Mg C ha}^{-1}$ , a introdução das pastagens aumentou o estoque de carbono na fração, principalmente no consórcio, em que a leguminosa contribuiu com cerca de  $3 \text{ Mg C ha}^{-1}$  (Figura 5).



**Figura 5** - Estoque de carbono na fração argila

Esses resultados confirmam o potencial da pastagem de braquiária, quando bem manejada, de aumentar os estoques de carbono do solo.

### Conclusões

Nas frações leve livre e areia foram observadas as maiores contribuições de carbono derivado das pastagens. Na fração leve intra-agregado encontrou-se a maior conservação do carbono derivado de floresta.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq e a Embrapa pelo apoio e o suporte financeiro.

### Referências

- BALESDENT, J.; MARIOTTI, A. and GUILLET, B. Natural  $^{13}\text{C}$  abundance as a tracer for studies of soil organic matter dynamics. *Soil Biol. Biochem.*, V 19(1): 25-30, 1987.
- MACHADO, P.L.O.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. *Comunicado técnico*. Embrapa Solos, no. 1, p:1-4, 2002.
- TARRÉ, R.; MACEDO, R.; CANTARUTTI, R.M.; REZENDE, C.P.; PEREIRA, J.M.; FERREIRA, E.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. The effect of the presence of a forage legume on nitrogen and carbon levels in soils under *Brachiaria* pastures in the Atlantic forest region of the South of Bahia, Brazil. *Plant and Soil* 234: 15-26, 2001.

## Desenvolvimento de raízes transgênicas de trevo em simbiose micorrízica sob influência de ácido húmico

Wallace Luís de Lima <sup>1\*</sup> (PG), Thiago Picinatti Raposo <sup>2</sup> (EA), João Ricardo de Oliveira <sup>1</sup> (PG), Natália Pereira Zatorre <sup>3</sup> (IC), Sonia Regina de Souza <sup>4</sup> (PQ), Ricardo Luis Louro Berbara <sup>5</sup> (PQ), Gabriel de Araújo Santos <sup>5</sup> (PQ)

<sup>1</sup> Pós-Graduando do CPGA-CS/UFRuralRJ; <sup>2</sup> Engenheiro Agrônomo; <sup>3</sup> Acadêmica em Agronomia, Bolsista PIBIC/CNPq/UFRuralRJ; <sup>4</sup> Prof<sup>a</sup> Dep. Química/UFRuralRJ; <sup>5</sup> Prof. Dep. Solos/UFRuralRJ. \*e-mail: limawl@ufrj.br

Palavras Chave: *Trifolium repens* L, hairy root e substâncias húmicas.

### Introdução

O sistema radicular é, provavelmente, o órgão menos estudado dos vegetais. Isso é surpreendente uma vez considerada sua importância na sustentação física de plantas, na absorção de nutrientes e água, e nas interações planta-microrganismos. Diante das dificuldades impostas pelo fator limitante, o solo, o desenvolvimento da técnica de transferência de DNA de *Agrobacterium* para plantas visando a produção de raízes transgênicas (hairy roots) constituem-se em importantes campos de estudos<sup>(1, 2)</sup> possibilitando estudos nas mais diversas áreas, desde a nutrição mineral até a produção de fármacos, através da cultura de raízes isoladas de plantas.

A possibilidade de utilização de raízes transgênicas permitiu estudos com o sistema radicular, tanto na observação de seu desenvolvimento como a produção de metabólitos, entretanto, foram proposta ainda para a ontogenia de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), para o estudo do processo de colonização radicular e para a identificação de compostos produzidos no estabelecimento da simbiose<sup>(3)</sup>. O uso de culturas de FMAs nestas raízes também permite avaliar interações metabólicas, possibilitando minimizar os efeitos das variáveis ambientais envolvidas, permitindo estudar o efeito de alguns eventos separadamente, como é o caso das substâncias húmicas (SH), que exercem efeitos diretos sobre o crescimento e metabolismo das plantas<sup>(4)</sup>.

As poucas bibliografias existentes relacionados aos estudos desta associação, apontam para a importância em se estudar a hipótese de que os efeitos encontrados na relação ácido húmico (AH)-planta, se reproduzam para as associações com FMAs ou se a simbiose micorrízica influencia o crescimento e alongação da célula vegetal de acordo o princípio da teoria do crescimento ácido.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de teores distintos de AH no desenvolvimento de raízes transgênicas de trevo (*Trifolium repens* L.) e na formação e estabelecimento da simbiose micorrízica após 14 e 21 dias da repicagem das raízes.

### Material e Métodos

Para a realização do experimento, foi monitorada a micorrização, de *Glomus clarum* Nicolson & Schenck, em raízes transgênicas de trevo (*Trifolium repens* L.), mantidas *in vitro*, tendo como meio de cultivo o meio mínimo<sup>(5)</sup> (MM) modificado e adicionado de Bacto-Agar para solidificação, enriquecido com AH, proveniente de vermicomposto, em diferentes concentrações (em mg C.L<sup>-1</sup>). O AH foi redissolvido lentamente com NaOH 0,05 M, e adicionado ao meio de cultivo antes da autoclavagem, em adições crescentes, sendo: 1) controle (0 mg C.L<sup>-1</sup>); 2) 10 mg C.L<sup>-1</sup>; 3) 20 mg C.L<sup>-1</sup>; 4) 40 mg C.L<sup>-1</sup>. O pH do meio foi corrigido para 5,5 com HCl 0,01 M.

As placas Petri, contendo o meio MM e AH, foram estocadas a espera da germinação dos esporos de *Glomus clarum*. Foram preparados três tratamentos para a determinação do crescimento radicular e da colonização micorrízica nas raízes transgênicas de trevo, sendo: 1) adição de um seguimento de raiz (R) com aproximadamente 5cm (controle); 2) adição de um seguimento de aproximadamente 5 cm de raiz previamente micorrizada (RM) que no momento da montagem do experimento apresentavam uma colonização média de 14 %, e 3) adição de um seguimento de aproximadamente 5 cm de raiz juntamente com 10 esporos, pré-germinados (RE). As análises propostas foram realizadas em cinco repetições, totalizando 60 placas para avaliação do crescimento radicular (área e comprimento) e 60 placas para a avaliação da colonização radicular em cada período de observação (14 e 21 dias).

Para a estimativa da área radicular (cm<sup>2</sup>) e do seu comprimento (cm) foi realizado através de imagens digitais, o que se tornou necessário fazer editoração das imagens<sup>(6)</sup>. Resumidamente, foram tomadas imagens das placas Petri, com uma câmera digital (5,0 Mega pixels), com resolução de 1280x960 pixels, 16,7 milhões de cores (24 Bits), no formato JPEG, utilizando a mesma altura da câmara e o mesmo zoom (automático), nos diferentes dias de avaliação (na montagem do experimento, aos 14 e 21 dias). Junto à placa de Petri, em uma posição uniforme, no momento da digitalização da imagem,

foi colocada uma escala quadriculada como referência para as medidas. Em seguida, utilizou-se o software SIARCS® (Sistema Integrado para Análise de Raízes e Cobertura do Solo) para o processamento das imagens<sup>(7)</sup>. A estimativa do comprimento radicular, no SIARCS®, foi realizada sempre após a estimativa da área radicular.

Para o cálculo do incremento radicular da área (cm<sup>2</sup>) e do comprimento radicular (cm) utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\%C = \frac{(tf - ti)}{ti} \times 100$$

onde, %C é a porcentagem no aumento do crescimento; *ti* é o tamanho inicial (montagem do experimento) e *tf* é o tamanho das raízes aos 14 e aos 21 dias.

O estabelecimento e o desenvolvimento da associação micorrízica foi monitorada diariamente usando-se um microscópio invertido (Olympus, modelo 1-Max50-I), o que permitiu a visualização não destrutiva dos simbiontes. Ao final dos períodos de observação, 14 e 21 dias, as raízes foram extraídas do meio após solubilização com citrato de sódio 10%<sup>(8)</sup> e seguida de clareamento com KOH 0,5 M<sup>(9)</sup> e coradas com azul de metileno<sup>(10)</sup>. A porcentagem de colonização das raízes foi calculada<sup>(11)</sup> e contadas as taxas de colonização por arbúsculo, esporo e/ou vesículas, hifas e total.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo software estatístico Sisvar<sup>(12)</sup>, e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

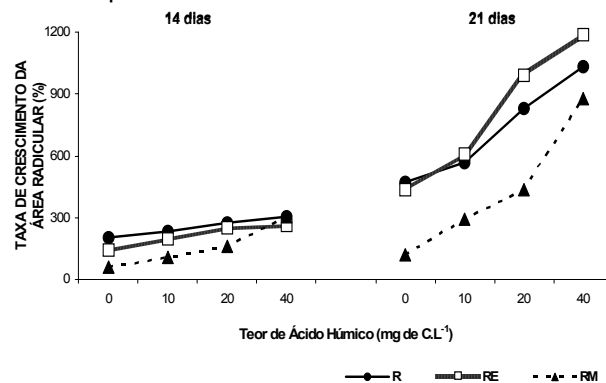
## Resultados e Discussão

Aos 14 dias o incremento na área radicular (%) em cm<sup>2</sup>, no tratamento com AH e raiz (R, na ausência de FMA) foi superior em todas as concentrações de AH, mas não houve diferença estatística (Tukey 5%) (Figura 1). Entretanto, ainda que estatisticamente não significativo, houve um incremento maior à medida que aumentou a concentração de AH na solução, fato este observado para todos os tratamentos.

A presença da associação micorrízica, nos tratamentos raiz mais esporo (RE) e raiz micorrizada (RM), indica que nos momentos iniciais da formação da simbiose (até 14 dias) a sua presença é prejudicial ao desenvolvimento das raízes, tornando-se provavelmente não benéfica (Figura 1). Sugere-se que os FMAs estejam drenando C da raiz e não do meio, o que induziria uma menor taxa de crescimento radicular.

O crescimento das raízes no meio de cultivo, com adição de 40 mg C.L<sup>-1</sup>, no tratamento RM aos 14 dias, foi estatisticamente superior aos demais meios do mesmo tratamento (Tukey 5%), mas não apresentando diferença significativa das soluções com 20 e 10 mg C.L<sup>-1</sup>, ficando evidente que, neste caso, a micorriza está desenvolvendo papel

benéfico, de simbiose, para a nutrição das plantas, mesmo que num ambiente rico em nutrientes.



**Figura 1.** Taxa de crescimento em área radicular (%) das raízes transgênicas de trevo após 14 e 21 dias de contato com o meio de cultivo enriquecido com ácido húmico (mg C.L<sup>-1</sup>) nos diferentes tratamentos, somente raiz (R), raiz mais esporos (RE) e raiz micorrizada (RM).

A presença de AH, nas diferentes concentrações, correlacionou-se positivamente ao incremento de área radicular. O tratamento com somente raiz (R) foi o que apresentou a melhor correlação com o AH aos 14 dias de interação ( $R^2 = 0,9975$ ), seguido do tratamento raiz mais esporos (RE) que apresentou correlação de 0,9481 e posteriormente o tratamento raiz micorrizada (RM) que apresentou a menor correlação ( $R^2 = 0,9194$ ), mas todos apresentaram alta correlação na taxa de crescimento à medida que se aumentava a concentração de AH no meio.

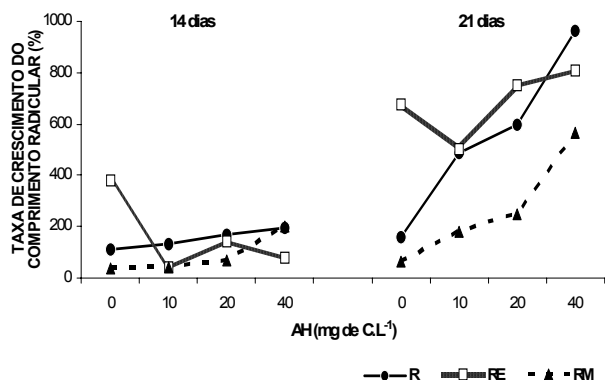
Na Figura 1 também é apresentado o incremento na área radicular aos 21 dias, onde visualizamos uma maior evidência do efeito do AH sobre o desenvolvimento das raízes, uma vez que em concentrações crescentes de AH o crescimento radicular foi proporcionalmente igual para todos os tratamentos nas concentrações de AH estudados. Com o desenvolvimento do FMA, observou-se que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos sem o fungo (R) e com RE em adições crescentes de AH, mas foram estatisticamente superiores ao tratamento RM. Este fato pode ser explicado, provavelmente, pela baixa taxa de colonização radicular (ver Figura 3) o que levou a um menor dreno de C da raiz para o fungo. No tratamento RM, onde a taxa de colonização foi maior, observou-se uma menor taxa de crescimento de área radicular, provavelmente devido ao dreno imposto pelo fungo à raiz.

Aos 21 dias de interação a melhor correlação, quanto ao incremento radicular, foi observado no tratamento RE ( $R^2 = 0,9781$ ) seguido do tratamento somente R ( $R^2 = 0,9715$ ) e posteriormente o tratamento RM que apresentou correlação de 0,9259 sendo que novamente todos os tratamentos apresentaram alta correlação na taxa de crescimento à medida que se aumentava a concentração de AH no meio de cultivo.



Para a avaliação do incremento do comprimento radicular as mesmas raízes, avaliadas quanto a sua área de cobertura, passaram por um afinamento realizado pelo próprio software (SIARCS) e tendo sua medida estimada em cm.

Aos 14 dias a correlação entre AH e os diferentes tratamentos foi significativa, quanto ao incremento do comprimento radicular (Figura 2). O tratamento RE apresentou um taxa reduzida no incremento radicular quando adicionou-se AH no meio de cultivo, podendo a micorriza estar drenado C das raízes para o desenvolvimento e manutenção da simbiose. Neste momento a relação poderia ser considerada não benéfica, vindo a recompensar as raízes num momento posterior à formação da simbiose (Figura 2).



**Figura 2.** Taxa de crescimento em comprimento radicular (%) das raízes transgênicas de trevo após 14 e 21 dias de contato com o meio de cultivo enriquecido com ácido húmico (mg C.L<sup>-1</sup>) nos diferentes tratamentos, somente raiz (R), raiz mais esporos (RE) e raiz micorrizada (RM).

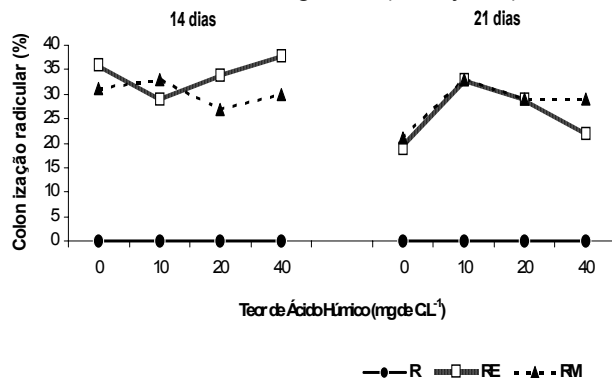
Os demais tratamentos apresentaram correlação positiva para o incremento do comprimento radicular com adições de AH no meio de cultivo. O tratamento R apresentou a pior correlação tanto aos 14 como aos 21 dias, sendo elas de 0,816 e de 0,7997, respectivamente. O tratamento RM apresentou uma correlação de 0,8738 e de 0,9 aos 14 e 21 dias, respectivamente.

Via de regra, a exceção do tratamento RE sem adição de AH, observou-se o mesmo padrão de desenvolvimento que o observado para a área radicular.

No momento da montagem do experimento foram coletadas raízes de 5 placas Petri aleatoriamente para determinação da colonização média e, as demais placas utilizadas foram monitoradas em microscópio estereoscópico para a averiguação não destrutiva da colonização micorrízica.

Na Figura 3 está representada a colonização radicular nos diferentes tratamentos com doses crescentes de AH (mg C.L<sup>-1</sup>). Para a avaliação da colonização radicular no tratamento RM foi feita uma inoculação do FMA nas raízes em placa Petri, aproximadamente 30 dias antes da montagem do experimento.

No tratamento RE, a taxa de colonização aos 14 dias aumentou conforme aumentava a concentração de AH (mg C.L<sup>-1</sup>), sendo este fato ter ocorrido inversamente no tratamento com 10 mg C.L<sup>-1</sup>, no qual a taxa foi estatisticamente inferior ao tratamento com 40 mg C.L<sup>-1</sup> (Tukey 5%). Aos 21 dias o tratamento RE com 10 mg C.L<sup>-1</sup> foi estatisticamente superior aos demais quanto a colonização radicular, não diferindo apenas do tratamento RE com 20 mg C.L<sup>-1</sup> (Tukey 5%).



**Figura 3.** Taxa de colonização radicular (%) das raízes transgênicas de trevo após 14 e 21 dias de contato no meio de cultivo enriquecido com ácido húmico (mg C.L<sup>-1</sup>) nos diferentes tratamentos, somente raiz (R), raiz mais esporos (RE) e raiz micorrizada (RM).

No tratamento RM, a taxa de colonização decresceu com as adições crescentes do AH (mg C.L<sup>-1</sup>), mas não havendo diferença estatística (Tukey 5%) aos 14 dias. Aos 21 dias o efeito da adição do AH foi significativo na colonização radicular, sendo superior no tratamento RM com 10 mg de C.L<sup>-1</sup>, mas não apresentando diferença estatística dos tratamentos posteriores.

Estes resultados indicam a necessidade, em estudos futuros, da utilização de uma maior variação de concentrações de AH na solução de cultivo das raízes transgênicas, para a construção de uma curva de calibração.

A estimativa da área de cobertura (exploração) do sistema radicular foi eficiente para sugerir que existe bioatividade no AH, promovendo um crescimento radicular à medida em que se aumentou sua concentração no meio de cultivo das raízes transgênicas.

No estudo de área radicular, pode-se sugerir que existem problemas na avaliação do crescimento radicular utilizando-se imagens. Isto porque a sobreposição de raízes existe, o que pode subestimar os valores encontrados. Entretanto, para efeito dos objetivos do trabalho, qual seja, determinar o efeito do AH no desenvolvimento radicular em termos quali-quantitativos, o método mostrou-se eficiente.



## Conclusões

A presença do ácido húmico influenciou positivamente em todos os parâmetros estudados (área e comprimento radicular, e formação e desenvolvimento da simbiose micorrízica).

Podemos concluir que o AH é benéfico para o desenvolvimento da simbiose micorrízica e do sistema radicular, aumentando a área de exploração das raízes transgênicas.

Os tratamentos com ácidos húmicos juntamente com fungos micorrízicos arbusculares foram mais expressivos quando comparados aos tratamentos somente com ácidos húmicos.

## Agradecimentos

Ao curso de Pós-Graduação em Agronomia Ciência do Solo da UFRRJ;

À CAPES pelo auxílio da bolsa;

## Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Flores, H. E. & Curtis, W. R. Approaches to understanding and manipulating the biosynthetic potential of plant roots. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 665, p. 188-209, 1992.
- <sup>2</sup> Berbara, R. L. L. Ionic fluxes in arbuscular mycorrhizal systems. Tese PhD, University of Dundee., 1995, 215 pp.
- <sup>3</sup> Azcón-Aguilar, C. & Barea, J. M. Saprotrophic growth of arbuscular mycorrhizal fungi. In: VARMA, A. ; HOCK, B. (Ed.). *Mycorrhiza, structure, function, molecular biology and biotechnology*. Berlin: Springer-Verlag, 1991. p. 391-407.
- <sup>4</sup> Guminski, S. Present days view on physiological effects induced in plant organisms by humic compounds. *Soviet Soil Science*, Washington, v. 9, p. 1250-1255, 1968.
- <sup>5</sup> Bécard, G. & Fortin, J. A. Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed roots. *New Phytologist*, Oxford, v. 108, p. 211-218, 1988.
- <sup>6</sup> Lima, W. L. Fungos Micorrízicos Arbusculares: Bioquímica e Morfologia da Interação com Ácidos Húmicos e sua Multiplicação em Aeroponia. Seropédica, 2004. 99 f, Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) Instituto de Agronomia, UFRRJ, 2004.
- <sup>7</sup> Crestana, S.; Guimarães, M. F.; Jorge, L. A. C.; Ralisch, R.; Tozzi, C. L.; Torre, A. & Vaz, C. M. P. Avaliação da distribuição de raízes no solo por processamento de imagens digitais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 18, p. 365-371, 1994.
- <sup>8</sup> Doner, L. W. & Bécard, G. Solubilisation of gellan gels by chelation of cations. *Biotechnology Techniques*, Surrey, v. 5, p. 25-29, 1991.
- <sup>9</sup> Koske, R. E. & Gema, J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizal. *Mycological Research*, Cambridge, v. 92, p. 488-505, 1989.
- <sup>10</sup> Grace, C. & Stribley, D. P. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, Cambridge, v. 95, p. 1160-1162, 1991.
- <sup>11</sup> McGonigle, T. P. & Fitter, A. H. Ecological specificity of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations. *Mycological Research*, Cambridge, v. 94, p. 120-122, 1990.
- <sup>12</sup> Ferreira, D. F. Sistema de análise estatística para dados balanceados. Lavras: UFLA/DEX/SISVAR, 1998. 145p.

## Alterações do nitrogênio mineral e dos fluxos de óxido nitroso em diferentes usos da terra na região de Comodoro (MT)

Leidivan A. Frazão<sup>1\*</sup> (PG), Marisa C. Piccolo<sup>1</sup> (PQ), Brigitte J. Feigl<sup>1</sup> (PQ), Carlos C. Cerri<sup>1</sup> (PQ), Carlos E. P. Cerri<sup>1</sup> (PQ), Marcos Siqueira Neto (PG)

<sup>1</sup>Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Universidade de São Paulo, Avenida Centenário 303, Caixa Postal 96, CEP 13416000, Piracicaba, SP, Brasil. \*e-mail: lafrazao@cena.usp.br

Palavras Chave: Cerrado, Nitrogênio, N<sub>2</sub>O.

### Introdução

A região do Cerrado brasileiro ocupa 207 milhões de hectares, representando aproximadamente 4% da região tropical do mundo [1]. Esse ecossistema é controlado principalmente pelas interações entre a disponibilidade de água e nutrientes, encontrando-se sobre solos muito antigos, altamente intemperizados, ácidos e com baixa disponibilidade de nutrientes como o nitrogênio (N) [2], promovendo uma ciclagem fechada [3].

Grande parte da vegetação original foi devastada, principalmente nas chapadas, para a introdução de pastagens ou culturas anuais [4]. Atualmente uma área superior a 12 milhões de hectares é utilizada com culturas anuais, principalmente a soja, com diversos sistemas de preparo do solo. Os manejos agrícolas com revolvimento intenso do solo para o cultivo de culturas anuais têm acelerado o processo de degradação das condições químicas, físicas e biológicas dos solos no Cerrado [1]. Com relação a disponibilidade de N na conversão do Cerrado a sistemas agrícolas, poucas informações estão disponíveis na literatura [5, 6 e 7]

O N é um elemento relevante nos estudos da matéria orgânica do solo (MOS) por ser um dos nutrientes com dinâmica mais pronunciada no sistema. A maior parte está na forma orgânica a qual, no entanto, pode ser mineralizada por ação microbiana tornando-se disponível para absorção vegetal na forma de nitrato e amônio [8]. A mineralização da MOS, da qual fazem parte as reações de amonificação e nitrificação, transforma, em média, de 2 a 5% do N orgânico por ano, processo que pode ser influenciado pelo uso e manejo do solo [9].

O aumento do uso de fertilizantes acelera o metabolismo microbiano, especialmente no que se refere ao ciclo do nitrogênio. Os processos de nitrificação e desnitrificação regulam a concentração de N inorgânico do solo, lixiviação do nitrato e produção de óxido de nitrogênio (N<sub>2</sub>O). A nitrificação inclui a oxidação de amônio para nitrato via nitrito, sendo favorecida geralmente pelo aumento da disponibilidade de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Na desnitrificação, ocorre a redução de nitrato para N<sub>2</sub> via NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO e N<sub>2</sub>O. Esses processos são

realizados por grupos específicos de microrganismos [10].

O potencial de emissão de N<sub>2</sub>O por desnitrificação aumenta em ambientes saturados em água que contém grandes concentrações de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e carbono orgânico. Altas concentrações de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> inibem a redução de N<sub>2</sub>O para N<sub>2</sub> e estimula a redução de NO para N<sub>2</sub>O causando o escape de N<sub>2</sub>O para do solo para a atmosfera [10].

O N<sub>2</sub>O é um gás potencial do efeito estufa e que contribui para a destruição da camada de ozônio [11]. O aumento das adições de fertilizantes nitrogenados minerais aos solos agrícolas tem sido apontado como o principal responsável pela crescente emissão de N<sub>2</sub>O para a atmosfera. Outras fontes também são identificadas, como queima de biomassa e mudança no uso da terra [12].

O objetivo desse trabalho foi quantificar as alterações nas formas de N mineral (amônio e nitrato) e fluxos de N<sub>2</sub>O no solo originalmente sob Cerrado quando este é convertido para pastagem e culturas anuais.

### Resultados e Discussão

As amostragens foram realizadas nas fazendas Santa Lurdes e Santa Tereza, município de Comodoro (13° 39' S e 59° 47' O) no Mato Grosso, em julho de 2005 (época seca). As áreas selecionadas para o estudo estão esquematizadas na figura 1.

Foram selecionadas quatro áreas para amostragem. A primeira área é o Cerrado nativo (CE), onde o solo não sofreu ação antrópica.

A área 2 (CAP) foi desmatada no ano de 1982, passando por um ciclo de arroz, manejo utilizado para diminuir a acidez do solo, que têm alta saturação de alumínio. No ano seguinte foi implantada a pastagem, permanecendo desde então na área há 22 anos, sem reforma.

A terceira área selecionada (CAPS) foi desmatada em 1987. O plantio de arroz foi realizado no primeiro ano e logo em seguida a implantação da pastagem que permaneceu sem reforma durante 13 anos. No ano de 2000, a pastagem foi substituída pela soja, que está sendo cultivada há 5 anos.

Ainda para esse estudo foi utilizada uma quarta área (CAS), que após ter sido desmatada no ano de

2002 foi cultivada com arroz (1 ano), seguindo com a cultura da soja há 2 anos.

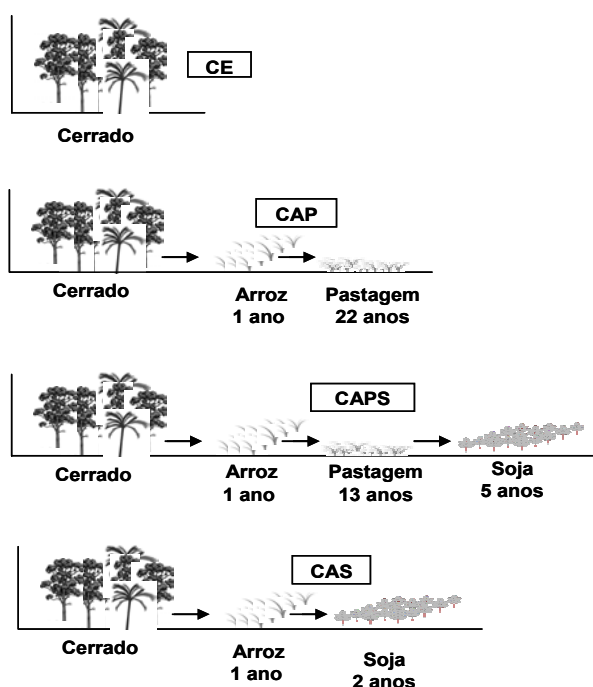


Figura 1. Esquema das áreas de estudo sob diferentes usos da terra na região de Comodoro (MT).

O solo da área CAPS no momento das coletas estava coberto com plantas daninhas, enquanto que na área CAS o solo estava exposto. A última colheita da soja nessas duas áreas ocorreu em março de 2005, quatro meses antes da amostragem de solo.

As determinações do N mineral ( $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ ) foram realizadas nas camadas 0-5 cm, 5-10 cm e 10-20 cm no perfil do solo, com 5 repetições em cada área. As amostras de solo foram preparadas no mesmo dia da coleta, removendo-se as raízes eventualmente presentes. As concentrações de N mineral foram determinadas em extratos de solo, os quais foram obtidos através da extração de 10g de terra úmida com 50ml de KCl ( $2 \text{ mol L}^{-1}$ ) por 24 horas. Estes extratos foram filtrados e preservados com fenil acetato de mercúrio a uma concentração final de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ .

As concentrações de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) e de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) nos extratos foram determinadas usando um sistema automático de injeção de fluxo contínuo (FIA) [13] acoplado a um condutivímetro e a um espectrofotômetro. O  $\text{N-NH}_4^+$  foi analisado por condutivimetria pelo método Solorzano, e o  $\text{N-NO}_3^-$  por colorimetria na forma de  $\text{N-NO}_2^-$  após a redução do catalisador cádmio [14].

As concentrações de  $\text{N}_2\text{O}$  foram medidas em três câmaras estáticas [15], por 4 dias consecutivos em cada área estudada. Durante a medida dos fluxos dos gases foi colocada uma tampa hermética sobre a base, onde foram coletadas amostras em seringas

BD de 20 ml, em intervalos regulares (0, 5, 10 e 20 minutos). As concentrações de  $\text{N}_2\text{O}$  foram determinadas por cromatografia gasosa (Shimadzu GC-14A), com um detector  $^{63}\text{Ni}$  de captura de elétrons (ECD) operando a  $230^\circ\text{C}$  [15], com dois padrões White Martins certificados para a calibração. Os fluxos foram calculados pela alteração linear da concentração de  $\text{N}_2\text{O}$  com o tempo de incubação. Durante a coleta foram medidas as temperaturas do ar e do solo (0, 2, 5 e 10 cm), a umidade do solo, bem como a pressão barométrica do local de coleta.

A forma predominante de N mineral no Cerrado (CE) e na pastagem (CAP) até 20 cm do perfil do solo foi o amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), com concentrações de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) próximo de zero. Nas áreas onde atualmente está sendo cultivada a soja (CAPS e CAS), as concentrações de  $\text{NO}_3^-$  são um pouco mais expressivas, mas estas sendo sempre inferiores às concentrações de  $\text{NH}_4^+$  (Figuras 2 e 3).

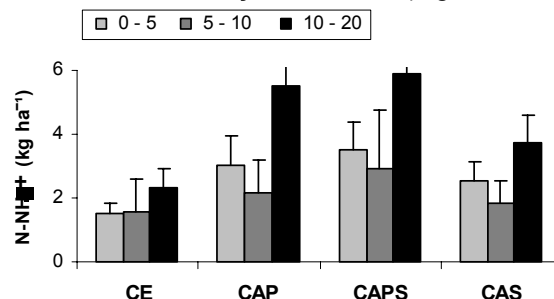


Figura 2. Quantidades de  $\text{N-NH}_4^+$  ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) em áreas sob diferentes usos da terra na região de Comodoro (MT). Os valores representam a média ( $n=5$ )  $\pm$  desvio padrão.

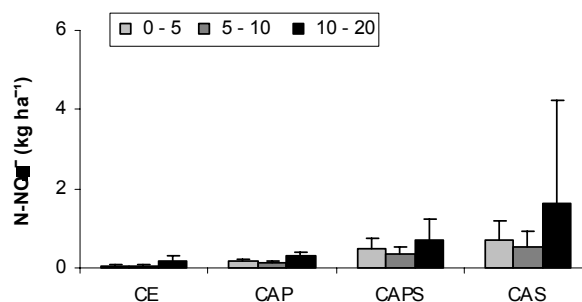
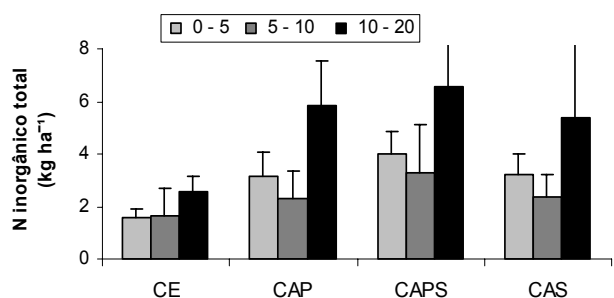


Figura 3. Quantidades de  $\text{N-NO}_3^-$  ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) em áreas sob diferentes usos da terra na região de Comodoro (MT). Os valores representam a média ( $n=5$ )  $\pm$  desvio padrão.

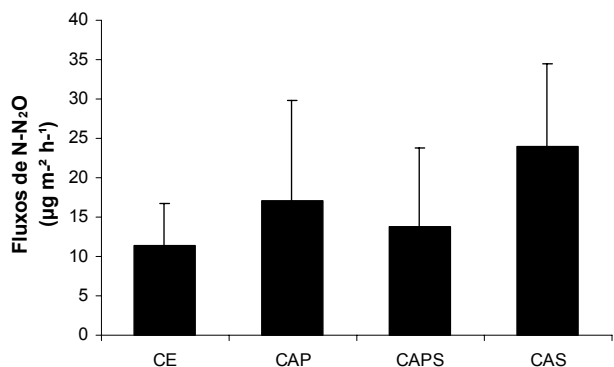
As concentrações de N inorgânico total ( $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$ ) nos locais estudados foram menores na área de Cerrado em relação as áreas que foram convertidas para agricultura (Figura 4).



**Figura 4.** Nitrogênio inorgânico total ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) em áreas sob diferentes usos da terra na região de Comodoro (MT). Os valores representam a média ( $n=5$ )  $\pm$  desvio padrão.

A relação  $\text{N-NH}_4^+:\text{N-NO}_3^-$  nas áreas foi de 31 para CE, 18 para CAP, 7 para a CAPS e 4 para CAS. Esse resultado indica que há uma menor disponibilidade de N na área de Cerrado (CE) e com cultivo da pastagem (CAP) em reação as áreas onde foi introduzida a soja.

Em relação aos fluxos de  $\text{N-N}_2\text{O}$ , observou-se uma tendência de menor emissão desse gás no Cerrado nativo do que nas áreas convertidas para a agricultura (considerando os valores médios das emissões), estando de acordo de acordo com vários locais de conversão de Cerrado para agricultura em diferentes regiões do Brasil [7]. Esse resultado indica que a mudança do uso da terra no cerrado promove um aumento nas emissões de  $\text{N}_2\text{O}$ , tanto em áreas com pastagem quanto em áreas utilizadas para o cultivo da soja (Figura 5).



**Figura 5.** Fluxos de  $\text{N-N}_2\text{O}$  ( $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ ) em áreas sob diferentes usos da terra na região de Comodoro (MT). Os valores representam a média ( $n=12$ )  $\pm$  desvio padrão.

## Conclusões

Os diferentes usos do solo no Cerrado provocaram modificações na dinâmica do nitrogênio, aumentando a disponibilidade desse nutriente dependendo da cultura utilizada. Pode ser verificado um aumento nas formas inorgânicas (nitrato e amônio) e maiores emissões de  $\text{N}_2\text{O}$  nas áreas convertidas para agricultura.

O uso da pastagem é mais conservativo do que o cultivo da soja, uma vez que o solo fica sob cobertura permanente.

## Agradecimentos

Ao Sr. Luis Bedusque, proprietário da Fazenda Santa Lurdes, pelo apoio logístico.

Ao Engenheiro Agrônomo Julhano Souza, pelo apoio técnico e logístico oferecido na Fazenda Santa Tereza.

Aos pós-graduandos João L. N. Carvalho e Francisco F. C. Mello pelo apoio nas coletas de solo e gases nos locais de estudo.

À Dagmar Gisleine Marchesoni, Lílian Assencio de Campos e Luis Hiroshi pelo apoio técnico para a realização das análises no Laboratório de Biogeoquímica Ambiental (CENA).

<sup>1</sup>Resck, D.V.S. O plantio direto como alternativa de sistema de manejo e conservação do solo e da água na região dos cerrados. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 30. 1997, Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 1997, 21p.

<sup>2</sup>Reatto, A.; Correia, J.R.; Spera, S.T. Solos do bioma Cerrado: aspectos pedológicos. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P. (Ed.) Cerrado: ambiente e flora. Planaltina: EMBRAPA-CPAC. 1998, p.47-86.

<sup>3</sup>Davison, E.A.; Keller, M.; Erickson, H.E.; Verchot, L.V.; Veldkamp, E. Testing a conceptual model of soil emissions of nitrous and nitric oxides. *Bioscience*. 2000, 50, 667-680.

<sup>4</sup>Carvalho Filho, A.; Motta, P.E.F.; Chagas, C.S.; Ker, J.C.; Blancaneaux, P.; Carvalho Junior, W.; Amabile, R.F.; Costa, L.D.; Pereira, N.R. A cobertura pedológica e as interações com as rochas, o relevo e a cobertura vegetal. In: Blancaneaux, P. (Ed.) Interações ambientais no Cerrado: microbacia piloto de Morrinhos, Estado de Goiás, Brasil. Brasília: Embrapa-SPI; Embrapa-CNPQ. 1998, p.69-143.

<sup>5</sup>Nardotto, G.B.; Bustamante, M.M.D. Effects of fire on soil nitrogen dynamics and microbial biomass in savannas of Central Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2003, 38, 955-962.

<sup>6</sup>Pinto, A.D.; Bustamante, M.M.C.; Kissele, K.; Burke, R.; Zepp, R.; Viana, L.T.; Varella, R.F.; Molina, M. Soil emissions of  $\text{N}_2\text{O}$ , NO and  $\text{CO}_2$  in Brazilian Savannas: Effects of vegetation type, seasonality, and prescribed fires. *Journal of Geophysical Research Atmosphere*. 2002, 107, n.20.

<sup>7</sup>Davidson, E.A.; Bustamante, M.M.C.; Pinto, A.S. Emissions of nitrous oxide and nitric oxide from soils of native and exotic ecosystems of the Amazon and Cerrado Regions of Brazil. *The Scientific World*. 2001, 1(S2), 312-319.

<sup>8</sup>Stevenson, F.J. Cycles of soil: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. New York: J. Wiley, 1986. 380p.

<sup>9</sup>Moreira, F.M.S.; Siqueira, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras: UFLA. 2002, 626p.

<sup>10</sup>Stein, Y.L.; Yung, Y.L. Production, isotopic composition, and atmospheric fate of biologically produced nitrous oxide. *Annual Review of Earth and Planetary Science*. 2003, 31, 329-356.

<sup>11</sup>International Panel on Climate Change (2001), Climate Change 2001: The Scientific Basis – Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel of Climate Change. New York: Cambridge Univ. Press. 2001, 881p.

<sup>12</sup>Khalil, M.A.K.; Rasmussen, R.A. Atmospheric nitrous oxide: patterns of global change during recent decades and centuries. *Chemosphere*. 2002, 47, 807-821.

<sup>13</sup>Ruzicka, J.; Hansen, E.H. Flow injection analysis. New York: Wiley Interscience. 1981, 395p.

<sup>14</sup>Piccolo, M.C.; Neill, C.; Cerri, C.C. Net mineralization and net nitrification along a tropical forest-to-pasture chronosequence. *Plant and Soil*. 1994, 162, 61-71.

<sup>15</sup>Stuedler, P.A.; Melillo, J.M.; Bowden, R.; Castro, M.; Lugo, A. The effects of natural and human disturbances on soil nitrogen dynamics and trace gas fluxes in a Puerto Rican wet forest. *Biotropica*. 1991, 23, 356-363.



## Compartimentos da matéria orgânica em Latossolos dos Cerrados do Piauí sob diferentes tipos de preparo e doses de adubação nitrogenada

Luiz Fernando Carvalho Leite<sup>1\*</sup> (PQ), Ana Nídia Cunha Lopes<sup>2</sup> (IC), Jussara Silva Dantas<sup>3</sup> (PQ), Francélio Pereira de Souza<sup>4</sup> (TC), Milton José Cardoso<sup>1</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Pesquisador da Embrapa – Centro de Pesquisa Agropecuária do Meio Norte – CPAMN. Caixa Postal 01, CEP 64006-220 Teresina (PI). <sup>2</sup>Estudante de Engenharia Agrônoma, Estagiária na área de Solos da Embrapa- Centro de Pesquisa Agropecuária do Meio Norte – CPAMN. Caixa Postal 01, CEP 64006-220 Teresina (PI). <sup>3</sup>Mestre em Manejo de Solo e Água, Bolsista DTI-M/CNPq na área de Solos da Embrapa- Centro de Pesquisa Agropecuária do Meio Norte – CPAMN. Caixa Postal 01, CEP 64006-220 Teresina (PI). <sup>4</sup>Engenheiro Agrônomo, Bolsista DTI-G/CNPq na área de Solos da Embrapa- Centro de Pesquisa Agropecuária do Meio Norte – CPAMN. Caixa Postal 01, CEP 64006-220 Teresina (PI).  
\*e-mail: luizf@cpamn.embrapa.br

Palavras Chave: *Substâncias húmicas, estoques de carbono, biomassa microbiana*

### Introdução

Nos últimos anos, os cerrados piauienses passaram a ser uma das regiões agrícolas mais exploradas do Brasil. Nestas áreas, há a predominância de Latossolos, profundos, bastante intemperizados, com acidez elevada e baixa fertilidade. Aliado a isto, sistemas convencionais de preparo do solo, calcados no uso excessivo de arados e grades, ainda são muito utilizados, o que tem provocado perda da qualidade do solo, especialmente por meio da diminuição dos estoques de matéria orgânica do solo<sup>1</sup>. Neste sentido, alguns produtores passaram a adotar o sistema plantio direto, com o objetivo de aumentar a produtividade das culturas e melhorar a qualidade ambiental. Apesar desse avanço, o pacote tecnológico adotado para os cerrados piauienses é, na sua grande maioria, advindo da região Centro-Sul do país, tornando-se essencial identificar para àquela região, por exemplo, um adequado manejo da adubação nitrogenada. Para avaliar estes sistemas, convencionais ou conservacionistas e suas influências na melhoria da qualidade do solo, tem sido recomendada a quantificação de compartimentos da matéria orgânica do solo, considerados sensíveis às ações antrópicas e mudanças no manejo. O objetivo deste trabalho foi verificar o impacto dos sistemas de plantio direto e plantio convencional, em diferentes doses de adubação nitrogenada, para a cultura do milho, sobre os estoques totais de carbono e nitrogênio e dos compartimentos de carbono em um Latossolo Vermelho-Amarelo na região dos cerrados piauienses.

### Material e Métodos

O estudo foi realizado no município de Baixa Grande do Ribeiro (07° 33' 30" S , 45° 14' 32" W), região sudeste do estado do Piauí. O solo da área é classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo (570 g kg<sup>-1</sup> Areia, 134 g kg<sup>-1</sup> Silte e 296 g kg<sup>-1</sup>

Argila). Foram estudados dois sistemas de preparo: plantio direto (PD), com oito anos de adoção e plantio convencional (PC), com uso de gradagem pesada + duas gradagens leves, com dez anos de adoção, além de quatro doses de adubação nitrogenada, na forma de uréia, em cobertura (0, 60, 120, 180 kg N ha<sup>-1</sup>), totalizando oito tratamentos. Além disso, estudou-se uma área de floresta nativa de cerrados (FN), referência de um estado de equilíbrio. Foram coletadas amostras de solos nas camadas 0-5, 5-10, 10-20, 20-40 cm, secas ao ar e em seguida destorroadas e homogeneizadas manualmente, passando-se em peneira de malha 2 mm, para determinação posterior dos compartimentos de matéria orgânica do solo. O carbono orgânico total (COT) foi quantificado por oxidação da matéria orgânica via úmida, empregando solução de dicromato de potássio em meio ácido, com fonte externa de calor<sup>2</sup>. O nitrogênio total (NT) foi quantificado nas amostras de solo submetido à digestão sulfúrica e dosado por destilação kjedahl<sup>3</sup>. A biomassa microbiana foi determinada pelo método da irradiação-extração<sup>4</sup>. O extrator utilizado foi K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup> e o C contido nos extratos (C<sub>MIC</sub>) quantificado por meio de procedimento por oxidação úmida<sup>2</sup>. O fracionamento químico das substâncias húmicas foi realizado segundo a técnica da solubilidade diferencial, separando-se os ácidos fúlvicos (FAF), os ácidos húmicos (FAH) e as huminas (HUM), de acordo com os conceitos de frações húmicas estabelecidos pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas<sup>5</sup>. O extrator utilizado foi NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A determinação do carbono dessas frações foi feita mediante oxidação por dicromato de potássio com aquecimento externo<sup>2</sup>. Os estoques de carbono e nitrogênio (Mg ha<sup>-1</sup>) em cada camada do solo foram determinados pela expressão: teor de **C** ou **N** (g Kg<sup>-1</sup>) x **ds** x **e**, em que **ds** = densidade do solo (Kg dm<sup>-3</sup>) e **e** = espessura da camada de solo (cm). O efeito dos sistemas de manejo em diferentes camadas sobre os estoques totais de carbono, nitrogênio e dos compartimentos de

carbono foi avaliado por meio da análise de variância, num delineamento blocos casualizados em arranjo fatorial 2 x 4 x 3, representando, tipos de preparo, doses de adubação nitrogenada e repetições, respectivamente.

## Resultados e Discussão

Na camada de 0-5 cm, os estoques de COT foram maiores ( $p < 0,05$ ) no tratamento PD/180 Kg ha<sup>-1</sup> N (17,1 Mg ha<sup>-1</sup>) quando comparados aos demais tratamentos. (Tabela 1). Por outro lado, nas demais camadas (5-10, 10-20 e 20-40 cm), embora tenham sido observados maiores valores para o PD comparativamente ao PC, as diferenças entre as doses de adubo nitrogenado, não foram significativas. Estes resultados realçam a importância do PD em aumentar os estoques de matéria orgânica do solo, especialmente nas camadas superficiais e indica a possibilidade de se usar doses menores de N em cobertura (60 kg ha<sup>-1</sup> N) em relação àquelas atualmente adotadas nos cerrados piauienses (100 kg ha<sup>-1</sup> N). Comparando-se à floresta nativa de cerrados (FN), os estoques de COT no PD e no PC, na camada de 0-5 cm, aumentaram entre 18 e 25% e 18 e 21%, respectivamente, significando melhoria da qualidade do solo com a adoção dos sistemas de manejo. Os estoques de C<sub>MIC</sub>, na camada de 0-5 cm, foram maiores ( $p < 0,05$ ) no PD e nas doses de 0, 60, 120 kg ha<sup>-1</sup> quando comparados àqueles observados no PC. No entanto, nas camadas de 5-10, 10-20 e 20-40 cm, o PD diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) do PC somente na dose de 60 kg ha<sup>-1</sup> com valores de 0,92, 0,93 e 0,28 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 1). Em relação à FN, na camada de 0-5 cm, observou-se aumento nos estoques de C<sub>MIC</sub> no PD entre 35 % (180 kg ha<sup>-1</sup> N) e 60 % (60 kg ha<sup>-1</sup> N). No entanto, no PC, verificou-se incremento apenas no tratamento com 60 kg ha<sup>-1</sup> N (29%). Este aumento do C<sub>MIC</sub> em solos sob PD é importante para a construção da matéria orgânica e para melhoria da qualidade do solo, desde que, este compartimento, de ciclagem rápida, funciona como fonte extremamente lábil de nutrientes. Além disso, pela sua alta sensibilidade às ações antrópicas, tem se tornado excelente indicador de qualidade de solo, evidenciando mudanças não observadas em outras variáveis. O PD apresentou os maiores valores da proporção C<sub>MIC</sub>/COT em todas as camadas como também em todas as doses o que demonstra maior quantidade de C imobilizado na biomassa microbiana (Tabela 1).

**Tabela 1.** Estoques de carbono orgânico total (COT), nitrogênio total (NT), carbono da biomassa microbiana (C<sub>MIC</sub>) e quociente metabólico (C<sub>MIC</sub>/COT) de um Latossolo Vermelho-Amarelo, nas camadas de 0-5, 5-10, 10-20, 20-40 cm sob sistema de plantio direto e convencional em função de diferentes doses de adubação nitrogenada<sup>1</sup>.

Sist <sup>2</sup>	Dose N Kg ha <sup>-1</sup>	COT	NT Mg ha <sup>-1</sup>	C <sub>MIC</sub>	C <sub>MIC</sub> /COT
<b>0 – 5 cm</b>					
FN	-	12,8	1,10	0,38	2,96
PD	0	15,6 c	1,34 ab	0,94 a	6,03
	60	15,9 b	1,36 ab	0,91 a	5,69
	120	16,0 b	1,38 ab	0,86 a	5,38
	180	17,1 a	1,42 a	0,58 b	3,39
PC	0	15,2 c	1,27 ab	0,26 d	1,66
	60	15,7 b	1,29 ab	0,53 b	3,48
	120	15,7 b	1,24 b	0,38 c	2,49
	180	16,1 b	1,28 ab	0,29 d	1,80
<b>5 – 10 cm</b>					
FN	-	9,90	0,85	0,30	3,03
PD	0	15,9 ab	1,31 a	0,55 b	3,44
	60	16,2 a	1,30 a	0,92 a	5,69
	120	16,2 a	1,46 a	0,53 b	3,40
	180	16,2 a	1,37 a	0,53 b	3,27
PC	0	15,9 ab	1,27 a	0,16 d	1,01
	60	15,5 cd	1,31 a	0,25 cd	1,61
	120	15,2 d	1,39 a	0,48 b	3,16
	180	15,7 bc	1,35 a	0,29 c	1,85
<b>10 – 20 cm</b>					
FN	-	9,30	0,80	0,28	3,01
PD	0	15,5 ab	1,33 bc	0,52 b	3,36
	60	15,7 a	1,35 abc	0,93 a	5,93
	120	15,6 a	1,46 a	0,30 cd	1,92
	180	13,4 c	1,45 a	0,22 de	1,64
PC	0	14,6 b	1,29 c	0,11 f	0,75
	60	14,9 ab	1,30 c	0,17 ef	1,14
	120	13,8 c	1,36 abc	0,37 c	2,69
	180	13,7 c	1,43 ab	0,19 ef	1,39
<b>20 – 40 cm</b>					
FN	-	7,00	0,60	0,21	3,00
PD	0	6,86 a	0,61 a	0,28 a	4,08
	60	6,25 d	0,60 a	0,28 a	4,48
	120	6,37 cd	0,60 a	0,14 b	2,19
	180	6,32 cd	0,57 a	0,09 c	1,47
PC	0	6,50 b	0,60 a	0,08 c	1,23
	60	6,00 e	0,60 a	0,12 bc	2,00
	120	6,38 c	0,58 a	0,15 b	2,35
	180	5,75 e	0,56 a	0,09 c	1,56

<sup>1</sup> Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, dentro de cada camada de solo, não diferem entre si para teste de Tukey a 5%.

<sup>2</sup> FN: floresta nativa de cerrado; PD: plantio direto; PC: preparo convencional.



**Tabela 2.** Estoques de carbono nas frações ácidos fúlvicos (FAF), ácidos húmicos (FAH), huminas (HUM) e na fração leve (C<sub>FL</sub>), de um Latossolo Vermelho-Amarelo, nas camadas de 0-5, 5-10, 10-20, 20-40 cm sob sistema de plantio direto e convencional em função de diferentes doses de adubação nitrogenada<sup>1</sup>.

Sist <sup>2</sup>	Dose N Kg ha <sup>-1</sup>	FAF Mg ha <sup>-1</sup>	FAH Mg ha <sup>-1</sup>	HUM	FAH/FAF
<b>0 – 5 cm</b>					
FN	-	1,47	1,24	8,59	0,84
PD	0	1,59 a	1,33 d	9,60 b	0,84
	60	1,41 b	1,52 c	11,7 a	1,08
	120	1,43 b	1,53 c	9,34 bc	1,07
	180	1,46 b	1,40 d	12,47 a	0,96
PC	0	1,12 b	1,75 c	8,48 d	1,56
	60	1,30 b	3,59 a	7,85 d	2,76
	120	1,27 b	1,09 d	8,66 cd	0,86
	180	1,55 b	2,59 b	8,44 d	1,67
<b>5 – 10 cm</b>					
FN	-	1,13	0,96	6,62	0,85
PD	0	2,51 a	1,93 a	9,42 b	0,77
	60	1,66 b	1,22 de	11,39 a	0,73
	120	1,11 e	1,08 e	9,43 b	0,97
	180	1,44 cd	1,00 e	10,76 a	0,69
PC	0	1,52 bc	1,36 cd	9,76 b	0,89
	60	1,05 e	1,52 bc	8,71 c	1,45
	120	1,44 cd	1,36 cd	8,42 c	0,94
	180	1,25 de	1,70 ab	9,40 b	1,36
<b>10 – 20 cm</b>					
FN	-	1,06	0,91	6,20	0,86
PD	0	0,93 bc	1,50 a	9,37 b	1,61
	60	1,89 a	1,26 a	10,75 a	0,67
	120	1,13 bc	1,70 a	11,22 a	1,50
	180	1,14 bc	1,31 a	9,15 b	1,15
PC	0	0,84 c	1,64 a	8,66 c	1,95
	60	1,22 b	1,26 a	9,43 b	1,03
	120	1,29 b	1,50 a	9,33 b	1,16
	180	1,31 b	1,31 a	9,24 b	1,00
<b>20 – 40 cm</b>					
FN	-	0,80	0,68	4,68	0,85
PD	0	1,50 a	1,14 c	3,01 c	0,76
	60	1,20 d	1,25 b	3,19 b	1,04
	120	1,21 d	1,28 b	3,42 a	1,06
	180	1,20 d	1,09 d	3,18 b	0,91
PC	0	1,16 d	1,62 a	3,02 c	1,40
	60	1,00 e	1,32 b	3,15 b	1,32
	120	1,30 c	1,03 d	3,17 b	0,79
	180	1,40 b	1,03 d	2,79 d	0,74

<sup>1</sup> Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, dentro de cada camada de solo, não diferem entre si para teste de Tukey a 5%.

<sup>2</sup> FN: floresta nativa de cerrado; PD: plantio direto; PC: preparo convencional.

Nas camadas de 0-5 cm, 5-10 cm e 20-40 cm, os estoques de carbono na FAF foram maiores ( $p < 0,05$ ) no tratamento PD sem adição de adubação nitrogenada (1,59, 2,51 e 1,50 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente) e, na camada de 10-20 cm, os maiores valores foram observados no tratamento com 60 kg ha<sup>-1</sup> N (1,89 Mg ha<sup>-1</sup>) (Tabela 2). Na

fração HUM, os estoques de C também apresentaram maiores valores no PD diferindo significativamente ( $p < 0,05$ ) do solo sob PC, nas camadas de 0-5 e 5-10 cm nas doses de 60 e 180 kg ha<sup>-1</sup> de N. Por outro lado, na camada de 10-20 cm, o PD diferiu ( $p < 0,05$ ) do PC nas doses de 60 e 120 kg ha<sup>-1</sup> N. A presença de maiores estoques de C nas FAF e HUM no PD deve-se à ausência ou revolvimento mínimo do solo e as condições pedoambientais mais estáveis desse sistema, propiciando às substâncias húmicas estabelecerem interações químicas mais estáveis com a fração mineral do solo, tornando-se mais resistentes às alterações acarretadas por práticas de manejo. Em todos os tratamentos, a fração HUM apresentou maiores estoques de C, comparativamente à FAF e FAH, constituindo-se de aproximadamente 60% do COT o que sugere elevada interação da fração mineral dos Latossolos dos cerrados com a matéria orgânica.

## Conclusões

A adoção do sistema plantio direto tem aumentado os estoques de matéria orgânica e por isso tem melhorado a qualidade do solo tornando-se excelente opção de manejo para os cerrados piauienses.

A adubação nitrogenada de 60 kg ha<sup>-1</sup> em cobertura, sob sistema plantio direto, proporcionou os maiores estoques de COT, NT e C<sub>MIC</sub> e pode ser recomendada para os Latossolos dos cerrados do Piauí.

A compartimentalização da matéria orgânica do solo em componentes lábeis e resistentes é uma forma eficiente de se quantificar ações antrópicas e mudanças no manejo.

## Agradecimentos

Ao Convênio Embrapa/Petrobrás pelo financiamento do projeto.

<sup>1</sup>Lopes, A.N.C.; Leite, L.F.C.; Melo, F.B.; Cardoso, M.C.; Araújo, A.R. Plantio direto e convencional nos cerrados piauienses: Teores de nutrientes e estoques de carbono. XXX Congresso Brasileiro de Ciência do Solo., Recife, 2005

<sup>2</sup>Yeomans, J.C.; Bremner, J.M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 1988. 19: 1467-1476.

<sup>3</sup>Bremner, J. M. Nitrogen Total. In SPARKS, D. L. (Ed), Methods of Soil Analysis: Part 3. America Society of Agronomy, Madson, SSA Book Series: 5, 1996, 1085-1121.

<sup>4</sup>Islam, K.R.; Weill, R.R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. Biol. Fert. Soils, 27: 408-416, 1998.

<sup>5</sup>Swift, R. S. Organic matter characterization. In: Sparks, D. L.; Page, A. L.; Helmke, P. A.; Loeppert, R. H.; Soltanpour, P. N.; Tabatabai, M. A.; Johnston, C. T.; Summer, M. E., Eds. Methods of soil analysis. Madison: Soil Science Society of America/ American Society of Agronomy, 1996. Part 3. Chemical methods. 1996, 1011-1020.

# Modelagem da dinâmica da matéria orgânica em Argissolo acinzentado sob diferentes sistemas de manejo em Pacajus-CE: Validando o modelo Century

Luiz Fernando Carvalho Leite<sup>1,\*</sup> (PQ), Kátia Araújo Ribeiro<sup>2</sup> (PQ), Teógenes Senna de Oliveira<sup>2</sup> (PQ), Eduardo de Sá Mendonça<sup>3</sup> (PQ)

<sup>1</sup> Embrapa Meio-Norte. Av Duque de Caxias, 5650, Caixa Postal 01, CEP 64006-220, Teresina-PI; <sup>2</sup> Universidade Federal do Ceará, Departamento de Solos, CEP 60021-970, Fortaleza-CE; <sup>3</sup> Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Solos, CEP 36570-000, Viçosa-MG. \*e-mail: luizf@cpamn.embrapa.br

Palavras Chave: cultura de cobertura, compartimentos de carbono, modelos de simulação.

## Introdução

A matéria orgânica do solo (MOS) é importante na disponibilidade de nutrientes, estabilidade estrutural do solo e no fluxo de gases de efeito estufa entre a superfície terrestre e a atmosfera. Ela representa o principal compartimento de carbono na biosfera, estimado entre  $1400 \times 10^{15}$  g e  $2200 \times 10^{15}$  g, equivalente a cerca de duas a três vezes a quantidade no  $\text{CO}_2$  atmosférico<sup>1</sup>. Neste sentido, a predição dos efeitos do clima, composição atmosférica e mudança no uso da terra sobre a dinâmica da MOS é essencial na formulação de políticas agrícolas, ambientais e socioeconômicas. Os modelos de simulação otimizam o entendimento da dinâmica da MOS e são ferramentas essenciais para estimar mudanças climáticas, para testar cenários específicos e para desenvolver estratégias que mitiguem os efeitos dessas mudanças. Diversos modelos têm sido testados para simular a dinâmica da MOS. O modelo de simulação Century<sup>2</sup> tem sido calibrado e validado com sucesso em uma diversidade de ecossistemas e tipos de solo, sendo a grande maioria sob condições de clima temperado o que tem, no entanto, estimulado a utilização em regiões tropicais. Os objetivos deste trabalho foram: a) simular a dinâmica da matéria orgânica em um Argissolo Acinzentado sob diferentes sistemas de manejo em Pacajus-CE e; b) validar o modelo Century comparando estoques de C medidos e simulados.

## Material e Métodos

O trabalho foi realizado em Pacajus-CE em Argissolo Acinzentado (94 dag  $\text{kg}^{-1}$  areia; 3 dag  $\text{kg}^{-1}$  silte; 3 dag  $\text{kg}^{-1}$  argila). A área, originalmente sob floresta nativa, foi desmatada em 1954 e cultivada durante 43 anos com a cultura do caju no sistema de manejo convencional com uso de arados e grades. O experimento foi iniciado em 1997, com a cultura do caju anão-precoce e constituiu-se de quatro tratamentos e quatro repetições, dispostos em delineamento blocos casualizados. Os tratamentos foram os seguintes sistemas de manejo: 1) Gradagem + coroamento (G): grade

destorroadora de 10 discos de 60 cm de diâmetro, acoplada em trator agrícola de pneus. As plantas espontâneas eram trituradas e incorporadas à profundidade de 15-20 cm; 2) Roçagem mecânica + coroamento (Rmc): realizada com roçadeira mecânica acoplada a trator agrícola de pneus. As plantas espontâneas eram trituradas pelo implemento e deixadas sobre a superfície do solo; 3) Cobertura vegetal + cobertura morta (Cv Cm): Nas entrelinhas das plantas de cajueiro anão-precoce, cultivaram-se leguminosas (calopogônio (*Calogonium muconoides*) em 1997 e 1998, cunhã (*Clitoria ternária*) em 1999 e 2000, e o guandu (*Cajanus cajan*) em 2001 e 2002) visando a cobertura do solo. Ao final do período chuvoso estas plantas eram roçadas mecanicamente e deixadas sobre a superfície do solo. Utilizou-se, ainda, como cobertura morta, a bagana de carnaúba (*Copernicia cerifera* L.), subproduto do processo de extração da cera de carnaúba. A quantidade por planta foi de aproximadamente 15 kg, espalhados na projeção da copa; 4) Herbicida (H): o manejo das plantas espontâneas nas entrelinhas foi realizado com a aplicação de herbicida sistêmico Glyphosate. A aplicação deste produto era realizada também sob a copa das plantas de cajueiro, não retirando-se o material orgânico originado das plantas espontâneas ou mesmo das plantas de cajueiro. Em cada sistema, foram coletadas amostras de solo na profundidade de 0-20 cm para posterior determinação dos compartimentos da MOS. O carbono orgânico total (COT) foi obtido por meio de oxidação úmida com a mistura de dicromato de potássio e ácido sulfúrico sob aquecimento<sup>3</sup>. O nitrogênio total (NT) foi quantificado nas amostras de solo submetidas à digestão sulfúrica e dosadas por destilação Kjeldhal<sup>4</sup>. A biomassa microbiana foi determinada pelo método da irradiação-extração<sup>5</sup>. O extrator utilizado foi  $\text{K}_2\text{SO}_4$  0,5 mol  $\text{L}^{-1}$  por meio de procedimento por oxidação úmida<sup>3</sup>. O C da biomassa microbiana foi usado como estimativa do compartimento ativo da matéria orgânica do solo. A fração leve da MOS foi obtida por flotação em solução de iodeto de sódio, densidade 1,8 g  $\text{cm}^{-3}$ <sup>6</sup>. O C da fração leve foi quantificado por combustão

via seca em analisador CHNS e usado como estimativa do compartimento lento. O compartimento passivo da matéria orgânica foi obtido pelo C orgânico total menos a soma dos compartimentos ativo e lento. O modelo Century foi parametrizado por meio da utilização das variáveis de entrada específicas do local, tais como: textura do solo, densidade do solo e estoques de COT, NT e dos compartimentos de C, obtidos no experimento. Além disso, foram incluídas no modelo, as médias mensais das temperaturas máxima e mínima do ar e a precipitação mensal de 1980 até 2004. A quantidade de NPK fornecido pelos adubos minerais e a de C por meio do composto orgânico, aplicados nos tratamentos, também foram usados como variáveis de entrada. O histórico e manejo da área, desde o desmatamento da floresta nativa (1954) até a instalação e consequente adoção do experimento (1997-2005) também foi incluído no modelo, considerando-se, por exemplo, as culturas utilizadas, os tipos de preparo de solo e as doses de adubação mineral e orgânica adotadas. Para cada tratamento, o modelo simulou a dinâmica da matéria orgânica do solo por um período de 66 anos (1954-2020), representando a derrubada da mata e consequente conversão para cultivo do caju sob sistema convencional e o período do experimento, com o intuito de verificar o comportamento do COT e dos compartimentos de C em médio e longo prazos. As estimativas do modelo Century foram realizadas para a camada de 0-20 cm. Para validar o modelo, foram comparados no ano de 2004, os estoques de COT e dos compartimentos de C simulados e medidos no solo sob os diferentes sistemas.

## Resultados e Discussão

Os estoques de COT diminuíram após a conversão da floresta nativa para a agricultura sob sistema convencional. Em 1996, após 42 anos do cultivo do caju, os estoques de COT foram de 28 Mg ha<sup>-1</sup>, i.e uma redução de 28 % em relação aos estoques iniciais (39 Mg ha<sup>-1</sup>) (Figura 1). Com a instalação do experimento, verificou-se, ainda, diminuição nos estoques de COT, com menor intensidade no tratamento CvCm. Em 2004, os estoques de COT foram de 22 (G), 22,5 (Rmc), 27 (CvCm) e 23 Mg ha<sup>-1</sup> (H) o que representou decréscimos, em relação aos estoques no início do experimento, de 21, 20, 3,5 e 18 %, respectivamente. Isto indica que o tempo de adoção dos tratamentos ainda não foi suficiente para se observar aumento nos estoques de COT, embora, no tratamento CvCm tenha sido verificada tendência para recuperação desses estoques. No compartimento ativo, os estoques de C no solo sob floresta nativa (0,8 Mg ha<sup>-1</sup>) foram, similarmente ao COT, reduzidos com a adoção da agricultura.

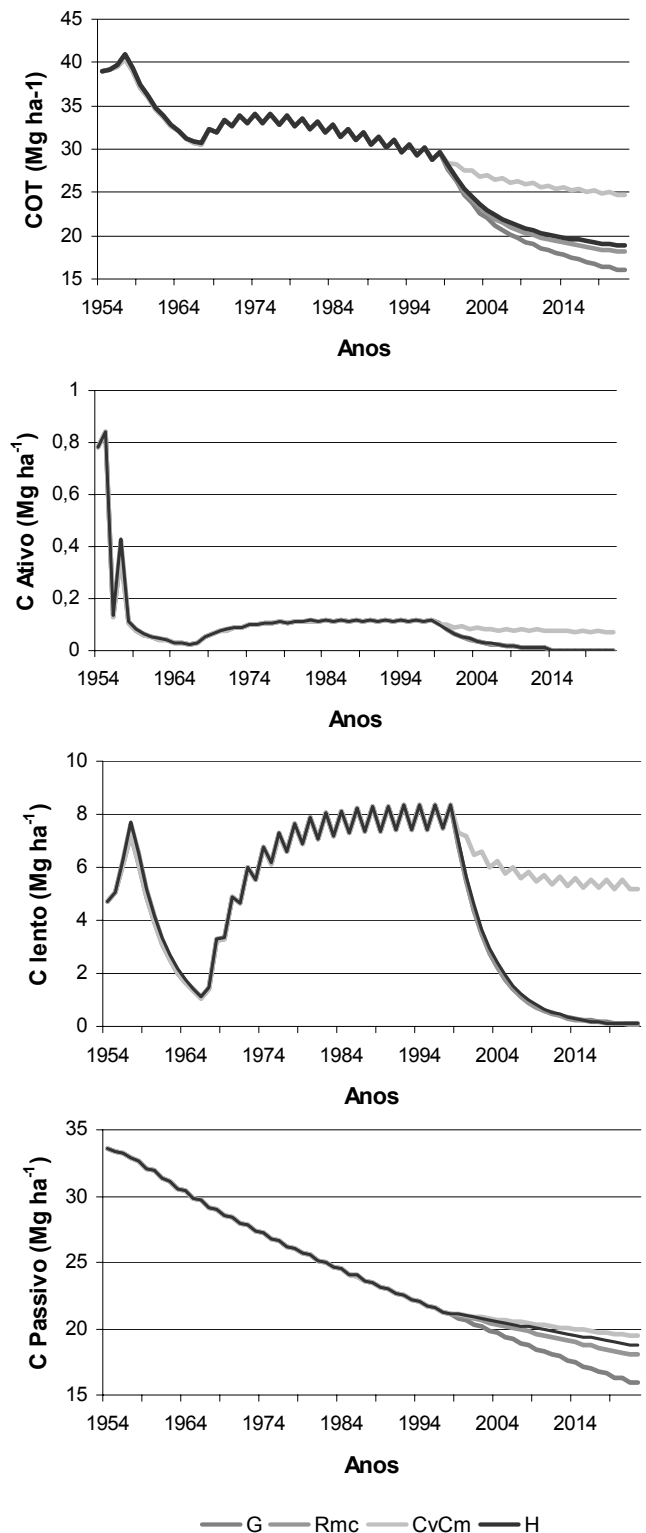


Figura 1. Variação temporal dos estoques de carbono orgânico total (COT) e dos compartimentos de carbono, ativo, lento e passivo simulados pelo modelo Century em um Argissolo Acinzentado nos sistemas de manejo gradagem (G), roçagem mecânica (Rmc), cobertura vegetal + cobertura morta (CvCm) e herbicida (H), em Pacajus-CE.

No entanto, como este compartimento tem ciclagem rápida e responde intensamente às mudanças no manejo, os decréscimos foram de maior magnitude do que aqueles observados no

COT. No início do experimento, os estoques de C foram de  $0,11 \text{ Mg ha}^{-1}$ , ou seja, perda de 86 % em relação aos estoques da floresta nativa. Em 2004, os estoques de C nos tratamentos G, Rmc e H foram de  $0,03 \text{ Mg ha}^{-1}$  e no tratamento CvCm de  $0,08 \text{ Mg ha}^{-1}$ , i.e redução de cerca de 72 % em relação ao estoque no início do experimento (Figura 1).

No compartimento lento, de ciclagem intermediária, os estoques de C foram diferenciados pelo modelo Century em função do manejo empregado. No período de 1954 até 1966, após a derrubada da floresta nativa, observou-se redução nos estoques de C de  $4 \text{ Mg ha}^{-1}$  para  $1,3 \text{ Mg ha}^{-1}$ . No entanto, a partir do ano de 1967 até o início do experimento, houve mudança no manejo, com a aplicação anual de esterco bovino (5 litros/cova). Esse aporte foi considerado pelo modelo, propiciando o aumento nos estoques de C no compartimento lento para cerca de  $8 \text{ Mg ha}^{-1}$  no ano de 1997. Com a adoção dos tratamentos, a aplicação do adubo orgânico foi suspensa e por isso, apenas o tratamento CvCm, que continuou incorporando material orgânico, por meio de leguminosas e palha de carnaúba, conseguiu manter os estoques de C ( $6 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) próximos daqueles verificados no início do experimento. Isto indica o potencial desse tratamento para construção da matéria orgânica, em médio e longo prazos. O compartimento passivo, por ser considerado de ciclagem lenta e, portanto, de maior estabilidade, não apresentou grande diferenciação entre os tratamentos, embora tenha acompanhado a tendência observada nos compartimentos ativo e lento. Além disso, foi o compartimento que apresentou maior proporção (90 %) em relação ao COT o que é indicativo do nível de degradação do solo, significando maior consumo de C ativo e lento, compartimentos mais importantes para a liberação e ciclagem de nutrientes, em função das maiores taxas de decomposição.

Os estoques de COT, medidos por meio de métodos analíticos e simulados pelo modelo Century foram similares em todos os sistemas de manejo (Tabela 1). As diferenças foram de 4,5, 3,7, 3,0 e 11,4 % para G, Rcm, CvCm e H, respectivamente. A eficiência do modelo Century em simular a dinâmica do COT em solos tropicais tem sido também verificada em outros estudos<sup>7</sup>, indicando sensibilidade para diferenciar sistemas de manejo. Por outro lado, no compartimento ativo, os estoques de C foram subestimados pelo modelo em relação àqueles medidos, com as diferenças variando de 11 (CvCm) a 66 % (Rmc e H) A subestimação dos estoques de C nesse compartimento é uma das grandes falhas do modelo e tem sido reportado em outros estudos<sup>8</sup> Para melhorar a acurácia do modelo é essencial otimizar o entendimento sobre os fatores que

alocam o C para esse compartimento, como por exemplo, a inclusão de aspectos que regulam o crescimento microbiano, tais como, a disponibilidade de substrato. No compartimento lento, o modelo subestimou os estoques de C nos sistemas Rmc (44 %) e H (18 %) e superestimou nos sistemas G (32 %) e principalmente CvCm (80 %) (Tabela 1). Neste último caso, a justificativa pode ser associada ao fato do compartimento lento quantificado em laboratório, incluir outros compostos além do C da fração leve. O aspecto mais crítico do modelo Century tem sido realmente, associar eficazmente os compartimentos conceituais, pressupostos nos modelos e as frações quantificáveis da MOS, o que pode tornar, a formulação desses compartimentos arbitrária. Os estoques de C no compartimento passivo foram subestimados pelo modelo apenas no sistema CvCm, apresentando a maior diferença entre valores medidos e simulados (22 %). No modelo, parte do C adicionado por meio do aporte orgânico é perdida na forma de  $\text{CO}_2$ , pois não há, além da textura, mecanismos de estabilização, como àquele oferecido pela mineralogia. Isto implica, assim como em outros estudos<sup>8</sup>, em simulações mais eficientes para sistemas sem a incorporação de aportes orgânicos.

**Tabela 1.** Estoques de carbono orgânico total (COT) e dos compartimentos de carbono, ativo, lento e passivo, medidos e simulados pelo modelo Century em Argissolo Acinzentado sob diferentes sistemas de manejo em Pacajus-CE.

	COT	C Ativo	C Lento	C Passivo
<b>G</b>				
Medido	21,0	0,07	1,51	19,42
Simulado	22,0	0,04	2,23	19,72
<b>Rmc</b>				
Medido	21,75	0,12	3,95	17,79
Simulado	22,6	0,04	2,21	20,34
<b>CvCm</b>				
Medido	27,84	0,09	1,21	26,54
Simulado	27,00	0,08	6,21	20,70
<b>H</b>				
Medido	20,35	0,12	1,94	18,39
Simulado	22,97	0,04	2,38	21,55

\* G – gradagem; Rmc – roçagem mecânica; CvCm – cobertura vegetal + cobertura morta e; H – herbicida.

## Conclusões

A simulação pelo modelo Century indicou diminuição nos estoques de matéria orgânica do solo após a substituição da floresta nativa pela agricultura convencional.

O modelo Century estimou maiores estoques de matéria orgânica no sistema com cultivo de leguminosas e cobertura morta, o que indica a possibilidade de melhoria de qualidade de solo em médio e longo prazos.

Houve eficácia na simulação do modelo Century para os estoques de carbono orgânico total em todos sistemas estudados, o que ratifica o potencial do modelo em estimar dinâmica da matéria orgânica em solos tropicais.

Há ainda a necessidade de se identificar frações química ou fisicamente quantificáveis que possam ser mais eficientemente associadas aos compartimentos ativo e lento pressuposto no modelo.

<sup>1</sup> Lal, R. Global Potential of Soil Carbon Sequestration to Mitigate the Greenhouse Effect. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22: 151-184, **2003**.

<sup>2</sup> Parton, W.J.; Schimel D.S.; Cole, C.V.; Ojima, D.S. Analysis of factors controlling soil organic matter levels in great plains grasslands. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 51:1173-1179, **1987**.

<sup>3</sup>Yeomans, J.C., Bremner, J.M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 19: 1467-1476, **1988**.

<sup>4</sup> Bremner, J. M. Nitrogen Total. In SPARKS, D. L. (Ed), *Methods of Soil Analysis: Part 3. America Society of Agronomy, Madson, SSA Book Series: 5*, **1996**, 1085-1121.

<sup>5</sup>Islam, K.R.; Weill, R.R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. *Biol. Fert. Soils*, 27: 408-416, **1998**.

<sup>6</sup> Sohi, S; Mahieu, N. Arah, J.R.M.; Powlson, D.S.P.; Madari, B.; Gaunt, J.L. A procedure for isolating soil organic matter fractions suitable for modeling. *Soil Sci. Am. J.*, 65:1121-1128, **2001**

<sup>7</sup> Leite, L.F.C.; Mendonça, E.S.; Machado, P.L.O.A.; Fernandes Filho, E.I.; Neves, J.C.L. Simulating trends in soil organic carbon of an Acrisol under no-tillage and disc-plow systems using Century model. *Geoderma*, 120: 283-295, **2004**.

<sup>8</sup>Leite, L.F.C; Mendonça, E.S.; Machado, P.L.O.A Simulação pelo modelo Century da dinâmica da matéria orgânica de um Argissolo sob adubação mineral e orgânica. *Rer. Bras. Ci. Solo*. 28: 347-358, **2004**.



## Níveis populacionais de bactérias diazotróficas endofíticas na presença de ácidos húmicos: um potencial para geração de inoculantes

Roberto Batista Marques Júnior<sup>1\*</sup> (PG), Luciano Pasqualoto Canellas<sup>1</sup> (PQ), Lúcia Gracinda da Silva<sup>2</sup> (PG), Erineudo Silva Canuto<sup>2</sup> (PG), Fábio Lopes Olivares<sup>2</sup> (PQ)

<sup>1</sup> Laboratório de Solos, <sup>2</sup> Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), Avenida Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ. Cep 28013-600. \*e-mail: robertob@uenf.br

Palavras Chave: crescimento bacteriano.

### Introdução

Os mecanismos de desenvolvimento limpo apregoam a necessidade de produzir com menor degradação ambiental possível. Com isso, tem ganhado ênfase as discussões em torno dos sistemas agrícolas e da importância da matéria orgânica e microrganismos do solo. Produtores agrícolas com poucos recursos (aproximadamente 1.4 bilhão pessoas) situado em ambientes de risco e marginais, permanecem dependentes da tecnologia agrícola moderna<sup>1</sup>. A necessidade urgente de lutar contra a pobreza rural, requer uma procura ativa de novos focos de pesquisa agrícola e estratégias de alocação dos recursos.

A maior parte do carbono nos compostos orgânicos da superfície terrestre encontra-se nas substâncias húmicas (SH)<sup>2</sup>. Além de fornecer nutrientes para as plantas através da mineralização, as SH podem também estimular diretamente o crescimento vegetal<sup>3</sup>. O nitrogênio (N) é o principal nutriente para o crescimento de planta. Embora plantas podem utilizar N em suas formas inorgânicas como  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ , N inorgânico responde por menos que 10% do N do solo<sup>4</sup>. O ciclo do N é um fator determinante na produção vegetal. Nesse contexto, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) através de microrganismos tem um papel central na busca de alternativas tecnológicas para a diminuição da pobreza rural.

Estudos sobre a FBN em gramíneas iniciaram-se na década de 1950<sup>5</sup>. Devido a capacidade de colonizar os tecidos internos da planta, as bactérias diazotróficas endofíticas são capazes de promover o crescimento vegetal, atuando sobre o metabolismo da planta induzindo, por exemplo, a produção de fitohormônios e outros metabólitos ou, ainda, nutrindo a planta com nitrogênio fixado<sup>6</sup>.

Embora as pesquisas envolvendo bactérias endofíticas estejam crescendo nos últimos anos no Brasil, muito pouco se conhece sobre a ação conjunta de bactérias diazotróficas endofíticas e SH sobre o crescimento e desenvolvimento vegetal. Com a inoculação de *Herbaspirillum* foi encontrada uma alteração no padrão de desenvolvimento do sistema radicular de cana-de-açúcar associado ao estímulo na atividade hidrolítica das bombas de  $\text{H}^+$

muito semelhante aos efeitos provocados pelos ácidos húmicos (AH)<sup>7,8</sup>.

O objetivo desse trabalho foi de verificar o efeito de ácidos húmicos sobre os níveis populacionais de *Herbaspirillum seropedicae* Z67 e sua atividade em meio líquido e em raízes de plântulas de milho.

### Material e Métodos

Para avaliar o crescimento populacional as bactérias diazotróficas endofíticas, obteve-se o inóculo a partir de crescimento bacteriano em meio NFb líquido<sup>9</sup>, completo com fonte de carbono e nitrogênio (2,5g ácido málico + 0,5g  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), sem fonte de carbono, e sem fonte de nitrogênio. Foram testadas ainda diferentes concentrações (0, 2, 20 e 200 mg  $\text{C L}^{-1}$ ) de ácidos húmicos extraídos de vermicomposto e de cambissolo conforme procedimento detalhado em<sup>10</sup>.

A população de bactérias diazotróficas nas raízes de plântulas de milho foi obtida do seguinte modo: após 4 dias da germinação das sementes de milho (*Zea mays* L., var. UENF 506/6), as plântulas foram transferidas para meio mínimo contendo apenas  $\text{CaCl}_2$  2 mmol  $\text{L}^{-1}$  suplementado com ácidos húmicos extraídos de vermicomposto, torta de filtro, cambissolo, latossolo e litossolo. A *Herbaspirillum seropedicae* estirpe Z67 (BR 11175) isolada de raiz de *Oryza sativa*, foi adicionada a solução em todos os tratamentos inclusive no tratamento controle. Após 7 dias em hidroponia, as plântulas de milho foram coletadas e realizou-se a contagem de bactérias das raízes através do Número Mais Provável pela consulta a tabela de McCrady<sup>9</sup> para 3 repetições por diluição. Os valores obtidos sofreram transformação logarítmica.

A atividade da nitrogenase das bactérias endofíticas foi avaliada pelo método de redução de acetileno como descrito por utilizando frascos de vidro (volume 12 ml) contendo 5 ml de meio JNFb semi-sólido<sup>11</sup> suplementado com ácido húmico em diferentes concentrações.



## Resultados e Discussão

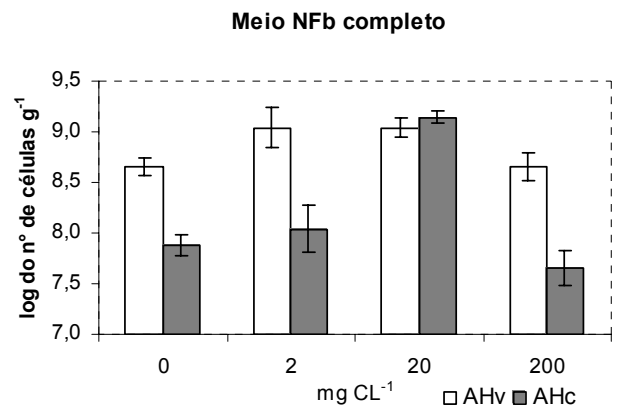
O crescimento de *Herbaspirillum seropedicae* estirpe Z67 foi fortemente estimulado na presença de AH isolado de vermicomposto e do Cambissolo (Figura 1). A concentração de 20 mg  $C_{AH}$  L<sup>-1</sup> foi a que promoveu o maior estímulo no crescimento bacteriano. Foi observado uma diferença no estímulo de crescimento em função do tipo de AH. Na maior concentração (200 mg  $C_{AH}$  L<sup>-1</sup>) os AH isolados do Cambissolo promoveram forte inibição em relação ao controle enquanto que os AH isolados do vermicomposto não apresentaram qualquer efeito. Portanto, sugere-se uma relação entre fontes e doses de AH no crescimento populacional de *H. seropedicae* Z67.

A bactéria avaliada não utiliza os AH como fonte de carbono, uma vez que, ao retirar esta fonte do meio de cultura, o crescimento se manteve semelhante ao controle, com exceção da maior concentração que foi inibitória (Figura 2). Contudo, ao retirar o N do meio de cultura, foi observado que na concentração de 2 mg  $C_{AH}$  L<sup>-1</sup>, o crescimento foi menor com o AH isolado de vermicomposto. Entretanto, houve incremento na mesma concentração de AH de cambissolo sugerindo mais uma vez a influência de diferentes doses e fontes de AH em relação aos níveis populacionais bacterianos. Nas doses mais altas no meio sem fonte de N, ocorre um estímulo na proliferação das bactérias com AHv enquanto o crescimento se apresenta reduzido na presença de AHc. Esse fenômeno é uma indicação da relação entre a estrutura do AH, a concentração e o efeito no metabolismo celular.

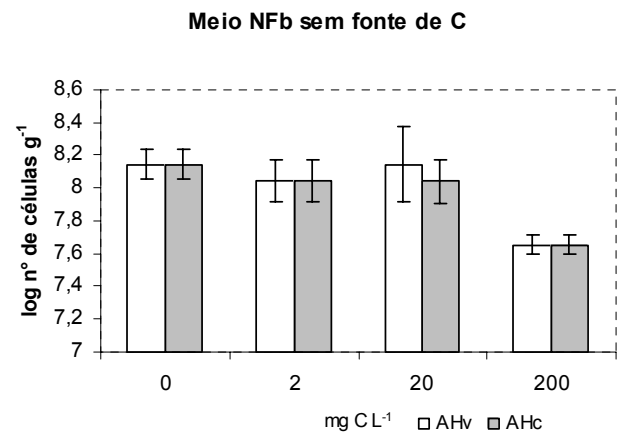
O uso de diferentes fontes de AH na concentração de 20 mg  $C_{AH}$  L<sup>-1</sup> aumentou o número mais provável de *H. seropedicae* Z67 em raízes de plântulas de milho (Figura 4). Os AH isolados de resíduos orgânicos (vermicomposto e torata de filtro) proporcionaram um incremento no crescimento bacteriano nos tecidos radiculares em cerca de 400% enquanto AH isolados de diferentes solos (Latosolo, Litossolo e Cambissolo) aumentaram em 200% o número de células nos tecidos das raízes (Figura 4).

A atividade da nitrogenase das bactérias diazotróficas endofíticas foi usada para avaliar a FBN na presença de AH. Verificou-se que as diferentes concentrações de AH promoveram o máximo de redução de acetileno com 72h (Tabela 1). Observou-se, ainda, que na maior concentração de AH (200 mg  $C_{AH}$  L<sup>-1</sup>) a atividade foi inibida em relação às outras concentrações. Após 72h de inoculação, a atividade de redução de acetileno foi reduzida em todas as concentrações até ficar nula as 120h de inoculação. No entanto, os AH isolados de vermicomposto na concentração de 20 mg C L<sup>-1</sup> houve uma prolongação do tempo de atividade de

redução do acetileno sendo possível detectar atividade após 120h de inoculação.

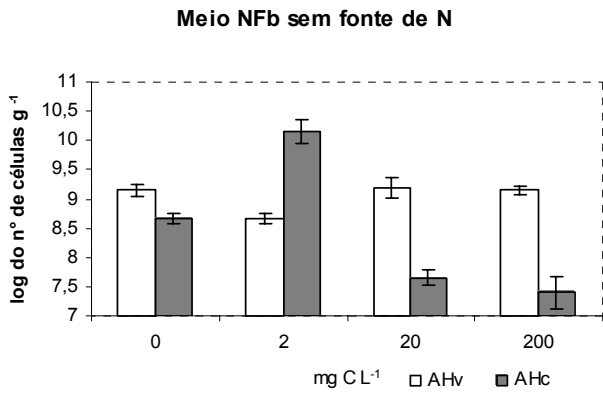


**Figura 1.** Número Mais Provável de *Herbaspirillum seropedicae* estirpe Z67 crescidas em meio líquido NFb completo por 36h na presença de ácidos húmicos extraídos de vermicomposto (AHv) e de cambissolo (AHc) em quatro concentrações: 0, 2, 20 e 200 mg C L<sup>-1</sup>.

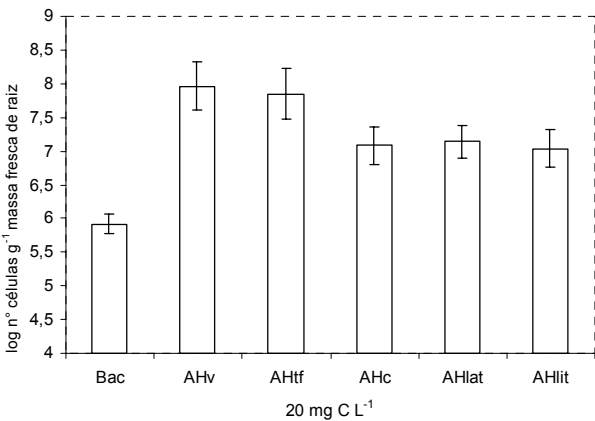


**Figura 2.** Número Mais Provável de *Herbaspirillum seropedicae* estirpe Z67 crescidas em meio líquido NFb sem fonte de carbono por 36h na presença de ácidos húmicos extraídos de vermicomposto (AHv) e de cambissolo (AHc) em quatro concentrações: 0, 2, 20 e 200 mg C L<sup>-1</sup>.

Nesse trabalho foi observado que o uso de AH em meio de cultura promove dentro de uma faixa de concentração estímulo no crescimento bacteriano. O uso em conjunto de AH + *H. seropedicae* em meio mínimo proporcionou um aumento significativo da colonização das plântulas de milho. Além disso foi observado que não há prejuízo da atividade da nitrogenase em fixar N na presença de AH. O conjunto desses dados indica que a inoculação conjunta de *H. seropedicae* e AH representa um potencial que precisa ser explorado para o desenvolvimento de tecnologias de inoculantes.



**Figura 3.** Número Mais Provável de *Herbaspirillum seropedicae* estirpe Z67 crescidas em meio líquido NFb sem fonte de nitrogênio por 36h na presença de ácidos húmicos extraídos de vermicomposto (AHv) e de cambissolo (AHc), em quatro concentrações: 0, 2, 20 e 200 mg C L<sup>-1</sup>.



**Figura 4.** Número Mais Provável de *Herbaspirillum seropedicae* estirpe Z67 em raízes de plântulas de milho crescidas por 7 dias em cultivo hidropônico com bactéria, e bactéria adicionada a diferentes fontes de ácidos húmicos: vermicomposto, torta de filtro, cambissolo, latossolo e litossolo.

**Tabela 1.** Efeito da dose de Ácido Húmico extraído de vermicomposto (AHv) sobre a atividade da nitrogenase de *Herbaspirillum seropedicae* Z67, avaliada pela atividade de redução de acetileno (ARA) em meio JNFb semi-sólido com diferentes doses de AH (0, 2, 20 e 200 mg.L<sup>-1</sup>) após 24, 48, 72, 96 e 120 horas de crescimento a 30°C.

Doses AHv (mg C.L <sup>-1</sup> )	ARA (nmol.C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> .mg proteína <sup>-1</sup> )* (mg C.L <sup>-1</sup> )				
	horas de crescimento				
	24h	48h	72h	96h	120h
0	0	30	65	42	0
2	0	64	62	43	0
20	0	23	60	45	43
200	0	45	36	0	0

\*média de três repetições

**Tabela 2.** Efeito da dose de Ácido Húmico extraído de Cambissolo (AHc) sobre a atividade da nitrogenase de *Herbaspirillum seropedicae* Z67, avaliada pela atividade de redução de acetileno (ARA) em meio JNFb semi-sólido com diferentes doses de AH (0, 2, 20 e 200 mg.L<sup>-1</sup>) após 24, 48, 72, 96 e 120 horas de crescimento a 30°C.

Doses AHc (mg C.L <sup>-1</sup> )	ARA (nmol.C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> .mg proteína)* (mg C.L <sup>-1</sup> )				
	horas de crescimento				
	24h	48h	72h	96h	120h
0	0	28	54	37	0
2	0	63	65	42	0
20	0	45	40	36	0
200	0	26	34	0	0

\*média de três repetições

### Conclusões

Os AH estimula o crescimento populacional *Herbaspirillum seropedicae* Z67 sem prejuízo para a atividade da nitrogenase. Os efeitos são dependentes da fonte de AH e da concentração utilizada.

### Agradecimentos

Este trabalho teve suporte financeiro do CNPq (471910/2003-1), FAPERJ E26/170.526/2004) e IFS (c-3391-1). Agradecimento especial a EMBRAPA Agrobiologia. Dr<sup>a</sup> Vera Lúcia Divan Baldani, Dr<sup>a</sup> Verônica Massena Reis, Dr. José Ivo Baldani e a MSc Liamara Perin, pela colaboração e sugestões.

- Altieri, M. Agriculture, Ecosystem and Environmt, 93: 1-24, 2002
- Hayes & Malcolm, Soil Sci. Soc. Am., 2001, 1: 3-39.
- Canellas, L.P.; Olivares, F. L.; Okorokova-Façanha, A. L. & Façanha A. R. Plant Physiology. 2002, 1951-1957.
- Stevenson, F.J. humus Chemistry, Wiley, 496p. 1994
- Döbereiner, J. & Ruschel, A. P. Ver. Biol., 1958, 1:261-272.
- Baldani, J.I.; de Azevedo, M.S.; Reis, V.M.; Teixeira, K.R.; Olivares, F.L.; Goi, S.R. & Döbereiner, J. Fixação biológica de nitrogênio em gramíneas: Avanços e aplicações. In: Inter-Relação Fertilidade, Biologia do Solo e Nutrição de Planta Siqueira, J.O. 1999, 621-666.
- Olivares, F.L.; Reis, V. M.; Façanha, A.R; Baldani, J. I.; Baldani, V. L. D.;Ferreira, F. P.; Batista, Q. R.; Barreto, B. Do R.; Silva, L.G.; Azevedo, I. G.; Brasil, F.C.; Rossiolo, R. O. P.; Miguens, F. C. & James, E. K. 13th International Congress on Nitrogen Fixation., 2001, 476-477.
- Façanha, A.R.; Façanha, A. L. O.; Olivares, F. L.; Guridi, F.; Santos, G. De A.; Velloso, A. C. X.; Rumjanek, V.M.; Brasil F.; Schripsema, J.; Braz-filho, R.; Oliveira, M. A. & Canellas, L. P. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2002, 37:1301-1310.
- Döbereiner, J.; Baldani, V.L.D.; Baldani, J.I. Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. Brasília: EMBRAPA-SPI: Itaguaí-RJ. EMBRAPA-CNPAB, p. 40, 1995
- Canellas, L.P.; Guridi, F.; Santos, G. De A.; Rumjanek, V.M. & Braz-Filho, R. Química Nova. 2001, 24:131-132.
- Baldani, V.L.D.; Baldani, J.I.; Olivares, F.L. e Döbereiner, J. Identification and ecology of *Herbaspirillum seropedicae* and the closely related *Pseudomonas rubrisubalbicans*. Symbiosis, v.13, p.65-73, 1992.

# Contribuição de compostos orgânicos para as propriedades físicas de um Latossolo Vermelho

Maria Helena Moraes<sup>1\*</sup> (PQ), Wolmar Aparecida Carvalho<sup>2</sup> (PQ), Bruno Garzim (PQ)<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Prof. Adjunto, Faculdade de Ciências Agronômicas-UNESP, C.P. 237, CEP 18603-970, Botucatu-SP, <sup>2</sup>Prof. Titular, Faculdade de Ciências Agronômicas-UNESP, <sup>3</sup>Engenheiro Agrônomo, Faculdade de Ciências Agronômicas-UNESP.

\*e-mail: mhmoraes@fca.unesp.br

Palavras Chave: Compostos orgânicos, propriedades físicas, LATOSSOLO VERMELHO

## Introdução

A incorporação da matéria orgânica aos solos, na forma de compostos orgânicos ou de esterco animal, proporciona a melhoria na estrutura, caracterizada pela diminuição da densidade do solo, aumento da taxa de infiltração de água, além de aumentar direta e indiretamente a capacidade do solo de armazenar água e, aumenta a capacidade de troca catiônica (Kiehl, 1985). Qualquer alteração significativa que ocorra na estrutura do solo, provocará mudanças nas relações solo-ar-água e, em consequência, na resposta do solo em termos de comportamento físico ao crescimento das plantas (Pedrotti et al., 2001). Em solos tropicais e subtropicais a matéria orgânica tem grande importância influenciando todas as propriedades do solo e constituindo componente fundamental da sua capacidade produtiva. A manutenção ou recuperação dos teores de matéria orgânica e da capacidade produtiva do solo pode ser alcançada pela adição de resíduos orgânicos, resultando, em menores taxas de perda e maiores taxas de adição de matéria orgânica ao sistema solo (Bayer & Mielniczuk, 1999). Nessa linha de pesquisa o trabalho objetivou avaliar o efeito da utilização de compostos orgânicos em algumas propriedades físicas do solo.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado em casa-de-vegetação, com amostras de um LATOSSOLO VERMELHO distrófico textura média, que foram coletadas no horizonte superficial, entre 0 e 0,20m, secas ao ar e peneiradas em malha de 2mm. Para a correção dos solos utilizou-se calcário dolomítico, para elevar a saturação por bases a 70%, e realizou-se adubação com P-K, previamente à semeadura do milho, e adubação nitrogenada, em cobertura de quinze em quinze dias. Os tratamentos que consistiram na utilização de 250g de diferentes compostos orgânicos, juntamente com a adubação mineral, foram empregados com quatro repetições, conforme segue: (1) testemunha (TE); (2) Cama de frango (50%) + farelo de soja (50%) (CF); (3) esterco (ES); (4) palhada de feijão (PF); (5) cama de frango + farelo de soja (CF); (6) pó-de-serra (PS). O

experimento foi conduzido por dois ciclos da cultura do milho. Após a colheita das plantas coletou-se amostras de solo para realização das análises físicas e químicas. As propriedades físicas do solo avaliadas foram o teor de argila dispersa em água, a densidade do solo, a densidade de partículas do solo, a porosidade total, a microporosidade e a capacidade de água disponível (EMBRAPA, 1979). Também avaliou-se o teor de matéria orgânica e a capacidade de troca catiônica do solo (Raij e Quaggio, 1983). As análises estatísticas foram feitas de acordo com Pimentel Gomes (2000).

## Resultados e Discussão

Os compostos orgânicos utilizados resultaram em diferentes valores de relação C/N e matéria orgânica (Tabela 1). O esterco apresentou maior relação C/N, ou seja, 34/1. O pó-de-serra e a cama de frango + farelo de soja, que possuíam relações C/N menores que o esterco, são compostos que já haviam atingido um estágio mais avançado de humificação. A palhada de feijão e o vermicomposto mostraram uma humificação mais intensa, com valores de relação C/N de 11/1 e 10/1, respectivamente.

**Tabela 1.** Resultados da análise química dos compostos utilizados no experimento.

Composto orgânico	MO g.kg <sup>-1</sup>	Relação C/N
Cama de frango + farelo de soja	436	19/1
Esterco	614	34/1
Palhada de feijão	438	11/1
Vermicomposto	275	10/1
Pó-de-serra	572	15/1

A adição dos diferentes compostos orgânicos ao solo resultou em diferenças significativas para algumas propriedades. O esterco, a palhada de feijão e o vermicomposto alteraram positivamente o teor de matéria orgânica do solo em relação à testemunha (Tabela 2), ou seja, houve um aumento de 50%, 75% e 46%, respectivamente. Os resultados obtidos para o esterco e a palhada de feijão podem ser atribuídos ao teor mais elevado de matéria orgânica que esses compostos

apresentavam em sua constituição, ou seja, 614 g kg<sup>-1</sup> para o esterco e 438 g kg<sup>-1</sup> para a palhada de feijão. Como para o vermicomposto o teor de matéria orgânica era o menor dentre os compostos utilizados, pode-se considerar que, além dessa contribuição, as raízes das plantas de milho também tenham contribuído para aumentar o teor de matéria orgânica do solo.

**Tabela 2.** Valores de matéria orgânica, capacidade de troca catiônica, densidade do solo e densidade de partículas do solo após a aplicação dos tratamentos.

Tratamento	Matéria Orgânica mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	CTC	Densidade do Solo kg dm <sup>-3</sup>	Densidade de Partículas
TE	28 c	76 b	1,44 a	2,42 a
CF	36 bc	95 a	1,32 d	2,46 a
ES	42 ab	88 a	1,41 b	2,44 a
PF	49 a	94 a	1,36 c	2,44 a
VE	41 ab	84 ab	1,27 e	2,44 a
PS	33 bc	83 ab	1,33 d	2,39 a
CV (%)	13,60	8,93	4,70	3,06
dms	11,64	17,64	0,02	1,17

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

Para a capacidade de troca catiônica (Tabela 2) alguns compostos também mostraram diferença significativa em relação à testemunha. A cama de frango + farelo de soja promoveu aumento de 25%, a palhada de feijão de 24% e o esterco de 16%. O aumento observado para a palhada de feijão e para o esterco está de acordo com os maiores teores de matéria orgânica encontrados para esses tratamentos.

Para a densidade do solo todos os compostos orgânicos adicionados resultaram em diferenças significativas (Tabela 2). Houve redução nos valores de densidade do solo de 12%, 8%, 8%, 6% e 2% para os compostos vermicomposto, cama de frango + farelo de soja, pó-de-serra, palhada de feijão e esterco, respectivamente. Esse resultado reflete não só a contribuição em matéria orgânica para o solo como também a da atividade das raízes das plantas de milho. Com exceção do esterco os compostos orgânicos também alteraram positivamente os valores de porosidade total, ou seja, houve aumento nos valores de 21% para a cama de frango + farelo de soja, 23% para o vermicomposto e de 13% para a palhada de feijão e o pó-de-serra (Tabela 3). Como para a microporosidade (Tabela 3) não houve diferença significativa entre os tratamentos, pode-se inferir que a influência positiva da adição dos compostos orgânicos está relacionada com o efeito na macroporosidade do solo.

A argila dispersa em água (Tabela 3) também mostrou diferenças significativas para o esterco, a

palhada de feijão e o pó-de-serra em relação à testemunha. Para o esterco e a palhada de feijão houve aumento de 29% nos valores, enquanto que para o pó-de-serra obteve-se uma redução de 43%. Embora o esterco e a palhada de feijão tenham contribuído para o aumento do teor de matéria orgânica do solo, o aumento também observado para a capacidade de troca catiônica pode ter favorecido a dispersão das partículas de argila.

**Tabela 3.** Valores de porosidade total, microporosidade, água disponível e argila dispersa do solo após a aplicação dos tratamentos.

Tratamento	Porosidade Total	Micro-porosidade	Água Disponível	Argila Dispersa
	dm <sup>3</sup> dm <sup>-3</sup>			g kg <sup>-1</sup>
TE	0,39 c	0,25 a	0,08 a	7 ab
CF	0,47 ab	0,27 a	0,08 a	7 ab
ES	0,43 bc	0,25 a	0,09 a	9 a
PF	0,44 ab	0,29 a	0,10 a	9 a
VE	0,48 a	0,25 a	0,09 a	7 ab
PS	0,44 ab	0,26 a	0,09 a	4 b
CV (%)	4,09	10,60	10,60	18,67
Dms	0,04	0,06	2,11	4,62

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

Já a redução nos valores, verificada para o pó-de-serra, pode estar relacionada aos maiores teores de matéria orgânica que esse composto apresentava em sua constituição. A adição dos compostos orgânicos não resultou em diferenças significativas para a densidade de partículas do solo (Tabela 2) e para a água disponível do solo (Tabela 3).

## Conclusão

A adição de compostos orgânicos contribuiu para algumas propriedades do LATOSSOLO VERMELHO distrófico textura média, com aumento no teor de matéria orgânica (esterco, palhada de feijão e vermicomposto), na capacidade de troca catiônica (cama de frango + farelo de soja, esterco e palhada de feijão) e na porosidade total (cama de frango + farelo de soja, vermicomposto, palhada de feijão e pó-de-serra) e com diminuição na densidade do solo (esterco, palhada de feijão, vermicomposto, cama de frango + farelo de soja e pó-de-serra) e na argila dispersa em água (pó-de-serra).

- Bayer, C.; Mielniczuk, J. In: Santos, G.A.; Camargo, F.A.O. (eds.) 1999, p.9-26.  
 Kiehl, J. E. 1979, 264p.  
 Pimentel Gomes, F. 2000, 477p.  
 Pedrotti, A.; Pauletto, E.A.; Crestana, S.; Ferreira, M.M.; Dias Junior, M.S.; Gomes, A.S.; Turatti, A.L. R. bras. Ci. Solo, 2001, v.25, p. 521-529.  
 Rajj, B. van; Quaggio, J.A. 1983, 31p.



## Atividade de proteases, amilases e arilsulfatases e teores de enxofre em solos tratados com bio sólidos no Estado de São Paulo

Leyser Rodrigues Oliveira<sup>1\*</sup> (PG), Liziane de Figueiredo Brito<sup>1</sup> (PG), Valéria Peruca de Melo<sup>1</sup> (PG), Gabriel Maurício Peruca de Melo<sup>1</sup> (PQ), Wanderley José de Melo<sup>1</sup> (PQ)

1. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP. \*e-mail: leyser@fcav.unesp.br

Palavras Chave: enxofre, enzimas, bio sólidos.

### Introdução

Com o crescente aumento da população humana, houve considerável crescimento na produção de resíduos nos centros urbanos e no meio rural em função do aumento da produção e da intensidade do processo de industrialização. Tal fato tem gerado incremento nos níveis de contaminantes, especialmente no solo.

Entretanto, apesar de já existirem grandes áreas contaminadas no mundo, parte destes resíduos, como os lodos de esgoto ou bio sólidos, podem ter aplicações na agricultura, desde que se conheçam suas propriedades e se possa estimar qual será seu comportamento no solo. Conforme Melfi & Montes (2002) relatam, os trabalhos acerca da utilização do bio sólido em práticas agrícolas, têm demonstrado afetar positivamente o desenvolvimento das plantas, ainda que alterando suas propriedades físicas, químicas, físico-químicas e biológicas pela adição de uma série de substâncias. Dentre essas alterações, destacam-se a atividade das enzimas protease, amilase arilsulfatases e os teores de enxofre. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da adição de doses crescentes de bio sólidos sobre a atividade de proteases, amilases e arilsulfatases, bem como as correlações desta última com os teores de S-total, em dois latossolos paulistas cultivados com girassol.

O estudo foi conduzido na área experimental da Fazenda de Ensino e Pesquisa da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Campus de Jaboticabal, SP. O experimento foi instalado em novembro de 1997, em dois solos, um Latossolo Vermelho eutroférico - LVe e um Latossolo Vermelho distrófico - LVd, ambos cultivados com milho por sete anos e com girassol no oitavo ano.

O experimento foi instalado em parcelas com 60 m<sup>2</sup> (6 x 10 m), sendo que o delineamento experimental foi blocos casualizados com 4 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos inicialmente utilizados foram: T1= testemunha, sem fertilização; T2= 2,5 t ha<sup>-1</sup> bio sólidos, base seca; T3= 5 t ha<sup>-1</sup> bio sólidos, base seca; T4= 10 t ha<sup>-1</sup> bio sólidos, base seca.

A dose 5 t ha<sup>-1</sup> foi estabelecida para fornecer todo o nitrogênio exigido pela cultura (Raij et al., 1996), admitindo-se que 1/3 do nitrogênio contido nos bio sólidos é disponível para as plantas durante o primeiro ano. A partir do segundo ano de experimentação optou-se por adubar o tratamento testemunha de acordo com a análise de fertilidade do solo e as indicações contidas no Boletim 100 (Raij et al., 1996). A partir de 2000, com base nos resultados até então obtidos, optou-se por transformar a dose do tratamento T2 de 2,5 para 20 t ha<sup>-1</sup>, base seca, na tentativa de provocar fitotoxicidade para as plantas de milho. O delineamento experimental e os tratamentos usados no presente estudo, realizado no ano agrícola 2003/04, foram os mesmos adotados a partir do ano agrícola 2000/2001, porém a planta estudada passou a ser o girassol.

Os tratamentos com bio sólidos receberam fertilização mineral com K como complemento aos teores contidos no bio sólido, sempre de acordo com os níveis desses nutrientes indicados por Raij et al. (1996). Para este cálculo, considerou-se que todo o P e K contidos nos bio sólidos estavam disponíveis para a cultura do girassol.

As amostras de terra foram retiradas aos 60 dias após o início da emergência das plântulas (diagnose foliar), coletando-se 10 amostras simples por parcela, sendo 5 na linha e 5 na entrelinha. As amostras simples foram reunidas e homogeneizadas para constituir a amostra composta representativa da parcela, coletadas na profundidade 0-0,20 m para avaliação da atividade de proteases, amilases, arilsulfatases e os teores de S-total. Após secagem das amostras ao ar, estas foram passadas em peneira com 2 mm de abertura de malha, obtendo-se a TFSA.

A atividade de proteases nas amostras de terra foi determinada empregando-se a metodologia proposta por Alef & Nannipieri (1995). O método consiste em incubar amostras de terra na presença de um substrato natural, a caseína. O papel da protease é promover a hidrólise da caseína com liberação de aminoácidos, entre eles a tirosina, que pode ser estimada pela reação com reagente de Folin com formação de um complexo azul, cuja concentração indica a atividade proteolítica.

A atividade de amilases no solo foi determinada mediante emprego da metodologia proposta por Ross (1965) e adaptada por Melo et al. (1983). O método consiste em incubar amostras de terra com amido, em presença de tolueno, que funciona como inibidor do crescimento de microrganismos, quantificando, posteriormente, a quantidade de açúcares redutores no meio.

A atividade da enzima arilsulfatases do solo foi determinada mediante emprego da metodologia proposta por Tabatabai & Bremner (1970). A metodologia consiste em incubar amostras de terra com o substrato p-nitrofenil sulfato de potássio, em presença de tolueno. Após a incubação estima-se colorimetricamente o p-nitrofenol liberado devido à ação da enzima.

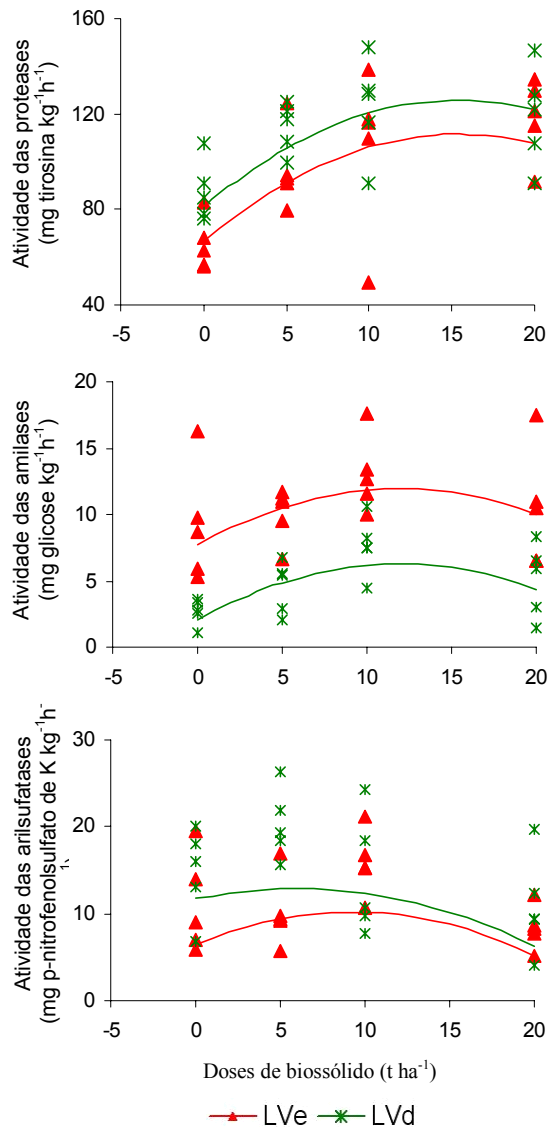
Os teores de S-total foram determinados pelo método USEPA 3050-B modificado, o qual consistiu na pesagem de 1 g de solo, adição de 10 ml de  $\text{HNO}_3$  1:1, 5 ml de  $\text{HNO}_3$  (conc.) e 10 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , completando-se o volume final para 50 ml com água desionizada. Posteriormente, retiraram-se 5 ml da amostra, adicionando-se 5 ml de água desionizada e 1 ml de uma solução à base de HCl e  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , levando essa solução final para leitura em espectrofotômetro (controle). Esse último procedimento foi repetido, adicionando-se 1 pitada de  $\text{BaCl}_2$ , para que a diferença nas leituras indicasse o teor de S-total presente nas amostras.

Os dados obtidos foram tabulados, calculados, submetidos à análises estatísticas com o auxílio do software de estatística SAS (*Statistical Analysis Systems*). Foram ajustadas equações de regressão entre os valores das atividades de proteases, amilases e arilsulfatases com as doses de biossólidos e entre os teores de S-total com as atividades das arilsulfatases.

## Resultados e Discussão

A Figura 1 mostra o efeito da aplicação de doses crescentes de biossólidos sobre a atividade de proteases, amilases e arilsulfatases nos dois solos estudados.

No LVd, a atividade de proteases e de arilsulfatases foi superior ao LVe, ao passo que, nesse último, a atividade de amilases foi superior em relação ao LVd. Trabalhos conduzidos por Mendes et al. (1999) e Conte et al. (2002) relatam que a atividade enzimática pode estar ligada à fertilidade natural do solo, fato este que pode explicar essa diferença no comportamento das enzimas nos dois solos estudados.



**Figura 1.** Curvas de regressão obtidas entre os valores das atividades de proteases ( $\text{mg}$  tirosina  $\text{kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ ), amilases ( $\text{mg}$  glicose  $\text{kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ ) e arilsulfatases ( $\text{mg}$  p-nitrofenol  $\text{kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ ) e doses de biossólidos ( $\text{t ha}^{-1}$ ) para os latossolos estudados (LVe - Latossolo Vermelho eutroférrico e LVd - Latossolo Vermelho distrófico).

Entretanto, Silva & Melo (2004) observaram que a aplicação de fertilizante orgânico causou aumento na atividade de proteases, principalmente na camada 0–0,10 m. Esses diferentes resultados denotam que existem comportamentos distintos para cada enzima em função do solo e de sua respectiva fertilidade, seja esta natural ou promovida pela ação antropogênica. Independentemente do solo, observou-se, neste experimento, tendência de aumento na atividade enzimática com o aumento da dose de biossólidos, o que corrobora com os resultados de outros autores (Albiach et al. 2000; Balota et al., 2004).

O efeito da aplicação das doses crescentes de biossólidos para a atividade de proteases e amilases foi o mesmo para ambos os solos estudados. Analogamente aos trabalhos de



Crecchio et al. (2004), verificou-se que o aumento da atividade de proteases e amilases declinou após o uso de doses acima de 15 t ha<sup>-1</sup> para ambos solos, podendo isto ser atribuído ao efeito tóxico dos elementos-traço presentes nos biossólidos utilizados, reduzindo a atividade microbiana, apesar da maior adição de matéria orgânica. Kunito et al. (2001) relatam um aumento da atividade de proteases com a adição de lodo de esgoto ou composto, sugerindo que a aplicação de lodo de esgoto e composto seja um tratamento efetivo como fonte de matéria orgânica e nutrientes inorgânicos.

No Quadro 1 estão apresentadas as equações de regressão ajustadas entre os valores da atividade de proteases, amilases e arilsulfatases e as doses de biossólidos nos dois solos latossolos estudados e o valor de R<sup>2</sup> conjunto para cada enzima estudada. Em todos os casos, observa-se que houve correlações significativas. Pansomban et al. (1997) também reportaram correlações significativas entre a atividade de proteases e a atividade microbiana do solo, assim como os trabalhos de Balota (2004), ao medir a atividade de amilases e de Li & Sarah (2003), trabalhando com a enzima arilsulfatases.

**Quadro 1.** Equações de regressão entre os valores das atividades de proteases, amilases e arilsulfatases e doses de biossólidos para os latossolos estudados (LVe - Latossolo Vermelho eutroférico e LVd - Latossolo Vermelho distrófico).

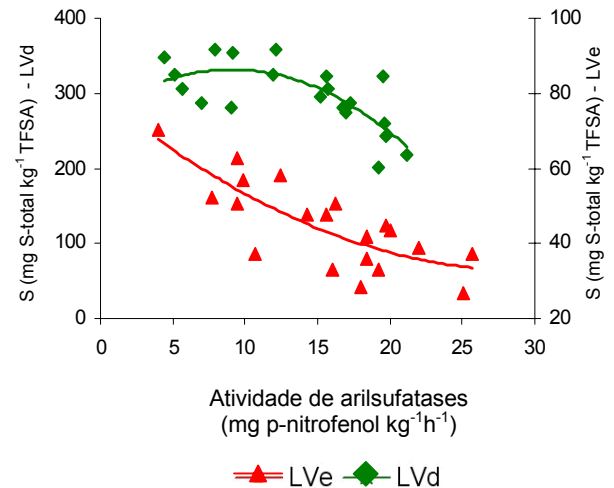
Enzima	Solo	Equação	R <sup>2</sup>
Proteases	LVe	$Y = 66,7578 + 5,8259 x - 0,1897 x^2$	0,56
	LVd	$Y = (66,7528 + 14,3004) + 5,8259 x - 0,1897 x^2$	
Amilases	LVe	$Y = 7,7488 + 0,6936 x - 0,0290 x^2$	0,68
	LVd	$Y = (7,7488 - 5,6536) + 0,6936 x - 0,0290 x^2$	
Arilsulfatases	LVe	$Y = 6,5008 + 0,8016 x - 0,0433 x^2$	0,49
	LVd	$Y = (6,5008 + 5,9110) + 0,3929 x - 0,0330 x^2$	

Para as arilsulfatases, a maior atividade foi observada entre 5 e 7 t ha<sup>-1</sup> de biossólidos, declinando para doses maiores, notadamente no LVd. Entretanto, conforme dados contidos no Quadro 1, nesta análise deve-se levar em conta o valor de R<sup>2</sup> significativamente mais baixo que os valores encontrados para amilases e proteases.

Nos resultados obtidos por Kunito et al. (2001) e Marschner et al. (2003) também foram observados, para a atividade de arilsulfatases, efeito positivo da aplicação de lodo de esgoto sobre a ação destas enzimas, bem como sua susceptibilidade ao efeito tóxico dos elementos-traço em doses elevadas. Albiach et al. (2000), entretanto, não verificaram

acréscimo na atividade de arilsulfatases em relação ao controle com o uso de lodo de esgoto. Ademais, Baligar et al., (1988) citados por Nogueira & Melo (2003), sugeriram que a qualidade da matéria orgânica e o tipo de solo podem apresentar efeitos significativos sobre a atividade de arilsulfatases.

Na Figura 2 são apresentadas as curvas de regressão entre os teores de S-total e a atividade de arilsulfatases nos dois solos estudados.



**Figura 2.** Curvas de regressão obtidas entre os teores S (mg S-total kg<sup>-1</sup> TFSA) e a atividade de arilsulfatases (mg p-nitrofenol kg<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>) para os latossolos estudados (LVe - Latossolo Vermelho eutroférico e LVd - Latossolo Vermelho distrófico).

No LVd, como pode-se observar na Figura 2, os teores de S-total foram superiores aos encontrados no LVe. Assim como os trabalhos de Pinto (2000) e Gupta (1993) reportam, houve correlações positivas e significativas entre os teores de S e a atividade de arilsulfatases, conforme ilustra o Quadro 2.

Conforme Brito (1999) afirma, as boas correlações entre o S-total e a atividade das arilsulfatases advêm da responsabilidade destas últimas pela transformação das formas orgânicas de enxofre em formas inorgânicas, disponíveis para as plantas, que o absorve principalmente na forma de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.

**Quadro 2.** Equações de regressão entre os teores de S-total e a atividade de arilsulfatases para os latossolos estudados (LVe - Latossolo Vermelho eutroférico e LVd - Latossolo Vermelho distrófico).

Solo	Equação	R <sup>2</sup>
LVe	$y = 0,0536x^2 - 3,1649x + 79,459$	0,62
LVd	$y = -0,7057x^2 + 12,827x + 273,45$	0,54

Outros fatores como o tipo de solo, intensidade da exploração agrícola, precipitação pluvial, temperatura, adubação, manejo dos restos culturais e fertilizantes utilizados são apontados por Nogueira e Melo (2003) como determinantes dos teores de enxofre em solos.

## Conclusões

1. De maneira geral, as doses crescentes de biossólidos promoveram aumento da atividade enzimática do solo;
2. As atividades de proteases, amilases e arilsulfatases foram sensíveis às alterações do meio, causadas pela toxicidade promovida pelos elementos-traço presentes nos biossólidos, sobretudo nas doses mais elevadas.
3. O LVd apresentou maiores teores de S-total que o LVe e correlações positivas e significativas com atividade de arilsulfatases.

## Agradecimentos

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) e à SABESP (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro.

<sup>1</sup> Albiach, R.; Canet, R.; Pomares, F. et al. Microbial biomass content and enzymatic activities after the application of organic amendments to a horticultural soil. *Bioresource Technology*, v.75, n. 1, **2000**. p.43-48.

<sup>2</sup> Alef, K. & Nannipieri, P. Protease activity. In: Alef, K.; Nannipieri, P. (ed.). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. New York: Academic Lenic Press, **1995**. p 313 - 315.

<sup>3</sup> Balota, E.L.; Kanashiro, M.; Colozzi Filho, A. et al. Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agro-ecosystems. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 35, **2004**. p. 300-306.

<sup>4</sup> Brito, O.R. Efeitos da manipueira nas atividades química, biológica e bioquímica do solo e em plantas de milho. Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, 125 p. **1999**. Tese (Doutorado em Agronomia).

<sup>5</sup> Conte, E.; Anghinoni, I.; Rheinheimer, D.S. Fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatase ácida após aplicação de fosfato em solo no sistema plantio direto. *R. Bras. Ci. Solo*, v. 26, **2002**. p. 925-930.

<sup>6</sup> Crecchio, C.; Curci, M.; Pizzigallo, M.D.R. et al. Effects of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial

genetic diversity. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 36, n. 10, **2004**. p. 1595-1605.

<sup>7</sup> Gupta, V.V.S.R.; Farrel, E.R.; Germida, J.J. Activity of arylsulfatase in Saskatchewan soils. *Can. J. Soil Sci.*, v. 73, **1993**. p. 341-347.

<sup>8</sup> Kunito, T.; Saeki, K.; Goto, S. et al. Copper and zinc fractions affecting microorganisms in long-term sludge-amended soils. *Bioresource Technology*, n. 2, **2001**. p. 135-146.

<sup>9</sup> Li, X.; Sarah, P. Arylsulfatase activity of soil microbial biomass along a Mediterranean-arid transect. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 35, n. 7, **2003**. p. 925-934.

<sup>10</sup> Marschner, P.; Kandeler, E.; Marschner, B. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, v.35, n. 3, **2003**. p. 453-461.

<sup>11</sup> Melfi, A.J. & Montes, C.R. Impacto dos biossólidos sobre o solo. In: Tsutiya, M.T.; Comparini, J.B.; Alem Sobrinho, P. et al. (ed.). *Biossólidos na agricultura*. 2.ed. São Paulo: ABES/SP, **2002**. p.243-272.

<sup>12</sup> Melo, W.J.; Marques, M.O.; Ferreira, M.E. et al. Chemical properties and enzyme activity in a sewage sludge-treated soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 33, n. 9, **2002**. p. 1643-1659.

<sup>13</sup> Melo, W.J.; Pizauro, J.M.; Sartori, J.L. et al. Amilase em solos do município de Jaboticabal (SP). *Rev. Bras. Ci. Solo*, Campinas, v.7, n. 2, **1983**. p. 213-215.

<sup>14</sup> Mendes, I.C.; Carneiro, R.G.; Carvalho, A.M. et al. Biomassa C e atividade microbiana em solos de Cerrado sob plantio direto e plantio convencional. *EMBRAPA Cerrados: Planaltina*, **1999**. 5p. (EMBRAPA Cerrados, Pesquisa em Andamento, 5)

<sup>15</sup> Nogueira, M. A. & Melo, W. J. Enxofre disponível para a soja e atividade de arilsulfatases em solo tratado com gesso agrícola. *Rev. Bras. Ci. Solo*, v. 27, n. 4, **2003**. p.655-663.

<sup>16</sup> Pansomban, T.K.; Kanazawa, S.; Horiguchi, T. Microbial ecology in tea soils. II Soil Protease Activity. *Soil Sci. Plant Nutr.*, v. 43, n. 2, **1997**. p.431 - 438.

<sup>17</sup> Pinto, C.R.O. Características e atividade da população microbiana dependente de enxofre em diferentes solos. Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, 72 p. **2000**. Dissertação (Mestrado em Agronomia)

<sup>18</sup> Rajj, B. van.; Cantarella, H.; Quaggio, J.A.; et al. Recomendação de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Campinas: Instituto Agronômico, 2 ed., **1996**. p. 56- 59 (Boletim Técnico 100).

<sup>19</sup> Ross, D.J. A seasonal study of oxygen uptake ok some pasture soils and actives of enzymes hydrolysing sucrose and starch. *J. Soil Sci.*, v. 16, **1965**. p. 73 -85.

<sup>20</sup> Tabatabai, M.A., Bremner, J.M. Arilsuphatase activity activity of soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, n. 34, **1970**. p. 225-229.

## Taxas fotossintéticas e crescimento de dois clones de *Theobroma cacao* L. com resistência diferencial à *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer submetidos a diferentes concentrações de Turfa Líquida®

Rafaela de Oliveira Paneto<sup>1</sup>(IC)\*, Daniele Ferraço Caliman<sup>1</sup>(IC), Marco Antonio Galeas Aguiar<sup>2,3,4</sup> (PQ), Fabrício Borghi Folli<sup>5</sup> (FM), Carlos Alberto Spaggiari Souza<sup>2</sup>(PQ), Sabrina Sonegheti<sup>6</sup> (PG)

1. Graduanda de Ciências Biológicas; Unilinhares; Linhares – ES.

2. Eng. Agrônomo, Dr., Pesquisador CEPEC/CEPLAC – Estação Experimental Filogônio Peixoto/ESFIP, Linhares – ES

3. Eng. Agrônomo, Dr., Professor Colaborador do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo/UFES, Vitória – ES

4. Eng. Agrônomo, Dr., Professor do Curso de Ciências Biológicas, Unilinhares, Linhares – ES

5. Biólogo, egresso da Unilinhares; Linhares – ES

6. Bióloga, Mestranda do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo/UFES, Vitória – ES

\*e-mail: rafapaneto@superig.com.br

Palavras Chave: Taxas Fotossintéticas, Crescimento e Substâncias Húmicas.

### Introdução

A disseminação da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer) na região sul da Bahia e mais recentemente no Norte do Espírito Santo, estimulou a adoção de novas estratégias para manutenção da viabilidade econômica da cacauicultura, entre elas, a substituição dos cacauzeiros susceptíveis, propagadas via seminal, por plantas tolerantes, propagadas vegetativamente. Dentre as técnicas de propagação, a estaquia vem sendo utilizada com sucesso em diversas espécies (Sacramento et al., 2001).

Para a formação de mudas clonais em larga escala é comum a utilização de auxinas sintéticas, como o ácido indolbutírico (AIB). No entanto, as auxinas sintéticas são produtos que apresentam alto custo, ao contrário das substâncias húmicas, que são baratas, não poluentes e além disso, apresentam ação sobre as plantas semelhantes às auxinas sintéticas (Petrovic et al., 1982).

Do ponto de vista químico, as substâncias húmicas são constituídas principalmente por ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e húminas, além de apresentar composição semelhante à matéria orgânica do solo, sendo composta por lignina, celulose, hemicelulose, e em menor quantidade, proteínas, açúcares, pentosanas, pectinas, taninos e substâncias betuminosas (Hayes et al., 1989).

Segundo Brun (1993), os ácidos húmicos e fúlvicos apresentam concentrações e composição diferentes nas matérias-primas orgânicas, os quais podem influenciar a absorção de nutrientes com conseqüente efeito sobre o desenvolvimento, crescimento e controle de doenças nas plantas. Efeitos relacionados com aumentos nas atividades de ATPases dependentes de potássio e magnésio, da fosforilase, da fosfatase e das

citocromo oxidase, assim como inibição da AIA oxidase, fitase e peroxidase (Maggioni et al., 1987), além de alterações na permeabilidade das membranas (Samsom & Visser, 1989), também são atribuídos a essas substâncias.

O efeito inibitório sobre a AIA oxidase pode influenciar ou mesmo ter um efeito direto sobre o enraizamento de estacas de diversas espécies (Petrovic et al, 1982), visto que as substâncias húmicas apresentam ação semelhante às auxinas (Silva, et al., 1999).

Este trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações de Turfa Líquida® sobre as taxas fotossintéticas e o crescimento de dois clones de cacau.

Foram instalados dois experimentos na Estação Experimental Filogônio Peixoto (ESFIP), do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC) da CEPLAC, Linhares – ES, em condições de viveiro, no período de 10 de janeiro a 02 de junho de 2005.

Para a avaliação do crescimento as estacas foram preparadas com aproximadamente 15 cm de comprimento, mantendo-se 3 folhas com 1/3 do limbo foliar. De acordo com o tratamento empregado, as estacas tiveram suas bases tratadas com ácido indolbutírico (AIB) na concentração de 6.000 mg kg<sup>-1</sup> aplicado em mistura com talco, ou foram submetidas à imersão das bases por três horas em baldes contendo solução de Turfa Líquida® 3%. Posteriormente, as estacas foram plantadas em tubetes de polipropileno contendo substrato artificial Plantmax®, enriquecido com 300 g de Osmocot® e 600 g de PGMix® para cada 150 L da mistura. Os tubetes de 288 cm<sup>3</sup> foram colocados em bandejas, sendo estas transferidas para viveiro com sistema automatizado de nebulização, luminosidade de 50% e equipado com microaspersores em regime de 30 segundos de aspersão a cada 5 minutos durante os 30 dias

iniciais. Posteriormente, em regime de 30 segundos de aspersão a cada 10 minutos e, finalmente, em regime de 30 segundos a cada 30 minutos.

As mudas foram irrigadas semanalmente com Turfa líquida® 1%, sendo que cada bandeja com 54 tubetes recebeu 2,5 L da solução de Turfa líquida® em cada aplicação do produto. Ao final do experimento foram realizadas nove aplicações de Turfa líquida® 1%.

Aos 85 dias de idade das mudas, foram avaliadas a área foliar e o número de folhas que estavam dispostas em delineamento experimental de blocos casualizados, com 4 repetições e 24 plantas por parcela em arranjo fatorial de 2x2, com 2 clones de cacau (TSH 1188 e TSH 565) e 2 tratamentos (AIB e Turfa líquida®). O TSH 1188 é um dos clones que tem apresentado maior resistência à vassoura-de-bruxa em diversos ambientes, enquanto que o clone TSH 565, embora apresente elevada produtividade, tem apresentado menor nível de resistência em várias localidades.

Quando as mudas atingiram 85 dias de idade, essas foram transferidas para sacolas de polietileno com 28 x 15 cm sendo o substrato formado por duas partes de terriço de mata e uma parte de areia e organizadas em delineamento experimental de blocos casualizados em arranjo fatorial 2 x 7, constituído de 2 clones de cacau (TSH 1188 e TSH 565) e 7 doses de Turfa líquida® (0%; 0,5%; 1,0%; 1,5%; 3,0%; 6,0%; 12,0%), 10 plantas por parcela e quatro repetições.

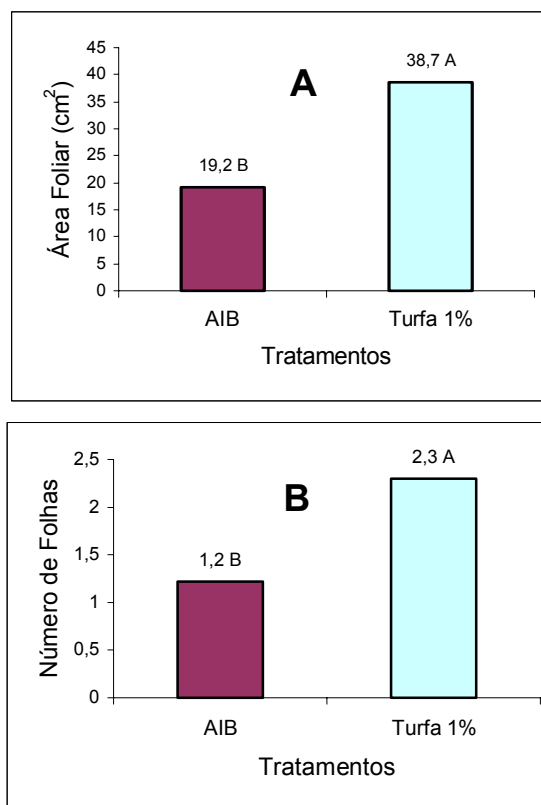
As mudas foram irrigadas quinzenalmente com as diferentes concentrações de Turfa líquida®, sendo que cada parcela recebeu 1,7 L da solução de Turfa líquida® em cada aplicação.

Com 130 dias de idade das mudas, as taxas fotossintéticas foram avaliadas com um medidor portátil de fotossíntese LI – COR, modelo LI – 6400, em irradiância de 600  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, de regressão, e a teste de médias (Tukey, 5%).

## Resultados e Discussão

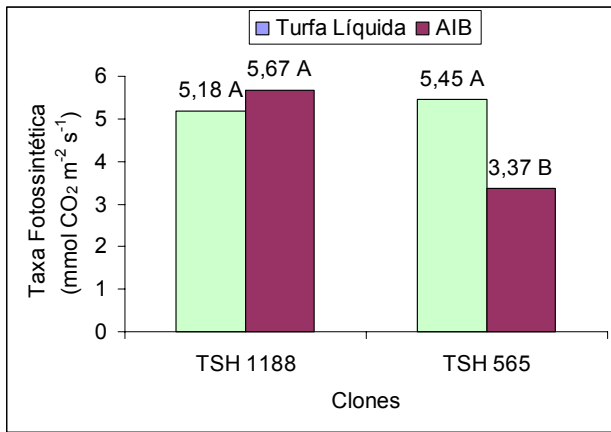
Independente do clone utilizado, a área foliar e o número de folhas foram significativamente maiores nas mudas tratadas com Turfa líquida® que nas tratadas com AIB (Figura 1). Nas mudas irrigadas com Turfa líquida® o aumento da área foliar foi de 102%, enquanto que o número de folhas aumentou 89%.



**Figura 1.** Área foliar (A) e número de folhas (B) das mudas de cacau em função dos tratamentos com AIB e Turfa líquida®. Colunas seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

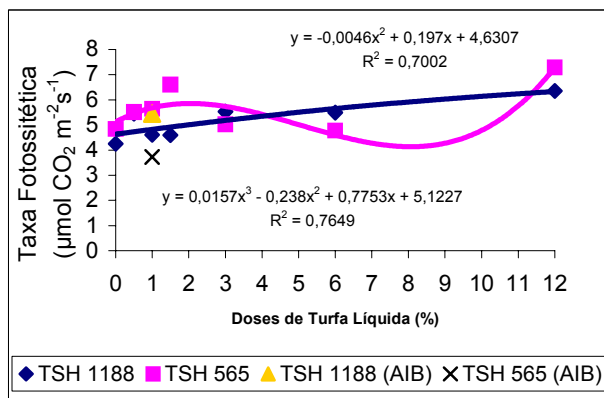
A semelhança do observado neste trabalho, em cevada também foi verificado que a adição de substâncias húmicas promove aumento não só no crescimento da parte aérea, mas também do sistema radicular (Ayuso, 1996). Segundo Silva et al. (1995), esses aumentos podem estar relacionados com elevações da taxa respiratória, que também resultam em aumentos na produção de ATP e conseqüentemente na absorção de nutrientes.

Para o clone TSH 1188, verificou-se que não houve diferenças entre as taxas fotossintéticas das plantas tratadas com Turfa líquida® e AIB. Porém, para o clone TSH 565 observou-se que nas plantas tratadas com Turfa líquida® houve um aumento médio da taxa fotossintética de 52%, quando comparado com as plantas tratadas com AIB (Figura 2).



**Figura 2.** Taxas fotossintéticas dos clones de cacau em função do tratamento com Turfa líquida® ou AIB. Colunas seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Em ambos clones observaram-se aumento das taxas fotossintéticas com a adição das doses de Turfa líquida®, contudo o comportamento foi diferente para cada clone. Para o clone TSH 1188 observou-se aumento quadrático das taxas fotossintéticas com o aumento das doses de Turfa líquida®. Já para o clone TSH 565 observou-se aumento até a dose de 1,5% de Turfa líquida® com subsequente decréscimo até a dose de 6%. A partir dessa dose observou-se novo aumento das taxas fotossintéticas (Figura 3).



**Figura 3.** Taxas fotossintéticas de dois clones de cacau em função de diferentes doses de Turfa líquida®.

## Conclusões

A Turfa líquida® promove maior crescimento da área foliar e do número de folhas que o AIB em mudas formadas em tubetes;

As doses de Turfa líquida® utilizadas promovem maiores taxas fotossintéticas no clone TSH 565.

## Agradecimentos

A J.R. Faria Fertilizantes pelo apoio.

<sup>1</sup>Ayuso, M.; Hernandez, T; Garcia, C.; Pascual, J.A. Simulation of barley growth and nutrient absorption by humic substances originating from various organic materials. *Bioresource and technology*, Oxford, v. 57, n. 3, p. 251-257. **1996**.

<sup>2</sup>Burn, G. Pouvoir complexant des matieres humiques effets sur l'alimentation minerale des vegetaux, Toulouse, France, Institut National Polytechnique de Toulouse, Specialite: Traitement des matieres premieres vegetales, 139 p., **1993**.

<sup>3</sup>Hayes, M.H.B.; Maccarthy, P.; Malcolm, R.L. Swift, R.S. Humic substances II. In: Search of structure, West Sussex, UK: John Wiley & Sons, **1989**. p. 733.

<sup>4</sup>Maggioni, A.; Varanini, Z.; Nardi, S.; Pinton, R. Action of soil humic matter on palnt roots: stimulation of ion uptake and effects on (Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>) ATPase activity. *Science of the total environmet*. Boston, v. 62, p. 355 – 363. **1987**.

<sup>5</sup>Petrovic, P.; Vitorovic, D.; Jablanovic, M. Investigations of biological effect of humic acids. *Acta Biol. Me. Exp.* V. 7, p. 21-25. **1982**.

<sup>6</sup>Sacramento, C. K.; Faria, J.C.; Palácios, J.B.; Cerqueira, L.S. Enraizamento e crescimento de estacas de cacauero (clone TSH 1188) em função do tempo de estaqueamento. In: Congresso de Fisiologia Vegetal, 8<sup>o</sup>, **2001**, Ilhéus, Anais... (CD-Room).

<sup>7</sup>Samson, G.; Visser, S.A. Surface-active effect of humic acids on potato cell membrane properties. *Soil Biology Biochemistry*. Quebec, v. 21, p. 343-347, **1989**.

<sup>8</sup>Silva, R.M.; Jablonski, A.; Texeira Lessa, R.N.; Vahl, L.C. Produção de ácidos húmicos e fúlvicos a partir de diferentes matérias primas orgânicas. *EGATEA: Revista Escola de Engenharia*, Porto Alegre, v. 23, n. 2, p. 53-60, **1995**.

<sup>9</sup>Silva, R.M.; Jablonski, A.; Siewerd, L.; Silveira Júnior, P. Crescimento da parte aérea e do sistema radicular do milho cultivado em solução nutritiva adicionada de substancias húmicas. *Revista Brasileira de Agrociências*, v.5, n. 2, p. 101 – 110, **1999**.



## Caracterização da matéria orgânica num Argissolo Amarelo sob a cultura da cana-de-açúcar: influência da queima ou manutenção da palhada

Érika Flávia Machado Pinheiro<sup>1</sup>(PG)\*, David Vilas Boas Campos<sup>2</sup>(PQ), Eduardo Lima<sup>2</sup> (PQ), Marcos Ceddia<sup>2</sup> (PQ), Ademir Fontana<sup>1</sup>(PG) Segundo Urquiaga<sup>2</sup>(PQ), Bruno Alves<sup>1</sup>(PQ), Robert Michael Boddey<sup>2</sup>(PQ)

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) – Br 465, Seropédica, RJ, Erika@ufrj.br, <sup>2</sup>Embrapa Agrobiologia, Br 465, 23890-000, Seropédica, RJ.

Palavras Chave: frações húmicas, cana crua, cana queimada.

### Introdução

A queima do canavial antes do corte, visando facilitar a colheita é uma prática bastante difundida no Brasil. O palhicho depositado na superfície do solo na ocasião da colheita soma tipicamente entre 10 e 15 Mg ha<sup>-1</sup> de massa seca, promovendo uma cobertura do solo de 10 a 15 cm de espessura (Urquiaga et al., 1991). A queima deste material expõe a superfície do solo às chuvas e aumenta a repelência do solo à água através da condensação de produtos de combustão, que têm propriedades hidrofóbicas (Urquiaga et al., 1997). Assim, a queima do palhicho pode diminuir a infiltração de água no solo e aumentar o escoamento superficial, provocando a perda da camada fértil pela erosão.

Este trabalho foi realizado na Usina LAGRISA (Linhares Agrícola S/A), no município de Linhares (ES), e teve como objetivo avaliar o efeito da queima e não queima da palhada da cultura sobre a distribuição das frações húmicas (ácido fúlvico, húmico e humina) da matéria orgânica num Argissolo Amarelo.

O experimento foi instalado em 28/05/89, visando um estudo de longa duração dos sistemas de manejo cana crua (CC) e cana queimada (CQ). Para tal projeto, fez-se o plantio da variedade RB 739735, a qual apresenta porte ereto e fácil despalha, características que facilitam o corte mecanizado da cana sem a queima. Deve-se ressaltar que, desde a instalação do experimento não foi feito a renovação do canavial. A área experimental é composta de 10 faixas, com uma distância de 2 metros entre elas. Cada faixa possui 13,2 metros de largura e 95 metros de comprimento (1254 m<sup>2</sup> de área).

Os tratamentos avaliados foram: a) corte da cana após queima do palhicho e b) corte da cana sem queima do palhicho e com a distribuição deste na superfície do solo. Também foram coletadas amostras de solo numa área de mata adjacente à área experimental. O delineamento experimental utilizado é o de blocos ao acaso, com cinco repetições para cada tratamento.

No solo sob os diferentes sistemas de manejo da cultura, em novembro de 2003, foram abertas trincheiras de 1,0 x 1,20 x 1,20m de onde foram coletadas amostras de terra nas profundidades: 0-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-60, 60-80 e 80-100cm. Todas as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e transportadas para o Laboratório da Embrapa Agrobiologia, onde foram secas ao ar, moídas e passadas em peneira de 2 mm (terra fina seca ao ar – TFSA) para posterior execução das análises.

Para a extração e o fracionamento químico da matéria orgânica do solo utilizou-se uma adaptação da metodologia da Sociedade Internacional de Substância Húmicas (IHSS), modificado por Benites et al. (2003) nas amostras de TFSA até 40 cm de profundidade.

### Resultados e Discussão

Pode-se observar que, independente dos sistemas de manejo de colheita da cana (cana crua e queimada), as frações orgânicas mais humificadas, ácido húmico (AH) e humina (H), predominam na camada superficial do solo (Tabela 1). A razão deste comportamento deve estar associada à qualidade do material orgânico adicionado ao solo. A cana-de-açúcar possui material vegetal rico em biopolímeros como a lignina e celulose. Estes compostos, de elevada relação C/N, são seletivamente preservados no processo de degradação microbiana. Outras macromoléculas mais lábeis, que favorecem a formação do ácido fúlvico (AF), serão decompostas ou lixiviadas para as camadas inferiores (Vaughan & Ord, 1985).

As frações AH e H foram estatisticamente superiores no sistema cana crua (0-5 cm). Uma característica inerente ao sistema cana crua desta área experimental é a reduzida perturbação do solo (menor revolvimento e não queima da palhada superficial), o que pode estar contribuindo para uma maior preservação das frações orgânicas mais humificadas.

A área de mata apresentou mais frações humificadas comparada aos sistemas de corte da cana. Somente na profundidade inferior (20-30 cm),



a CQ proporcionou mais carbono humificado (FH/CT) que a CC. Esse comportamento deve estar relacionado com a maior adição de material orgânico na forma de fração leve no sistema CC e a não queima desta fração orgânica, contribuindo assim com mais carbono orgânico não humificado.

Na área de mata, as frações AF e H foram as que predominaram. Isto também se deve, provavelmente, à qualidade do material vegetal, de baixa relação C/N adicionado ao solo. Este material estaria propiciando a formação de frações mais lábeis, o que seria favorecido pela não perturbação da área.

**Tabela 1.** Teores de carbono ( $\text{g kg}^{-1}$ ) das frações humificadas da matéria orgânica do solo em áreas com diferentes manejos de colheita de cana e na área de referência (mata).

Prof. (cm)	AH ( $\text{g kg}^{-1}$ )	AF ( $\text{g kg}^{-1}$ )	AH/AF	H ( $\text{g kg}^{-1}$ )	FH/CT
<b>Cana Crua</b>					
0-5	3,45 a	2,19 a	1,58	7,62 a	0,93 a
5-10	1,35 a	1,52 a	0,89	3,97 a	0,62 a
10-20	1,55 a	1,27 a	1,22	3,17 b	0,94 a
20-30	1,46 a	1,17 a	1,25	3,66 a	0,68 b
30-40	1,05 a	2,35 a	0,45	3,85 a	0,81 a
<b>Cana Queimada</b>					
0-5	2,20 b	1,67 a	1,32	5,02 b	0,94 a
5-10	1,74 a	1,45 a	1,20	3,63 a	0,75 a
10-20	1,22 a	1,40 a	0,87	3,97 a	0,80 a
20-30	1,73 a	1,82 a	0,95	4,08 a	0,99 a
30-40	1,27 a	2,67 a	0,48	3,96 a	0,65 a
<b>Mata</b>					
0-5	3,72	3,38	1,10	10,23	0,81
5-10	1,77	1,84	0,96	5,92	0,94
10-20	1,27	2,11	0,60	5,47	0,76
20-30	1,27	2,88	0,44	6,43	0,83
30-40	1,27	2,88	0,44	6,82	0,95

\*AF- ácido fúlvico, AH- ácido húmico, H- humina. FH- frações humificadas, CT- carbono total. Médias (5 repetições) seguidas de letras iguais nas mesmas profundidades, para cada fração, não diferem estatisticamente pelo teste T a 5%, na comparação entre tratamentos.

Na avaliação da distribuição das frações em profundidade, independente do manejo de colheita, a fração AF foi maior na camada superficial (0-5 cm) e na camada mais profunda (30-40 cm). Isto é normalmente esperado, pois a fração AF é constituída de compostos húmicos de maior solubilidade e, é a principal responsável por mecanismos de transporte de cátions dentro do solo. A migração desses produtos menos polimerizados deve-se a sua maior mobilidade (Stevenson, 1994).

A relação AH/AF indica a mobilidade do carbono no solo (Tabela 1). Na camada superficial, de textura arenosa, encontrou-se maior relação AH/AF, já nas camadas inferiores, no horizonte coeso (30-40 cm), a relação AH/AF é bem menor. Em geral, os solos mais arenosos apresentam maiores relações AH/AF indicando a perda seletiva da fração mais solúvel (AF) (Benites et al., 2003).

## Conclusões

- ✓ As frações AH e H foram estatisticamente superiores no sistema cana crua, na camada superficial.
- ✓ Como característica dos solos de Tabuleiros Costeiros, as frações húmicas tendem a se acumular na camada coesa.

## Agradecimentos

Ao CPGA-CS/UFRRJ, à Embrapa Agrobiologia, ao Laboratório de Gênese e Morfologia do Solo e Matéria Orgânica do Solo do DS/IA-UFRRJ, ao CNPq, à LAGRISA (Linhares Agrícola S/A).

Benites, V.; Madari, B.; Machado, P.L.O.A. Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo: um procedimento simplificado de baixo custo. *EMBRAPA-CNPBS, Comunicado Técnico*. 2003.

Stevenson, F. J. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. New York: John Wiley. 1994, 496 p

Urquiaga, S.; Boddey, R.M.; Oliveira, O.C.; Lima, E.; Guimarães, D.H.VA. Importância de não queimar a palha na cultura de cana-de-açúcar. Seropédica: *EMBRAPA-CNPBS, Comunicado Técnico* 5. 1991.

Urquiaga, S.; Resende, A. S.; Alves, B. J.R.; Boddey, R.M. & Döbereiner. Fixação biológica de nitrogênio na cultura da cana-de-açúcar: Perspectivas. Workshop sobre a avaliação e manejo dos recursos naturais em áreas de exploração da cana-de-açúcar. Aracajú, SE, *Embrapa-CPATC*, 1997.

Vaughan, D. & Ord, B.G. Soil organic matter: a perspective on its nature, extraction, turnover and role in soil fertility. In: Martinus, E. A. & Junk, R., eds. *Soil organic matter and biological activity*. Boston, 1985, 16, 34.

# Aspectos físicos e químicos da turfa ácida de Jaconé, Município de Saquarema, Estado de Rio de Janeiro – Brasil. Parâmetros para usos na adubação, na remediação de solos e na despoluição do meio ambiente

Ernest Ramiarina<sup>1\*</sup>, Aline G. Roza<sup>2</sup>, Daniely M. Maciel<sup>2</sup>, Arthur P. da C. Junior<sup>2</sup>, Regina C. S. de Souza<sup>2</sup>

1 -Prof. Depto de Geociências – UFRRJ

2- Alunos de graduação Curso de Geologia Depto de Geociências - UFRRJ

Departamento de Geociências

Instituto de Agronomia

UFRRJ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Km 47 Rio - São Paulo, Seropédica (RJ) – CEP 23890-000, BRASIL

\*e-mail: [ernest@email.iis.com.br](mailto:ernest@email.iis.com.br)

Palavras Chaves: Turfa, características, químicas

## Resumo

Visualizando outros aspectos de utilização da turfa fora do tradicional uso como combustível e/ou matéria prima geradora de energia e gás, convém, neste estudo, mostrar os aspectos físicos e químicos da turfa de Jaconé, Saquarema (RJ), em vista de seu melhor aproveitamento racional e econômico. Suas características físicas e químicas como: grau de humificação H 5 Von Post, capacidade de retenção de água 38,26%, sua capacidade de trocas de cátions (CTC) 99,64 Cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>, carbono orgânico 10,56%, fósforo 26mg/, nitrogênio 1,007% e sobre tudo seu pH 2,4, e sua acidez 69,63 Cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup> classificam a turfa de Jaconé como turfa ácida. Ela possui excelente qualidade para ser usada no melhoramento da fertilidade do solo na plantação de arroz, feijão, cana de açúcar etc. Ela apresenta a mesma qualidade que a turfa ácida largamente comercializada nos mercados americanos e europeus, usada no melhoramento da fertilidade do solo, como substrato de solo orgânico para horticultura em marescagem, na estufa, para sementeira e como corretor de pH do solo nas regiões de rochas calcárias. A grande quantidade de matéria orgânica e sobretudo fibrosa, sua porosidade, sua capacidade T total de troca de cátions (CEC) fazem com que a turfa de Jaconé possa ser utilizada como filtro para remoção dos metais pesados nas águas de usos urbanos, no tratamento de águas provenientes dos rejeitos industriais ou domésticos e ainda como absorvente para descontaminação de metais pesados do solo e absorvente de óleo no caso de vazamento de petróleo nas plataformas marítimas e/ou no mar.

## Localização

A turfeira de Jaconé está localizada no litoral da costa Atlântica, ao nordeste da cidade do Rio de Janeiro a 90 km de distância. Pode ser alcançada através da Rodovia BR 101 até a cidade de Niterói e de lá pela rodovia Amaral Peixoto (RJ 106).

## Objetivos

Utilização dos resultados de análises físicas e químicas desta turfa como parâmetros de aplicação na agricultura e no meio ambiente.

## Metodologia

A coleta de amostra foi feita num lugar só da turfeira. No campo foi determinado o grau de humificação Von Post da turfa. A amostra colhida foi secada ao sol e posteriormente transportada ao laboratório para ser preparada e submetida a diversos procedimentos de análises.

A determinação das características físicas como a granulometria etc foi feita no Laboratório de Sedimentologia do Departamento de Geociências da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ. A análise química e ensaio foram feitos no Laboratório de Solos do Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ. A extração e fracionamento das substâncias húmicas foram feitos no Laboratório de Solos da Embrapa, Rua Jardim Botânico, no Rio de Janeiro.

O procedimento de análises químicas dos macros e micros nutrientes segue a rotina da Embrapa.

Para a extração e fracionamento das substâncias húmicas adotou-se a metodologia da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas - IHSS. O peso da turfa secada ao ar usada na análise é de 0,5g

No ensaio da obtenção da curva de neutralização do pH utilizou-se o CaCO<sub>3</sub> em pó como base alcalina. Foram usadas as seguintes concentrações de CaCO<sub>3</sub>: 2%, 5%, 10%, 20% e 30% em peso em relação a turfa.

Uma vez pesada a turfa correspondente a cada concentração de  $\text{CaCO}_3$  num copo de plástico descartável de 200ml; adicionar o carbonato de cálcio  $\text{CaCO}_3$ ; misturar bem; adicionar o volume de água correspondente à capacidade de retenção de água da turfa, obtida e calculada a partir de teste no laboratório. Cada um dos 5 copos recebe número de identificação com % de  $\text{CaCO}_3$  correspondentes.

Pesar cada copo contendo turfa +  $\text{CaCO}_3$  + água e deixar incubado durante 7 dias; verificar diariamente o peso de cada copo. Caso necessário, completar com água.

Após 7 dias, pegar 10g de amostra de cada copo, previamente misturada, colocar num copo plástico descartável de 200ml, adicionar 25ml de água, misturar, deixar em repouso durante 40 minutos e medir o pH.

## Resultados e discussões

**Tabela 1** - Cor e grau de humificação

Cor	Humificação Von Post	Humificação $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$
Marron	5	18

**Tabela 2** - pH e C org, N, P e K

pH	C org	N	P	K
água	%		mg/l	
2,4	10,56	1,007	26	4

A capacidade de retenção de água calculada é de 38,26%.

**Tabela 3** - Cátions trocáveis

Na	Ca	Mg	K	H+Al
$\text{Cmol}_c/\text{dm}^3$				
1,2	7,6	21,2	0,01	69,63

**Tabela 4** - Al, bases trocáveis S e CTC T

Al	S	T
$\text{Cmol}_c/\text{dm}^3$		
27,0	30,01	99,64

**Tabela 5** - Saturação turfa, por Al, por Na.

V	m	n
%		
30	27,097	1

**Tabela 6** - Concentração de metais pesados

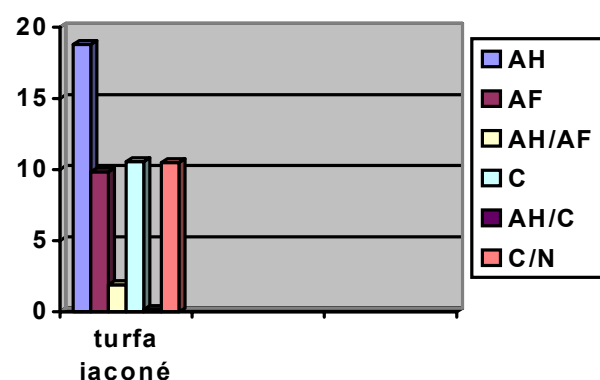
Cd	Pb	Mn	Zn	Cu	Fe
$\text{mg kg}^{-1}$					
0	19,8	192,2	54,6	19,1	14516,0

**Tabela 7** - Características químicas dos compostos fracionados

AH	AF	AH/AF	C	AH/C	C/N
$\text{mgC/g solo}$					
18,8	9,84	1,91	10,56	0,17	10,49

A fração correspondente à humina calculada é de 76,96 mgC/g solo, ou seja 72,9% do C. org. A humina é composta de substâncias húmicas e não húmicas de baixa reatividade e são responsáveis pelos mecanismos de agregação de partículas. Nos solos dos países tropicais, a humina representa a maior parte do carbono humificado do solo.

Os ácidos húmicos representam 17% do C org e são responsáveis pela grande parte da CTC da turfa. Os ácidos fúlvicos 9,3% do C org. são compostos com maior polaridade e solubilidade em meio alcalino e desempenham um grande papel no transporte de cátions por meio de complexos organo-metálicos.



**Fig 1** - Representação das características químicas dos compostos fracionados da turfa de Jaconé.

**Tabela 8** - Relação concentração de  $\text{CaCO}_3$ , tempo de incubação e PH em água da turfa de Jaconé.

Concentração $\text{CaCO}_3$ %	7 dias	14 dias	18 dias
	pH		
1,96	3,6		
4,76	5,5		
5	5,9	7,2	7,4
9,09	6,0		
10	6,3	7,3	7,7
20	6,4	7,6	7,7
30	6,4	7,4	7,9

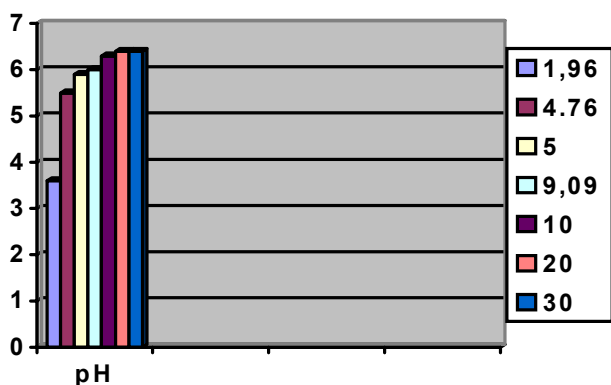


Fig 2 – Evolução do pH em função da concentração de  $\text{CaCO}_3$  na incubação de 7 dias.

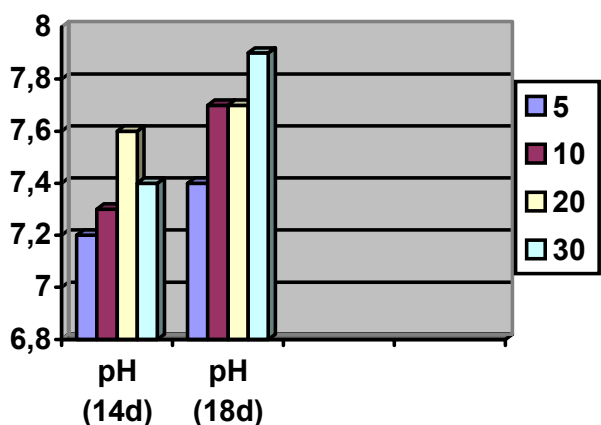


Fig 3 – Evolução do pH em função da concentração de  $\text{CaCO}_3$  na incubação de 14 e 18 dias.

## Conclusão

Os resultados de análises das características físicas e químicas servirão de parâmetros fundamentais para futura avaliação da qualidade de utilização da turfa de Jaconé na agricultura como fertilizante orgânico, na remediação dos solos, no meio ambiente como absorvente de metais pesados e óleo no caso de vazamentos de petróleo no mar e nas plataformas de petróleo.

## Agradecimentos

Agradecimento a Jair do N. Guedes do Laboratório de Solos do Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ.. A Fabiana S dos Santos, pós-doutoranda e Ana C. C. Pereira, doutoranda pela ajuda na realização das análises químicas dos metais. Nosso reconhecimento aos Professores Everaldo Zonta e Nelson M. B. de A. Sobrinho pela liberação dos laboratórios para as análises. Ao Dr. Vinicius de M. Benites, pesquisador da Embrapa, Rua Jardim Botânico, no Rio de Janeiro, pela realização da extração e fracionamento das SH.

## Referências

- Benites, V. de M.; Madari, B.; Machado, P. L. O de A., 2003 – Extração e Fracionamento Quantitativo de substâncias húmicas do solo: um procedimento simplificado de baixo custo. *Comunicado técnico, 16, Issn 1517-5685, Embrapa, Rio de Janeiro, Brasil.*
- Bolter, D. H., 1969, Physical properties of peats as related to degree of decomposition. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 33:606-609.*
- Embrapa, 1979, Manual de métodos de análise de solo.
- Ramiarina, E., 2001, Valorização industrial da turfa de Jaconé, município de Saquarema, Estado de Rio de Janeiro, Brasil. *Simpósio de Geologia do sudeste, Rio de Janeiro,- RJ, Brasil, boletim de resumos p.112.*
- Ramiarina, E., 2004, Chemical and physical characterization of peat from Jaconé, Saquarema, Rio de Janeiro (RJ) State, Brazil, for use as a soil amendment. *XII International meeting of IHSS, humic substances and soil and water environment, São Pedro, São Paulo, Brazil, boletim de resumos p 98, livro do Congresso, p 497-499, ISBN 85-86463-12-4.*

# O fluxo extracelular de prótons das raízes é estimulado pelos ácidos húmicos: evidências obtidas com a microsonda vibrátil seletiva ao H<sup>+</sup>

Alessandro Coutinho Ramos (PQ)<sup>1\*</sup>, Arnaldo R. Façanha<sup>2</sup>(PQ), Luciano P. Canellas<sup>1</sup>(PQ)

<sup>1</sup>Plant Development Laboratory, Instituto Gulbenkian de Ciência, Portugal. <sup>2</sup>Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, Avenida Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, CEP 28013-600 Campos - RJ.arnoldo@uenf.br <sup>3</sup>Laboratório de Solos, UENF. \*e-mail: alessandroatp@yahoo.com.br

Palavras Chave: efeitos fisiológicos, sinalização celular, atividade enzimática.

## Introdução

Os ácidos húmicos (AH) apresentam uma notada e bem documentada capacidade de estimular o crescimento das plantas e a absorção de nutrientes<sup>1</sup>. São observadas respostas mesmo quando são utilizadas concentrações muito baixas de AH em solução, sugerindo um efeito adicional ao da presença de íons ou nutrientes em sua estrutura. Uma série de trabalhos tais como os de Chen e colaboradores<sup>2</sup> e de Pinton e colaboradores<sup>3</sup> demonstraram que AH podem aumentar a solubilidade do complexo organo-metálico e favorecer a absorção principalmente de Fe. A promoção da nutrição de micronutrientes e outros elementos traços pelos AH<sup>4</sup> é uma evidência concreta, mas não explica totalmente a capacidade e a habilidade que essas substâncias possuem em promover a diferenciação celular e o aparecimento de pêlos e raízes laterais em profusão nas plantas. Não é recente a idéia de que os AH possam atuar como hormônios vegetais<sup>5</sup> desencadeando processos e eventos metabólicos a partir de cascatas de sinalização celular ainda não elucidadas. Foi observado anteriormente que os AH promovem um grande estímulo sobre a ação e a síntese de H<sup>+</sup>-ATPases de membrana plasmática (MP)<sup>6,7</sup>. Essas enzimas apresentam um papel central no metabolismo das plantas uma vez que fornecem o gradiente de prótons necessário para gerar a força eletromotriz que energiza o transporte de íons (absorção de nutriente) e garante um fluxo de prótons extracelular responsável pelo abaixamento do pH. Essa última condição é necessária para o afrouxamento da parede e conseqüente alongação celular<sup>8</sup>. As auxinas são hormônios vegetais que comprovadamente promovem a síntese de H<sup>+</sup>-ATPase de MP<sup>9</sup> e o enraizamento lateral. A ativação da H<sup>+</sup>-ATPase é um mecanismo fundamental não só no processo de desenvolvimento vegetal como na promoção da resistência e adaptação aos mais diferentes estresses. Nesse contexto, o efeito dos AH sobre essas bombas configura uma perspectiva no entendimento do mecanismo de ação das SH sobre a fisiologia das plantas.

Nesse trabalho são apresentadas evidências da ação dos AH na promoção de fluxo de H<sup>+</sup>

extracelular através do uso de uma microsonda vibrátil seletiva a H<sup>+</sup> posicionada no rizoplasma. Com essa técnica foi registrado fluxo de H<sup>+</sup> extracelular real em raízes intactas oferecendo uma nova dimensão aos dados anteriormente obtidos com fracionamento celular.

## Material e métodos

Sementes de milho (*Zea mays* L.) foram esterilizadas (etanol 70% contendo 0.1% de Tween 20 por 1 min, NaOCl 5% por 30 min e lavadas em água destilada no mínimo 4 vezes) e colocadas para germinar em papel de filtro humedecido com água estéril. Após a germinação as plântulas foram selecionadas por tamanho das raízes e posteriormente transferidas para uma solução contendo 0.1 mM de KCl, NaCl, CaCl<sub>2</sub> e 0.05 mM de MES, sob aeração. Em todas análises com a microsonda vibrátil, as plântulas foram colocadas em placas plásticas (14,3 cm de diâmetro) com as suas raízes fixadas no fundo da placa por meio de silicone e adicionou-se 10 mL da solução citada com o pH ajustado para 5.6. No caso da solução com AH (50 mg/L) uma filtração prévia foi realizada antes das análises. O fluxo extracelular de prótons e conseqüentemente o pH extracelular foi medido ao longo de raízes secundárias de milho usando uma microsonda vibrátil seletiva ao próton<sup>10</sup>. Eletrodos foram produzidos de microcapilares de borossilicato com diâmetro exterior de 1,5 mm e 1,12 mm de diâmetro interior (www.sutter.com), utilizando o aparelho Puller Flaming Brown, Sutter P-98 (Sutter Instruments, Novato, CA). Posteriormente, os microeletrodos foram colocados sob um suporte de vidro coberto por um Becker de vidro (1 L) e secos em estufa à 250° C por 3 horas. Após este período, realizou-se a silanização dos microcapilares, por exposição a vapor de N, N-dimetiltrimetilsilamina (C<sub>5</sub>H<sub>15</sub>NSi, Fluka 41716), ainda na estufa por 20 minutos e deixados para secar por mais 3 horas, na mesma temperatura. Após a vaporização com silano (C<sub>5</sub>H<sub>15</sub>NSi), os microeletrodos foram preenchidos com uma solução de eletrólito (100 mM para Cl<sup>-</sup>; 15 mM KCl e 40 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> para o H<sup>+</sup>), correspondente a uma coluna de 1,5 mm do eletrodo. Após esta etapa, foram preenchidos na ponta, com uma coluna de 20 a 25 µm do coquetel seletivo, contendo o ionóforo respectivo ao H<sup>+</sup>

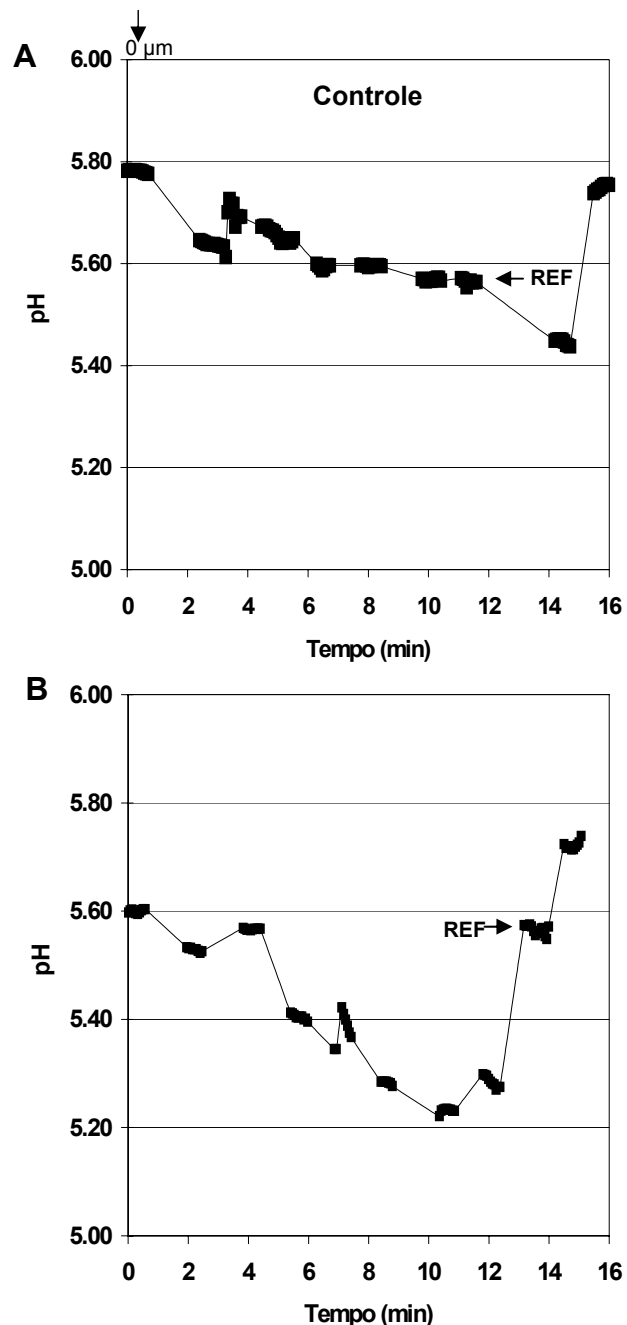


(Fluka, Milwaukee, WI). Para estabelecer o contato elétrico com o meio, foi inserido na extremidade basal do microeletrodo, um suporte com um eletrodo de Ag/AgCl (World Precision Instruments, Inc.). Um eletrodo de referência, composto de uma ponte de KCl 3M líquido, fechada na extremidade com um polímero semipermeável (World Precision Instruments), foi inserido no meio de banho da amostra. Sinais foram medidos pelo amplificador ([www.applicablelectronics.com](http://www.applicablelectronics.com)), sendo a vibração e o posicionamento do eletrodo obtidos através de motores posicionais (*stepper-motors*), os quais permitem um movimento tridimensional. O controle dos motores, a aquisição de dados e o seu processamento preliminar foram ajustados no software ASET (Science Wares [East Falmouth, MA] – [www.sciencewares.com](http://www.sciencewares.com)). A calibração dos eletrodos foi realizada por medição do potencial (mV) registrado em três soluções contendo o íon em estudo, com concentração conhecida: 0,1 mM, 1 mM e 10 mM; dado que as concentrações abrangem as condições dos meios utilizados.

A coleta dos dados da microssonda vibrátil seletiva, realizada pelo software ASET, fornece a informação necessária para calcular o fluxo iônico em um determinado ponto [x, y, z] do espaço, por meio da lei de Fick ( $J = D (dc/dx)$ ). O coeficiente de difusão (D) é um valor tabelado para cada íon (de acordo com *Handbook of Chemistry and Physics*, Chemical Rubber Co.). A diferença espacial (dx) resulta do cálculo da distância entre os dois pontos em que foram realizadas as medições das concentrações para cálculo do fluxo (10  $\mu\text{m}$ ). A diferença de concentração (dc) é um vetor que varia ao longo do ensaio. Em cada ponto, a concentração pode ser calculada a partir do valor de mV registrado no dado ponto e da equação previamente determinada para o ionóforo durante ao processo de calibração. Estes valores em mV foram convertidos em pH superficial aplicando logaritmos.

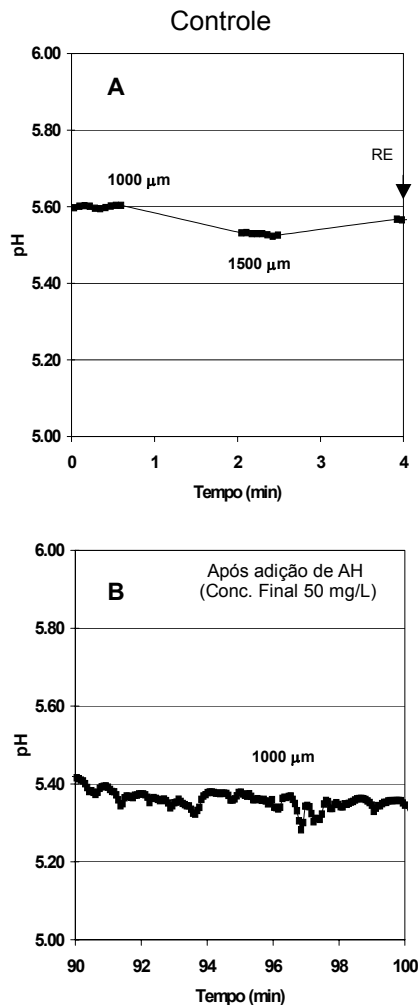
## Resultados e Discussão

Nesse trabalho o fluxo líquido de  $\text{H}^+$  ao longo das raízes de milho tratadas com 50 mg de AH foi observado usando a técnica da microssonda vibrátil seletiva a  $\text{H}^+$ . Os AH podem desencadear uma ativação diferencial dos fluxos de  $\text{H}^+$  através das membranas biológicas de forma rápida (Figura 1). O estímulo maior na acidificação na raiz lateral foi observado na região compreendida entre 800 e 2000  $\mu\text{m}$  que corresponde a região de alongamento radicular.



**Figura 1.** Perfil do pH extracelular em raízes secundárias de milho tratadas (B) ou não (A) com 50 mg/L de Ácido Húmico. Uma intensa acidificação ocorre entre 1000 e 2000  $\mu\text{m}$  de distância da coifa coincidindo com a região de alongamento. REF, representa a referência do meio de crescimento das raízes que não foi alterado pela adição de AH.

Após 3 dias de tratamento com 50 mg AH/L a região apical da raiz também apresentou significativa acidificação (Figura 2) com pH variando de 5.6 para 5.3 nas plantas tratadas com AH. Consistente com a teoria do crescimento ácido o aumento da acidificação foi acompanhado do aumento da elongação celular como mostrado na Figura 3.

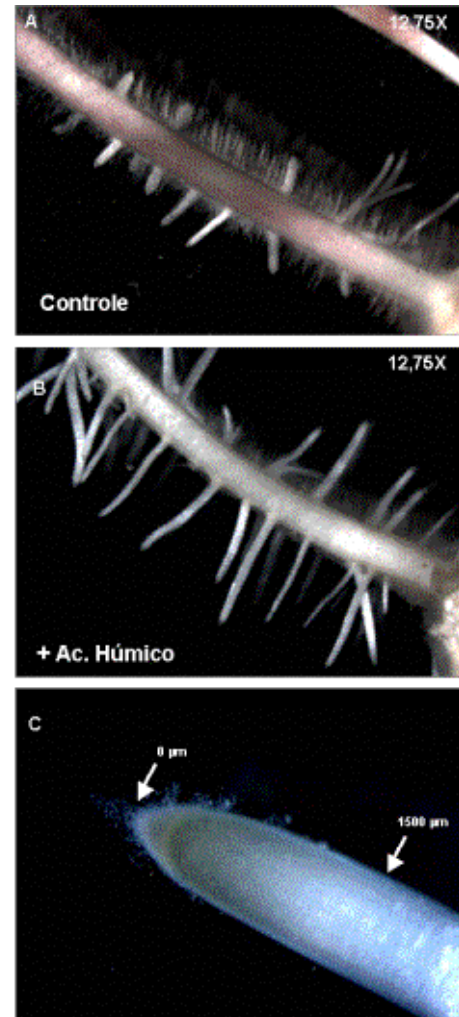


**Figura 2.** A, pH extracelular aos 1000 e 1500 µm da coifa de raízes secundárias de milho não tratadas com AH. B, pH extracelular 86 horas após a adição de AH para uma concentração final de 50 mg/L. Uma acidificação foi encontrada após a adição de AH. REF, representa a referência do meio de crescimento das raízes

Nos ensaios de fracionamento celular foi verificado anteriormente<sup>6,7</sup> a indução da síntese e da atividade da  $H^+$ -ATPase de MP pelos AH isolados de vermicomposto. Essa enzima é a principal responsável pela acidificação da rizosfera. Com essa nova abordagem onde foi obtida a extrusão de  $H^+$  em células intactas de raízes tratadas ou não com AH, evidenciamos, pela primeira vez, a ativação do fluxo de  $H^+$  que está diretamente relacionado com a indução das  $H^+$ -ATPases especificamente na região de alongamento das raízes.

Ao identificar o sistema primário de transporte de  $H^+$  como alvo molecular principal dos AH é descrito um fenômeno que atua pleiotropicamente, tanto no metabolismo vegetal, como na dinâmica e na condição físico química do solo. Oscilações de pH na rizosfera são fundamentais para ativação de a ativação e regulação de sistemas de transporte secundário de íons da célula vegetal os quais

coordenam a entrada e saída de nutrientes e outros metabólitos através da membrana.



**Figura 3.** Imagem de raízes secundárias crescidas na ausência (A) e presença de 50 mg/L de AH (B). C: Detalhe da raiz lateral indicando a região onde foi posicionada a microsonda vibrátil seletiva a  $H^+$  nas Figs. 1 e 2.

Além disso, interferem na dinâmica da parede celular e em todos os fenômenos relacionados ao alongamento celular. Por outro lado, essa acidificação da rizosfera promove mudanças no microambiente do solo no qual as raízes estão inseridas modificando o equilíbrio químico das espécies iônicas presentes na interface raiz-solução e, ainda, modificando a conformação da estrutura das SH. Essas complexas interações destacam o controle dos fluxos de  $H^+$  das raízes pelos AH como um mecanismo de ação fundamental através do qual as SH interagem com a planta induzindo e promovendo seu desenvolvimento e produtividade. As rotas de sinalização desencadeadas posteriormente ao fenômeno de ativação do fluxo de  $H^+$  ainda não foram elucidadas e constitui um grande desafio para o estudo de efeitos fisiológicos de SH.

## Conclusões

A possibilidade de avaliar o fluxo extracelular de  $H^+$  real através da microsonda vibrátil seletiva a  $H^+$  nas raízes tratadas com AH indicou que as substâncias húmicas alteram rapidamente o pH extracelular acidificando bruscamente a rizosfera. As conseqüências dessas rápidas alterações no pH extracelular induzidos pelas substâncias húmicas indicam que elas exercem um papel central na fisiologia das plantas revelando uma íntima interação bidirecional entre a célula vegetal e moléculas bioativas presentes nas SH.

## Agradecimentos

Ao CNPq, FAPAJ, IFS e Instituto Gulbenkian de Ciência

## Referências

- <sup>1</sup>Vaughan, D. & Malcolm, R. Soil Organic Matter and Biological Activity. Martinus Nijhoff/ Junk W, 1985. pp. 37-76.
- <sup>2</sup>Chen et al. 2004. Soil Sci. Plant Nutrit., 50: 1089-1095.
- <sup>3</sup>Pinton et al., 1999. Plant Soil, 210: 145-157, 1999.
- <sup>4</sup>Stevenson, F. 1994. Humus Chemistry, Wiley. 496p.
- <sup>5</sup>Bottomley, L. 1917. Proc. Royal Soc. London, Ser. B Biol. Sci., 89: 481-505.
- <sup>6</sup>Façanha et al. 2002. Pesq. Agropec. Bras., 37: 1301-1310.
- <sup>7</sup>Canellas et al., 2002. Plant Physiol., 130: 1951- 1957.
- <sup>8</sup>Rayle D.L. & Cleland, R.E. 1992. Plant Physiol., 99: 1271-1274.
- <sup>9</sup>Frias et al. 1996. Plant Cell, 8: 1533-1544.
- <sup>10</sup>Feijó et al., 2001. Bioessays, 23: 86-94.

## Quantificação de carbono e nitrogênio por NIRS em solos de Rio Verde

Sandra M. Oliveira Sá (PQ)\*<sup>1</sup>, Marcos Siqueira Neto (PG)<sup>1</sup>, Carla M. Bittar Nussio (PQ)<sup>2</sup>, Aldo Ferrari Nogueira (IC)<sup>1</sup>, Marisa C. Piccolo (PQ)<sup>1</sup>, Carlos C. Cerri (PQ)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Biogeoquímica Ambiental. Avenida Centenário, 303, C.P. 96, CEP 13400-970, Piracicaba, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Avenida Pádua Dias, 11, C.P. 09, CEP 13418-900, Piracicaba, Brasil.

\*e-mail: smolivei@cena.usp.br

Palavras Chave: NIRS, solo, carbono total.

### Introdução

A técnica NIRS (*Near infrared Spectroscopy*) foi originalmente utilizada para o monitoramento de carbono no solo na década de 70<sup>1</sup> e, desde então, vem sendo cada vez mais utilizada em ciências do solo para avaliar propriedades químicas, físicas e bioquímicas em diversos tipos de amostras<sup>2</sup>. A aplicação de NIRS para análise dos constituintes de solos no Brasil é recente e vem despertando grande interesse em instituições de pesquisa, indústrias e empresas em geral. As principais vantagens desta técnica são: baixo custo operacional; rapidez; análise simultânea de vários constituintes, sem pré-tratamento ou destruição da amostra; sensibilidade; repetibilidade e redução drástica de geração de resíduos.

Neste sentido, o principal objetivo deste trabalho é avaliar a precisão da determinação de carbono total e nitrogênio total por NIRS versus combustão a seco em solos de Rio Verde. Este trabalho é parte de um esforço maior para elaborar uma Pedoteca de Referência de Solos Tropicais do Brasil.

Para este experimento, um total de 133 amostras de Latossolo vermelho amarelo distroférrico foram coletadas no município de Rio Verde (GO): 51°43' a 50°19' O e 17°5' a 18°20' S. As coletas foram efetuadas em mini-trincheiras nas camadas: 0-5; 5-10; 10-20; 20-30 e 30-40 cm. As parcelas amostradas correspondem a campo sob vegetação nativa (Cerradão) sob dois manejos agrícolas: plantio convencional e sistema de plantio direto com idade variando entre 0 e 12 anos. Todas as amostras foram secas ao ar, homogeneizadas, moídas e passadas em peneiras de 100 mesh.

As análises por combustão a seco de carbono total (C-total) e nitrogênio total (N-total) foram realizadas em um autoanalisador LECO CN-2000. Para análises por infravermelho, os espectros de refletância difusa foram obtidos em equipamento Foss NIRSystem (modelo 5000) com auxílio do software WinISI II 1.5. Na amostragem utilizou-se celas com janelas de quartzo e 1,0 g de amostra. Cada espectro de refletância difusa do solo foi convertido a logaritmo do inverso da refletância (log

1/R), para que este resultado fosse semelhante à absorvância e obedecesse a Lei de Beer-Lambert.

A calibração do espectrômetro NIRS para análise dos constituintes de interesse foi realizada em três etapas: pré-processamento dos espectros obtidos; desenvolvimento de equações e validação.

### Resultados e Discussão

Todos os espectros foram obtidos no intervalo entre 1100 e 2498 nm, com 1,8 varreduras por segundo e com largura de banda espectral de 10 nm. O pré-processamento dos espectros foi realizado com base na Análise de Componentes Principais (PCA), permitindo assim agrupar os espectros, avaliar a distribuição da população das amostras e identificar possíveis *outliers* (amostras anômalas), de acordo com a distância GH (Mahalanobis) inferior a 3,0<sup>3</sup>. A distribuição espacial das amostras não se mostrou homogênea e 6 *outliers* espectrais (GH>3) foram identificados, mas não foram retirados.

A seleção das amostras para o desenvolvimento das equações e validação destas equações foi realizada por duas estratégias: i) seleção ao acaso, 100 amostras foram utilizadas para gerar equações e 33 amostras para validar essas equações e ii) seleção por semelhança espectral, 40 amostras foram utilizadas para gerar equações de calibração e 93 amostras para validar estas equações. Na seleção de amostras "por meio de semelhança espectral" foram escolhidos espectros representativos da população resultante da análise de componentes principais, utilizando-se o valor de NH igual a 0,6.

As equações de calibração de cada constituinte foram geradas rapidamente utilizando-se o método de Regressão Modificada dos Quadrados Mínimos Parciais e diferentes tratamentos matemáticos com variação normal padrão (*Scatter Normal Variate and Detrend, SNVD*) ou com correção do espalhamento multiplicativo (*Multiplicative Scatter Correction, MSC*). Optou-se por regressão com validação cruzada e os tratamentos matemáticos utilizados foram 1,4,4,1 para derivada, *gap*, *smooth* e segundo *smooth*.

A escolha de uma boa equação de calibração depende da avaliação de índices fornecidos pelo software, como: coeficiente de regressão ( $r^2$ ), desvio padrão (SD), erro padrão de calibração (SEC) e erro padrão de validação cruzada (SECV). Com os últimos índices pode-se calcular o RPD:

$$\text{RPD} = \text{SD} / \text{SECV}$$

Uma boa equação precisa ter  $\text{RPD} > 3$  e SECV muito pequeno, estes índices indicam qualidade e precisão da equação, respectivamente.

Em ambas as estratégias de calibração, utilizou-se regressão com validação cruzada e a equação mais adequada para prever C-total e N-total foi *Scatter Normal Variate and Detrend* com tratamento 1,4,4,1. A Tabela 1 mostra os principais dados obtidos nas equações desenvolvidas.

**Tabela 1.** Dados resultantes das equações tipo *Scatter Normal Variate and Detrend* desenvolvidas para a calibração de C e N totais por NIRS.

N*	n**	An***	SD	SECV	$r^2$	RPD
100	86	C	0,414	0,113	0,957	3,66
100	92	N	0,038	0,011	0,947	3,33
40	35	C	0,507	0,165	0,948	3,06
40	34	N	0,048	0,009	0,982	5,30

\* N = número de amostras selecionadas para calibração

\*\*n = Número de amostras realmente utilizada na equação

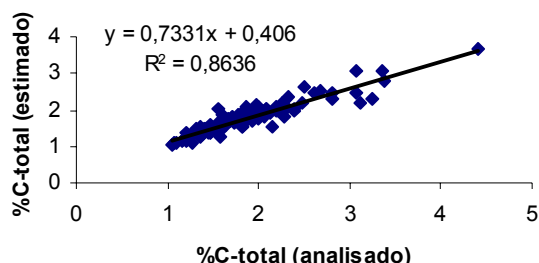
\*\*\*An. = Constituinte analisado.

Estes resultados demonstram que: (i) o conjunto de amostras selecionadas em ambas as estratégias de calibração permitiu gerar equações adequadas ( $\text{RPD} > 3$ ) para C-total e N-total e (ii) de forma geral, as equações geradas para N-total foram melhores que as equações para C-total.

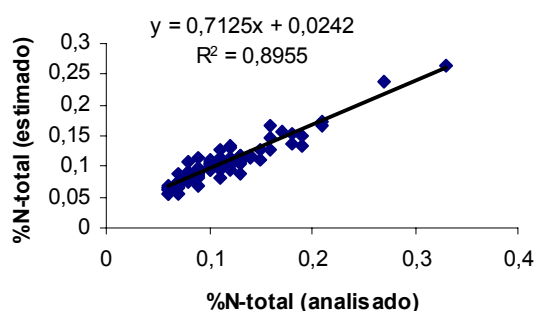
A validação foi sempre efetuada com amostras que não foram utilizadas para gerar as equações. A habilidade da técnica NIRS para determinar C e N totais em Latossolo foi avaliada estatisticamente por meio da comparação entre valores estimados (NIRS) versus valores analisados (combustão a seco). Os principais índices estatísticos usados para esta comparação foram: erro padrão de predição (SEP); diferença entre o valor medido em laboratório e o predito por NIRS (BIAS); e erro padrão da predição corrigido pelo BIAS (SEP(C)). O coeficiente de correlação ( $r^2$ ) também foi observado.

A etapa de validação demonstrou que as equações geradas foram eficientes para validar os

dois grupos de amostras estudados. Contudo, para C-total, a validação das amostras selecionadas por semelhança espectral foi mais eficaz e forneceu menor erro de predição ( $\text{SEP} < 0,26$ ), melhor coeficiente de correlação ( $r^2 = 0,86$ ) e pequena diferença entre os valores analisados e estimados ( $\text{BIAS} < 0,25$ ). As Figuras 1 e 2 mostram curvas de validação para cada constituinte estudado e ilustram o resultado da comparação de valores preditos pela equação com os valores analisados em laboratório.



**Figura 1.** Validação da equação SNVD para C-total em Latossolos de Rio Verde. Comparação entre %C-total NIRS X combustão, para 93 amostras.



**Figura 2.** Validação da equação SNVD para N-total em Latossolos de Rio Verde. Comparação entre %N-total NIRS X combustão, para 93 amostras.

## Conclusões

A técnica NIRS mostrou-se precisa para determinar teores de carbono e nitrogênio totais em amostras de Latossolo vermelho amarelo distroférrico.

## Agradecimento

FAPESP

<sup>1</sup> Al-Abbas A.H.; Swain P.H.; Baumgardner M.F. Soil Sci. 114 1972 477.

<sup>2</sup> Chang, C.W.; Laird, D.A.; Mausbach, M.J.; Hurburgh, C.R. Soil Sci. Soc. Am. J. 65 2001 480.

<sup>3</sup> Shenk, J., Westerhaus, M. Crop. Sci., 31 1991 469.



## Estudo do grau de humificação do ácido húmico de um Latossolo: com e sem adição de calcário

Sérgio da Costa Saab<sup>1</sup>(PQ), Ademar de Oliveira Ferreira<sup>1</sup>(IC), Eduardo Fávero Caíres<sup>2</sup>(PQ), Ladislau Martin - Neto<sup>3</sup>(PQ), Marcelo L. Simões<sup>3</sup>(PQ), Wilson Tadeu Lopes da Silva<sup>3</sup>(PQ)

1- UEPG – Depto. Física - Av. Carlos Cavalcanti 4748, 84030-900, Ponta Grossa, PR.

2- UEPG – Depto Solos – Av. Carlos Cavalcanti 4748, 84030-900, Ponta Grossa, PR.

3- Embrapa – Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

\*e-mail: scsaab@uepg.br

Palavras Chave: EPR, plantio direto, calcário.

### Introdução

Para correção de acidez do solo no sistema de plantio direto, o calcário é distribuído na superfície sem incorporação. Trabalhos recentes tem indicado que a necessidade de calcário no sistema de plantio direto talvez seja menor do que no sistema convencional de preparo. Estudos<sup>1</sup> mostram que o calcário aplicado na superfície apresenta eficiência na correção de acidez de camadas superficiais do solo e do subsolo, aumentando a produção acumulada de grãos de culturas em rotação no sistema de plantio direto.

Porém há poucos trabalhos relacionando a modificação da matéria orgânica do solo (MOS) (principalmente a humificada) com a aplicação de calagem na superfície do solo. Uma das técnicas utilizada para determinação do grau de humificação da MOS é a técnica de (Ressonância Paramagnética Eletrônica) EPR. Esta técnica avalia a concentração de radicais livres semiquinona em ácidos húmicos e fúlvicos, a qual é considerado o grau de humificação<sup>2</sup>. A estimativa da área do sinal de EPR (que é proporcional a concentração de radicais livres do tipo semiquinona na matéria orgânica humificada), pode ser realizada pela dupla integração do sinal, ou pela aproximação: intensidade do sinal (I, em cm ) multiplicada pelo quadrado da sua largura de linha ( $\Delta H^2$ , em Gauss) proposta por Poole Jr. & Farach<sup>3</sup>.

Este trabalho tem como objetivo quantificar o grau de humificação de ácidos húmicos AH(s) de um latossolo sob plantio direto através da técnica de EPR. Foram comparados resultados em AH do solo com e sem aplicação de calcário em três profundidades diferentes. Os AH(s) foram extraídos segundo a metodologia da sociedade internacional de substâncias húmicas.

### Resultados e Discussão

As amostras de AH(s) estudadas estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 - Amostras de AH de latossolo

Amostras de AH sem calcário	Profundidades
1	10-20 cm
2	5-10 cm
3	0-5 cm
Amostras de AH com calcário	Profundidades
4	10-20 cm
5	5-10 cm
6	0-5 cm

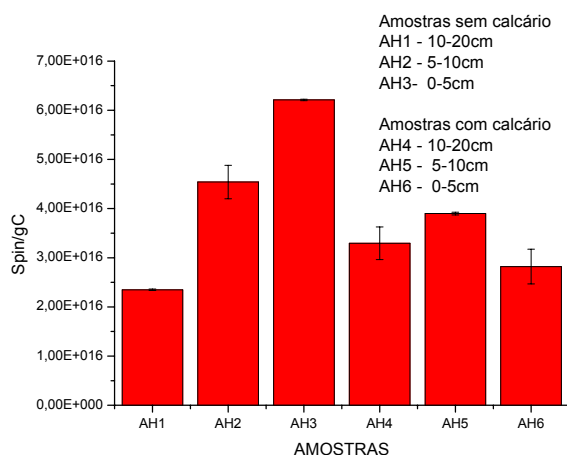
Os espectros de EPR das amostras foram obtidos usando o E-109 Century Varian EPR com uma cavidade retangular E-231, operando na banda X (9,4 GHz). O campo magnético foi centrado em 3400 Gauss, com amplitude de modulação de 1G<sub>pp</sub> e 0,2-mW de potência de microondas. A área do sinal de EPR foi obtida pela convencional aproximação ( $I \cdot \Delta H^2$ ). A concentração do radical livre semiquinona foi determinada, usando o cristal de ruby como padrão secundário, calibrado com Strong Pitch<sup>2,4</sup>.

Foram realizadas as medidas de EPR e quantificada a concentração de spin/g de cada amostra. Foi determinado o teor de C, por queima em mufla, das amostras. Foram calculados as concentrações spin/gC para cada amostra de AH como mostra a tabela 2.

Tabela 2- Dados obtidos por EPR

Amostra	spin/g C (10 <sup>16</sup> )	g	Largura de Linha (G)
AH1	2,35	2,0044	4,71
AH2	4,54	2,0055	4,74
AH3	6,21	2,0056	4,64
AH4	3,29	2,0049	3,93
AH5	3,90	2,0074	4,86
AH6	2,82	2,0057	4,03

Verificamos que não houve correlação da largura de linha com parâmetros de profundidade e amostras com e sem calcário. Os valores do fator g nas amostras foram equivalentes aos encontrados na literatura<sup>5</sup> para AH(s) de solos. A concentração spin/gC de cada amostra obtida através da técnica de EPR (Tabela 2) esta apresentada na figura 1.



**Figura 1 – grau de humificação das amostras de AH(s) nas profundidades de 0-5; 5-10 e 10-20cm.**

Observando a figura 1 as amostras AH1, AH2 e AH3 que correspondem ao solo sem o tratamento com calcário (ver tabela 1), apresentam uma maior concentração de spin/g C (exceção da amostra AH1), sabendo que quanto maior a concentração de spin/g C maior a humificação da MOS<sup>2,4, 5</sup> estas amostras apresentam um maior grau de humificação que as amostras AH4, AH5 que correspondem ao solo com tratamento com calcário.

A amostra AH3 do solo sem tratamento com calcário, (que corresponde à profundidade 0-5 cm, ou seja, a amostra mais superficial), é a que apresenta maior concentração de spin/g C. Assim nesta amostra, AH3, esta indicando que para solo sem o tratamento com calcário na superfície 0-5cm apresenta um maior grau de humificação da MOS

que a profundidades superiores 5-10 cm e 10-20 cm, já que a quantidade de Spin/g C está relacionada com a humificação da MOS<sup>2,4,5</sup>. Da figura1 pode-se verificar que houve uma diminuição mais acentuada da concentração de spin/g C após o tratamento com calcário na parte mais superficial do solo (comparando amostras AH3 e AH6) correspondente a profundidade 0-5 cm e que o mesmo ocorreu para a profundidade 5-10 cm (comparando as amostras AH2 E AH5). Nestas profundidades houve uma perda de humificação na aplicação do calcário, provavelmente devido a mineralização da matéria orgânica<sup>6</sup> mais humificada.

## Conclusões

Com o uso da técnica de EPR podemos concluir que o tratamento do solo com calcário (prática da calagem) reduz a concentração de spin/g C na superfície 0-5 e 5-10 cm e conseqüentemente o grau de humificação da fração ácido húmico desse solo. Esta diminuição pode ter sido causada pela mineralização da matéria orgânica humificada pela prática da calagem. Concluímos também que a calagem não contribuiu na alteração da humificação dos AH(s) na profundidade 10-20 cm.

## Agradecimentos

Ao CNPq e a UEPG pela bolsa de Iniciação científica concedida para o estudante.

<sup>1</sup> Caires, E. F.; Banzatto, D. A.; Fonseca, A. F.. R. Bras. Ci. Solo. **2000**, 24, 161.

<sup>2</sup> Saab, S. C.; Martin-Neto, L. J. Braz. Chem. Soc. **2004**, 15, 34.

<sup>3</sup> Poole, C.P.; Farach, H.A.; The Theory of Magnetic Resonance, John Willey & Sons: New Jersey, **1972**.

<sup>4</sup> Saab, S. C.; Martin-Neto, L. Quim. Nova. **2003**, 16, 497.

<sup>5</sup> Stevenson, F. J.; Humus Chemistry, 2th ed., John Willy & Sons: New York, **1994**.

<sup>6</sup> Brady, N. C.; Natureza e propriedades do solo, 7ª ed., Freitas Bastos, Rio de Janeiro, **1989**.

## Estoque de fração leve em solos sob plantio de *Brachiaria humidicola* em monocultura e consorciada com *Desmodium ovalifolium*, no município de Itabela (BA)

Gabriel A. Santos<sup>1\*</sup>(PS), David V. B. de Campos<sup>2</sup>(RD), Pedro L.O. de A. Machado<sup>3</sup>(PQ), Erika F.M. Pinheiro<sup>1</sup>(PG), Ricardo Tarré<sup>1</sup>(PG), Robert Macedo<sup>3</sup>(PQ), Bruno J.R. Alves<sup>4</sup>(PQ), Segundo Urquiaga<sup>4</sup>(PQ), Robert M. Boddey<sup>4</sup>(PQ)

<sup>1</sup> IA/UFRRJ, <sup>2</sup> EMBRAPA CNPS, <sup>3</sup> EMBRAPA CNPAF, <sup>4</sup> EMBRAPA CNPAB. \*e-mail: gasantos@ufrj.br

Palavras Chave: *Fracionamento densimétrico, fração leve livre, fração leve intra-agregado.*

### Introdução

A mata atlântica originalmente situa-se desde a região Sudeste até o sul da região Nordeste do Brasil. No extremo Sul da bahia, na localidade de Itabela, uma considerável proporção dessa floresta foi derrubada para a implantação de pastagens e para o uso agrícola, promovendo alterações na matéria orgânica do solo. E nos solos tropicais, a matéria orgânica do solo assume grande importância para a fertilidade dos solos e produtividade das culturas, com as práticas de manejo do solo controlando a dinâmica de carbono do sistema. O fracionamento densimétrico pode ser utilizado para a identificação das frações leve livre e leve intra-agregado da matéria orgânica do solo (Machado, 2002), que são as frações que apresentam os maiores teores de carbono, apesar de serem as frações menos abundantes.

Foram determinados os estoques de fração leve sob floresta secundária, pastagem de braquiária em monocultura e braquiária consorciada com leguminosa, em um experimento conduzido em Itabela, no Extremo Sul da Bahia (Tarré et al., 2001). Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da introdução das pastagens sobre os estoques de fração leve no solo.

### Material e Métodos

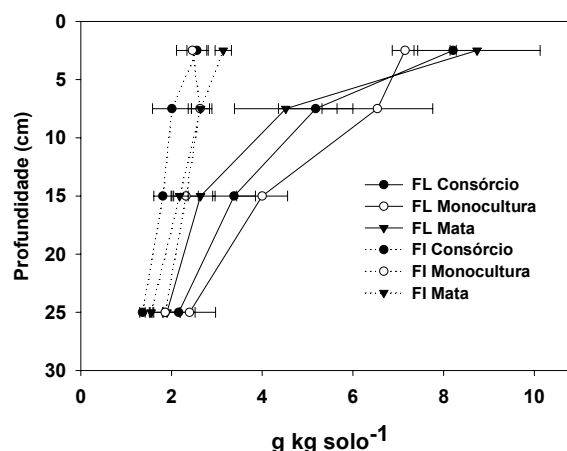
O estudo foi realizado sobre um argissolo vermelho amarelo, na Estação de Zootecnia do Extremo Sul da Bahia (ESSUL/CEPLAC-CEPEC), município de

Itabela (BA). Os tratamentos avaliados foram um plantio de *Brachiaria humidicola* em monocultura e plantio de *Brachiaria humidicola* consorciada com *Desmodium ovalifolium*, instalado em 1988 sobre um Argissolo Vermelho Amarelo. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições. Cada tratamento ocupa uma área de aproximadamente 1 ha, com lotação de 3 animais por hectare. Adjacente ao experimento havia uma área com cobertura de floresta secundária.

Em 1997, foram coletadas amostras de solo até 30 cm de profundidade nas 3 repetições, sendo posteriormente secas ao ar e peneiradas (2mm). As amostras foram fracionadas em 2 replicatas, no laboratório de análise de solo e planta (LASP), na Embrapa Solos (Machado, 2002). Ambas amostras de 5 g de solo foram misturadas com 35 mL de NaI 1,80 g cm<sup>-3</sup>. Após centrifugação, foi coletada a fração leve livre (FL). Depois, foi aplicado ultra-som (400 J mL<sup>-1</sup>), e após outra centrifugação, coletada a fração leve intra-agregado (FI). Foi determinada também a densidade do solo em cada parcela.

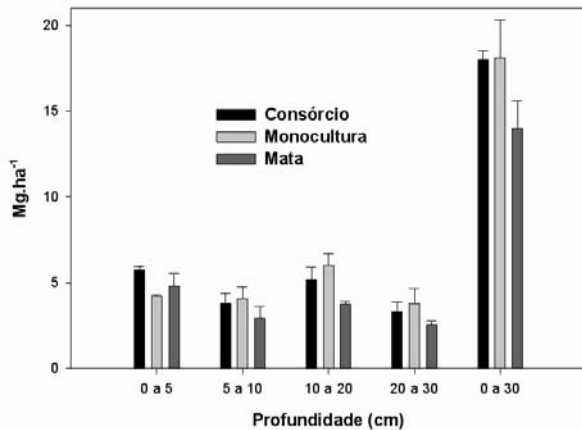
### Resultados e Discussão

A quantidade de fração leve livre foi mais elevada no horizonte 0-5 cm nos solos sob cobertura da mata, pastagem de monocultura e pastagem consorciada, reduzindo progressivamente até profundidade de 20-30 cm, quando atingiu valores próximos aos encontrados para a fração leve intra-agregado. Não foi observada diferença entre as coberturas quanto aos teores das frações leves. Os teores da fração leve livre foram sempre superiores àqueles encontrados para a fração leve intra-agregado (Figura 1). Os maiores teores da fração leve na camada superficial podem ser considerados um efeito da liteira e raízes no solo oriundo das coberturas vegetais.

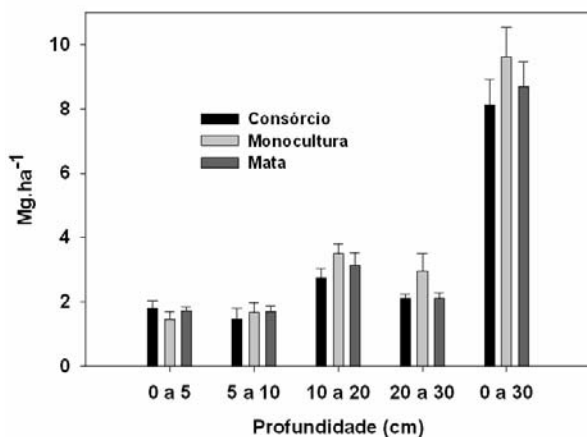


**Figura 1** - Teores de fração leve em solo sob cobertura de mata, pastagem em monocultura e consorciada com leguminosa. (barras de erros indicam o erro padrão da média, de 3 repetições)

Considerando o volume de solo amostrado até 30 cm de profundidade, nos solos sob cobertura de pastagens em monocultura e consorciada, foram encontrados maiores estoques de fração leve livre do que em solo sob cobertura da mata, principalmente nas profundidades de 5 a 30 cm. Isso demonstra a capacidade das pastagens nesse manejo de acumular maiores quantidades de fração leve, alcançando valores superiores a 18 Mg de fração leve livre ha<sup>-1</sup>, enquanto na mata foram encontradas 14 Mg ha<sup>-1</sup> (Figuras 2 e 3).

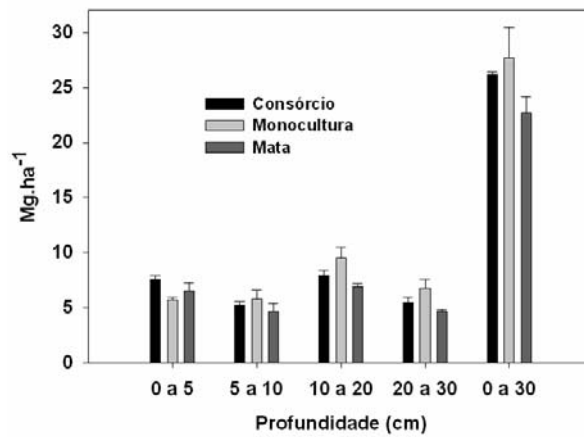


**Figura 2** - Quantidade de fração leve livre em solos sob mata, pastagem em monocultura e consorciada com leguminosa. (barras de erros indicam o erro padrão da média, de 3 repetições)



**Figura 3** - Quantidade de fração leve intra-agregado em solos sob mata, pastagem em monocultura e consorciada com leguminosa. (barras de erros indicam o erro padrão da média, de 3 repetições)

Para a fração leve total acumulada de 0 a 30 cm de profundidade, os estoques de fração leves foram superiores nas pastagens, chegando a 26,1 e 27,7 Mg ha<sup>-1</sup> na pastagem em monocultura e consorciada, respectivamente, enquanto na mata foram encontradas 22,7 Mg ha<sup>-1</sup> (Figura 4).



**Figura 4** - Quantidade de fração leve total em solos sob mata, pastagem em monocultura e consorciada com leguminosa. (barras de erros indicam o erro padrão da média, de 3 repetições).

Esses resultados demonstraram o potencial da pastagem no aumento da quantidade de fração leve adicionada ao solo, que pode refletir em todos os compartimentos de carbono do solo. Resultados obtidos por Rezende et al (1999) no extremo Sul da Bahia mostraram que pastagens de braquiária contribuíram entre 25 a 30 Mg de liteira por ano.

## Conclusões

A introdução da pastagem de braquiária em monocultura e consorciada com a leguminosa aumentaram os estoques de fração leve total em relação ao estoque encontrado sob floresta secundária.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq e a Embrapa pelo apoio e o suporte financeiro.

## Referências

- MACHADO, P.L.O.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. **Comunicado técnico**. Embrapa Solos, no. 1, p:1-4, 2002.
- REZENDE, C.P.; CANTARUTTI, R.B.; BRAGA, J.M.; GOMIDE, J.A.; PEREIRA, J.M.; FERREIRA, E.; TARRÉ, R.; MACEDO, R.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S.; CADISCH, G.; GILLER, K.E.; BODDEY, R.M. Litter deposition and disappearance in *Brachiaria* pastures in the Atlantic forest region of the South of Bahia, Brazil. **Nutrient Cycling in Agrosystems**, 54: 99-12, 1999.
- TARRÉ, R.; MACEDO, R.; CANTARUTTI, R.M.; REZENDE, C.P.; PEREIRA, J.M.; FERREIRA, E.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. The effect of the presence of a forage legume on nitrogen and carbon levels in soils under *Brachiaria* pastures in the Atlantic forest region of the South of Bahia, Brazil. **Plant and Soil** 234: 15-26, 2001.

## Especiação dos grupos ácidos e básicos do ácido húmico (Aldrich)

Bruno Szpoganicz (PQ)<sup>1\*</sup>, Marcos R. da Silva (PQ)<sup>2</sup>, Ana Paula N. Gomes (IC)<sup>1</sup>, Andreia N. Fernandes (PG)<sup>1</sup>, Maria Marta de S. Sierra (PQ)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), 88040-900, Florianópolis – SC.

<sup>2</sup>Departamento de Química, Universidade Regional de Blumenau (FURB), 89075-910, Blumenau – SC.

\*e-mail: bruno@gmc.ufsc.br

Palavras Chave: substâncias húmicas, potenciometria, especificação.

### Introdução

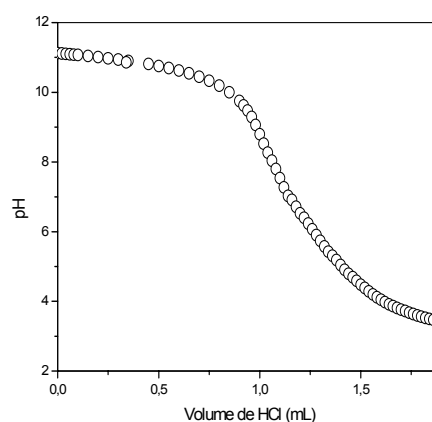
O estudo das substâncias húmicas (SH) é um tema de grande interesse devido à sua onipresença na natureza. Este material consiste de misturas de compostos com elevada massa molar e uma grande variedade de grupos funcionais.<sup>1</sup> Dentre os processos biogeoquímicos envolvendo as SH no meio ambiente um dos mais relevantes é a complexação com metais, pois altera a concentração desses na forma livre e diminui sua toxicidade para os organismos. Por essa razão, é de grande importância a determinação precisa da acidez das SH, visto que esta está relacionada com a sua reatividade.<sup>2</sup> Para melhor compreender o papel das SH na complexação dos íons metálicos, neste trabalho fez-se a especificação, por meio de titulação potenciométrica, dos grupos funcionais mais reativos presentes nestes compostos como fenol, carboxílico, catecol, ftálico e salicílico.

As soluções aquosas experimentais foram preparadas com água bi-distilada e fervida e tituladas com KOH isento de CO<sub>2</sub> em uma célula termostaticada, à 25,0 °C. A atmosfera inerte foi mantida com Ar numa pressão levemente acima da pressão atmosférica. Amostras de aproximadamente 0,200 g de ácido húmico aldrich (AH-Aldrich) foram tituladas com KOH isento de CO<sub>2</sub> até pH 11 e depois tituladas com HCl 0,100 mol L<sup>-1</sup> até pH 3,2. A força iônica foi mantida constante com KCl (0,100 mol L<sup>-1</sup>). Os dados experimentais foram tratados com o programa BEST7, que tem como arquivo de entrada informações como: a concentração da base ou do ácido, a concentração aproximada do total dos grupos ácidos e básicos, os volumes de base ou ácido adicionados e os correspondentes valores de pH. A distribuição das espécies foram calculadas com a ajuda dos programas SPE e SPEPLOT.<sup>3</sup>

### Resultados e Discussão

A **Figura 1** mostra a curva de titulação potenciométrica do AH-Aldrich, com adição de HCl como titulante. Essa é uma curva de titulação típica das SH as quais, em geral, não apresentam um ponto de inflexão bem definido, sendo necessário o uso de programas de computador para interpretá-las. Até pH 3,2 houve um consumo de 1,80 mL de

HCl para protonar os grupos ácidos e básicos. A região tamponada acima de pH 9,5 corresponde não somente aos grupos funcionais do AH, mas, também à ionização da água. A região entre pH 9,5 e 3,2 corresponde às protonações dos grupos fenólicos e, mais abaixo, dos grupos carboxílicos.



**Figura 1.** Curva de titulação para o AH-Aldrich.

Usando os dados da curva de titulação e empregando uma matriz de cálculo (**Figura 2**), inicialmente com os valores dos pKas dos grupos reportados na literatura e com os dados experimentais dos volumes de base adicionados e os correspondentes valores de pH, foi possível determinar as quantidades desses grupos ácidos e básicos. Deste modo, contribuem para a acidez carboxílica os grupos carboxílico (isolado), ftálico e salicílico; a acidez fenólica, por sua vez, aparece como o grupo fenol isolado, o catecol e o salicílico. No final, foi feito o refino das constantes de protonação de cada grupo (**Tabela 1**). Em geral, os valores encontrados são próximos aos valores dos pKas desses grupos como ligantes simples, nas mesmas condições de temperatura e força iônica. A protonação do grupo carboxílico está aproximadamente, uma unidade logarítmica e meia mais elevada do que para o valor para o ânion acetato o que, provavelmente, deve-se ao acúmulo de cargas negativas nessas macromoléculas, ocasionando sua protonação em pH mais elevado. Interações supra-moleculares, como ligações de hidrogênio, também contribuem para o desvio desses pKas.



Resultado de Titulação: AH-Aldrich	
Fenol	0,01474 mmols
Carboxílico	0,01714 mmols
Catecol	0,01206 mmols
Ftálico	0,02098 mmols
Salicílico	0,01404 mmols
51,0	0,0941168 mol L <sup>-1</sup>
0,0	0101 0200 0300 0400 0500 0600 0700
8,89	0101 0200 0300 0400 0500 0600 0701
0,0	0100 0201 0300 0400 0500 0600 0700
5,95	0100 0201 0300 0400 0500 0600 0701
0,0	0100 0200 0301 0400 0500 0600 0700
13,125	0100 0200 0301 0400 0500 0600 0701
22,202	0100 0200 0301 0400 0500 0600 0702
0,0	0100 0200 0300 0401 0500 0600 0700
5,008	0100 0200 0300 0401 0500 0600 0701
7,793	0100 0200 0300 0401 0500 0600 0702
0,0	0100 0200 0300 0400 0501 0600 0700
13,40	0100 0200 0300 0400 0501 0600 0701
16,84	0100 0200 0300 0400 0501 0600 0702
0,0	0100 0200 0300 0400 0500 0601 0700
-13,78	0100 0200 0300 0400 0500 0600 07-1
0,020	11,121
0,020	11,112
0,040	11,102
0,060	11,091
0,080	11,080
0,100	11,069
0,150	11,040
0,200	11,009
0,250	10,975
.....	.....

**Figura 2.** Matriz do cálculo das quantidades dos grupos ácidos e básicos do AH-Aldrich.

**Tabela 1.** Log das constantes de protonação média dos grupos fenol, carboxílico, catecol, ftálico e salicílico presentes no AH Aldrich, à 25°C e força iônica 0,100 M de KCl.

Grupo	[HL]/[L][H]	[H <sub>2</sub> L]/[HL][H]
Fenol	8,89 (9,82)	
Carboxílico	5,95 (4,56)	
Catecol	13,12 (13,00)	9,08 (9,24)
Ftálico	5,01 (4,92)	2,78 (2,75)
Salicílico	13,40 (13,40)	3,44 (2,81)

Os valores entre parênteses são da literatura para ligantes simples.

A soma das quantidades, em meq g<sup>-1</sup>, dos grupos fenol, salicílico e o dobro do catecol, corresponde à acidez fenólica (2,67 meq g<sup>-1</sup>), enquanto que a soma das quantidades dos grupos carboxílico, ftálico e salicílico corresponde à acidez carboxílica (3,65 meq g<sup>-1</sup>) (**Tabela 2**).

**Tabela 2.** Quantidade dos grupos funcionais oxigenados do AH-Aldrich calculada pelo BEST7.

Grupos	meq g <sup>-1</sup>
Fenol	0,74
Carboxílico	0,86
Catecol	0,61
Ftálico	1,04
Salicílico	0,71

Estes resultados diferem daqueles determinados pelo método indireto (**Tabela 3**), o qual emprega reações com o acetato de cálcio para determinar a acidez carboxílica, para a acidez total utiliza-se o hidróxido de bário e a acidez fenólica é determinada pela diferença entre as duas determinações.<sup>1</sup> Em trabalhos anteriores foi demonstrado que este apresenta algumas limitações.<sup>4</sup> Essa diferença deve ser devido aos baixos valores de pKas da segunda protonação dos grupos ftálico e salicílico, os quais na reação com o acetato de cálcio podem estar todos parcialmente desprotonados. O valor mais elevado da acidez fenólica é devido ao fato que esta é calculada por diferença entre a acidez total, calculada pelo método da barita e a acidez carboxílica.

**Tabela 3.** Valores de acidez do AH\_Aldrich determinada pelo método indireto.

Carboxílica	Fenólica	Total
1,51 meq g <sup>-1</sup>	4,56 meq g <sup>-1</sup>	6,07 meq g <sup>-1</sup>

## Conclusões

Utilizando-se o programa BEST7 na interpretação da curva de titulação potenciométrica foi possível fazer a quantificação (em meq g<sup>-1</sup>), assim como a determinação das constantes de protonação (K<sub>a</sub>) dos grupos funcionais oxigenados mais reativos (fenol, carboxílico, catecol, ftálico e salicílico) do AH-Aldrich.

Os grupos carboxílico (isolado), fenol (isolado) e ftálico foram os que mostraram as quantidades mais significativas. Os valores dos pK<sub>a</sub>s dos grupos carboxílicos foram maiores do que aqueles reportados na literatura para os ligantes isolados, sendo este efeito atribuído ao acúmulo de cargas

negativas e às ligações de hidrogênio presentes nas misturas húmicas.

O método mostrou-se bastante promissor para a especiação da acidez de SH.

## Agradecimentos

CNPq.

<sup>1</sup> Schnitzer, M.; Gupta, U.C., Soil Sci. Soc. Am. Proc. **1965**, 29, 274.

<sup>2</sup> Rashid, M.A.; Geochemistry of marine humic compounds. **1985**, 67.

<sup>3</sup> Martell, A.E.; Motekaitis, R.J., Determination and use of stability constants, VCH Publishers, New York, **1992**.

<sup>4</sup> Sierra, M.M.D.; Fernandes, A.N.; Szpoganicz, B., Talanta **2004**, 62, 687.

## Análise do grau de humificação do cacho seco e inflorescência de dendê (*Elaeis guineensis*) decompostos

Rose Luiza Moraes Tavares<sup>1\*</sup> (IC), Carlos Augusto Cordeiro Costa<sup>2</sup> (PQ)

1. tv. São Francisco nº 122 Casa 02 Bairro: Comercio Belém / PA CEP: 66.023-530

2. ISARH / UFRA av. Presidente Tancredo Neves 2501 Bairro: Montese Belém / PA CEP: 66.077-530

\*e-mail: roseufra@hotmail.com

Palavras Chave: Dendê, Húmus, Matéria Orgânica

### Introdução

O Estado do Pará possui área plantada com dendê (*Elaeis guineensis*) de aproximadamente 32.000 hectares e produção anual de cachos com frutos estimada em 525.000 toneladas, correspondendo a uma média mensal de 43.750 toneladas. Do material que chega à indústria, após o processamento, cerca de 25% corresponde a cachos secos, que na maioria das usinas não são aproveitados, causando geralmente, problemas tanto de origem econômica, pelo elevado custo de retirada do material do parque da indústria, quanto ecológico, pela formação de depósitos a céu aberto, próximo de rios e igarapés, utilizados pela população rural. Os cachos secos são ricos em nutrientes, fornecendo N, P e K por tonelada de cachos equivalentes a 6,0 Kg de uréia, 1,6 Kg de superfosfato triplo e 11,5 Kg de potássio. O cacho após processo de decomposição, possui considerável teor de matéria orgânica humificada, o que contribui para a fertilização do solo através do fornecimento de elementos essenciais ao desenvolvimento e produção dos vegetais. O objetivo da pesquisa foi averiguar a potencialidade do cacho seco decomposto de dendê e de sua inflorescência (material pouco conhecido para a fertilização do solo) coletados em área de dendezal da Agroindústria Palmasa, localizada no município de Igarapé-Açú/PA.

### Resultados e Discussão

Foram efetivadas as análises de: razão AF/AH, razão C/N, matéria orgânica e carbono orgânico, determinação de N, densidade e teor de cinzas, do material inerte coletado (cacho seco e inflorescência) e as substâncias húmicas (ácido húmico e ácido fúlvico) extraídas do material em questão, cujos resultados mostrados na Tabela 1, oriundos de 50 (cinquenta) sub-amostras de cada amostra coletada, mostram que a razão AH/AF para cacho seco e inflorescência na ordem respectiva de 1/10,3 e 1/27,9, estão dentro de uma faixa muito boa do processo de humificação, contribuindo de sobremaneira para reposição de elementos essenciais prontamente adsorvidos nas partículas coloidais do solo (Tomé Jr, 1997) e, assim,

disponibilizados para o processo de absorção por parte do sistema radicular da cultura em questão, o que é confirmado também pela razão C/N, respectivamente de 15,5/1 e 30,8/1.

**Tabela 1.** Valores encontrados da análise do cacho seco e inflorescência, bem como das substâncias húmicas extraídas

Análise		Amostras	
		Valores médios	
		Cacho seco	Inflorescência
Razão AH/AF	-	1/10,3	1/27,9
Razão C/N	-	15,5/1	30,8/1
Dens. da SH	g/ml	0,048	0,068
Teor de cinzas	g. Kg <sup>-1</sup>	37,15	49,38
Matéria orgânica	g. Kg <sup>-1</sup>	5,34	8,46
C orgânico	g. Kg <sup>-1</sup>	3,10	4,92
N total	mg/dm <sup>3</sup>	0,20	0,16

Observa-se também que a densidade do material húmico extraído das amostras é maior para inflorescência, originado provavelmente pela maior velocidade da decomposição, tendo em vista ser um material basicamente composto pela rota celulósica, o que não acontece com o cacho seco, que além da rota celulósica, também tem influência da rota da lignina, ou seja, de mais difícil decomposição (Dias Correia, 1982), que de certo modo, propiciou que o teor de cinzas também fosse maior na inflorescência do que no cacho seco, perfeitamente compreensível levando em consideração a maior concentração de massa húmica extraída, em decorrência da maior disponibilidade de matéria orgânica. Interessante observar que apesar da amostra da inflorescência apresentar uma concentração de matéria orgânica maior do que a amostra de cacho seco, no entanto, tanto a razão AH/AF, bem como, a razão C/N com valores maiores para amostra de inflorescência, mostram perfeitamente que o material encontra-se em um estágio avançado de decomposição, confirmando

também que nem sempre um percentual maior de matéria orgânica é indício de um maior eutrofismo ambiental, pois o cacho seco encontra-se em estágio mais avançado de decomposição.

### Conclusões

Sabe-se que para o desenvolvimento das plantas é necessária uma concentração adequada de elementos químicos, adsorvidos em substâncias húmicas. Para que os vegetais possam utilizar a matéria orgânica humificada, torna-se necessário a transformação das complexas moléculas orgânicas em compostos humificados, solúveis na solução do solo. Foi observado então, que o cacho seco do dendê encontra-se em estágio mais avançado de decomposição, propiciando dessa forma a liberação com mais eficiência de nutrientes à cultura em

questão, propiciando a ciclagem de materiais essenciais para o processo biogeoquímico, portanto, participando ativamente do comportamento ecofisiológico da cultura, o mesmo acontecendo, em um escala pouco menor com amostra cacho seco, pois as duas amostras são utilizadas como adubo orgânico na área implantada pertencente a agroindústria, e pelos produtores por ela assistida.

<sup>1</sup> Tome JR, J. B. Manual para Interpretação de Análise de Solo. ED. Agropecuária. Guaíba/ RS. **1997**. 247p.

<sup>2</sup> Jackson, M. L. Análise Químico de Suelos. ED. Omega. 4º Edición. Barcelona/ Espanha. **1982**. 662p.

<sup>3</sup> Dias Correia, A. A. Bioquímica nos Solos, nas Pastagens e Forragens. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa / Portugal. **1981**. 789p.

<sup>4</sup> Schnitzer, M. and Khan, S. U-Soil Organic Matter – Developments in Soil Science 8. Elsevier Scientific Publishing Company. Fourth Impression. **1989**. 319p.

## Ácidos húmicos estimulam o desenvolvimento radicular através da via de transdução de sinal de auxina

Daniel B. Zandonadi\*<sup>1</sup> (PG), Lílian E. Pino-Nunes<sup>2</sup> (PG), Joni E. Lima<sup>2</sup> (PG), Lázaro E. P. Peres<sup>2</sup> (PQ) Arnoldo R. Façanha<sup>2</sup>(PQ), Luciano P. Canellas<sup>1</sup>(PQ)

<sup>1</sup>Laboratório de Solos, <sup>3</sup>Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, Avenida Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, CEP 28013-600 Campos - RJ. <sup>2</sup>Laboratório do Controle Hormonal do Desenvolvimento Vegetal, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ, Av. Pádua Dias, 11 CP. 09, 13418-900 Piracicaba, SP. \*e-mail: daniel@uenf.br.

Palavras Chave: H<sup>+</sup>-ATPase, "hairy roots", Micro-Tom.

### Introdução

Plantas mutantes insensíveis ou supersensíveis a ação hormonal são bastante úteis para entender as vias de sinalização envolvidas no controle de uma determinada resposta fisiológica<sup>1</sup>. O tomateiro mutante *diageotropica* (*dgt*) foi bem caracterizado quanto a sua resistência a auxina<sup>2,3,4</sup>. A redução da síntese de etileno e do alongamento de hipocótilos de tomate *dgt* já foram demonstrados<sup>3</sup>. Recentemente foi comprovado que a extrusão de H<sup>+</sup> induzida por auxina em tomate *dgt* é bastante reduzida em relação ao tomateiro normal<sup>1</sup>. Apesar de útil para elucidação das vias de sinalização celular os mutantes *dgt* ou, ainda, as raízes transformadas geneticamente ("hairy roots") supersensíveis a auxinas (eg. MT8196) não foram usadas no estudo da bioatividade de substâncias húmicas (SH).

O presente trabalho tem o objetivo de verificar o modo de ação dos ácidos húmicos (AH) no desenvolvimento radicular é dependente ou não da via de transdução de sinal de auxina. Para isso, foram utilizados genótipos de tomateiro supersensíveis (MT8196) ou insensíveis (*dgt*) a auxina (AIA).

### Material e métodos

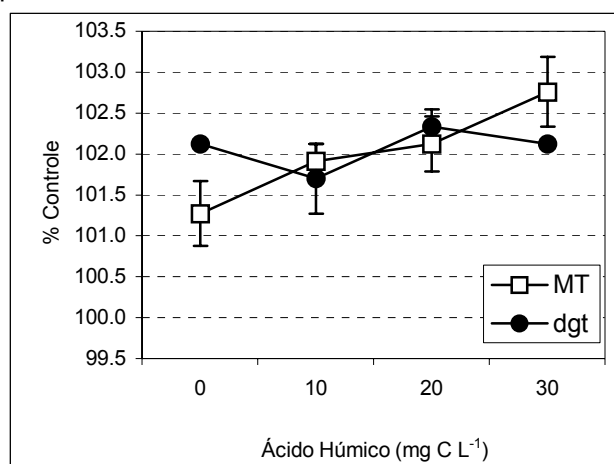
Sementes de tomate (*Lycopersicon esculentum*) do mutante *diageotropica* (*dgt*) insensível a AIA de porte micro e seu parente sensível a AIA (MT) foram esterilizadas e acondicionadas em papel para germinação no escuro a 28°C. As raízes *dgt* e MT foram transferidas para o meio de Bradford<sup>3</sup> suplementado com 0 e 20 mg C<sub>AH</sub> L<sup>-1</sup> extraído de vermicomposto<sup>5</sup>. As raízes transgênicas de tomate MT8196 supersensíveis a auxina foram repicadas a partir de meio sólido MS<sup>6</sup> e transferidas para a solução de Bradford<sup>3</sup> suplementada com AH. Todas as raízes permaneceram nas soluções durante 25 dias. As raízes foram coletadas para a avaliação do número de raízes emergidas. Outra amostra de raízes foi coletada e usada para obtenção de vesículas de membrana plasmática<sup>7</sup> (MP) para determinação da atividade<sup>8</sup> da H<sup>+</sup>-ATPase de MP.

Além disso, foi avaliada a sensibilidade de pecíolos de plantas MT e *dgt*<sup>9</sup> tratadas ou não com AH.

### Resultados e Discussão

A promoção do crescimento vegetal mediado pelas SH tem sido objetivo de muitos trabalhos. A maior parte destes relacionaram os efeitos estimulatórios das SH, principalmente na raiz, com a presença de grupamentos semelhantes as auxinas encontrados através de diferentes métodos, tais como, imunoensaios<sup>9,10</sup> ou cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas<sup>5</sup>. No presente trabalho, foi utilizado, pela primeira vez, plantas mutantes em respostas hormonais (*dgt* e MT8196) para a avaliação da atividade do tipo auxínica de AH.

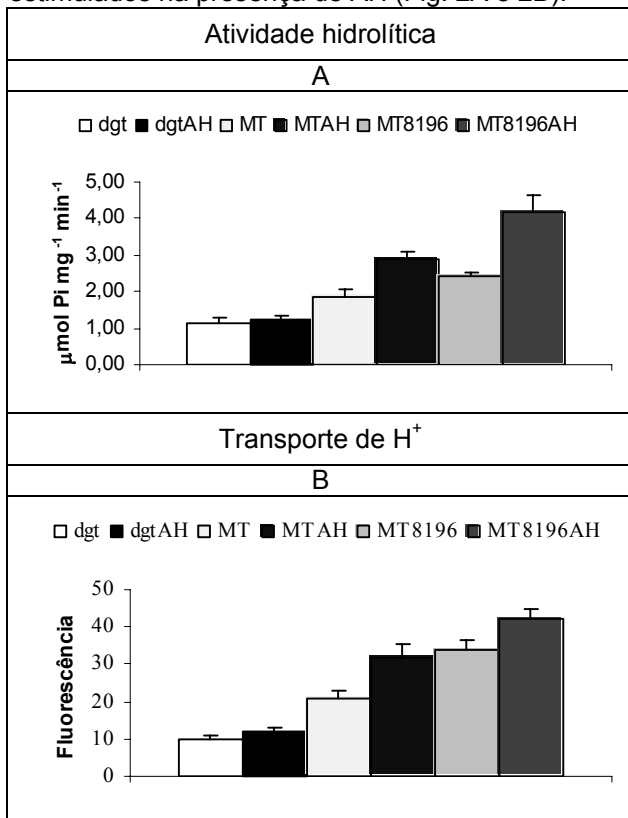
Os resultados confirmam que os AH apresentam uma atividade hormonal que usa a mesma via de sinalização da auxina. O efeito dos AH na promoção do desenvolvimento de raízes laterais nas plantas está relacionado com a auxina. A insensibilidade do tomate mutante *dgt* ao AIA já foi demonstrada<sup>3,4,9</sup>. Os AH, assim como o AIA, não induzem o alongamento de pecíolos de tomate *dgt* (Fig. 1) indicando que parte da ação dos AH neste fenômeno está relacionada com o efeito promovido pela auxina.



**Figura 1.** Expansão de pecíolos de MT (sensível a auxina) e *dgt* (pouco sensível a auxina) na presença de concentrações crescentes de AH.



Uma série de métodos fisiológicos, bioquímicos e eletrofisiológicos foram empregados para caracterizar o efeito da auxina sobre a extrusão de  $H^+$  em uma ampla variedade de tecidos vegetais<sup>12</sup>. O estímulo da extrusão de  $H^+$  devido a auxina é rápido (cerca de 10 minutos) e é atribuído tanto ao aumento da atividade quanto da quantidade de  $H^+$ -ATPases de MP. O aumento da quantidade desta enzima induzida por auxina em coleótilos de milho já foi demonstrado<sup>12,13</sup>. Ácidos húmicos também podem induzir a síntese de  $H^+$ -ATPase de MP<sup>5</sup>. A atividade da  $H^+$ -ATPase de MP foi alterada nos diferentes genótipos avaliados sob tratamento com AH (Fig. 2). Essa enzima participa de várias funções essenciais para o funcionamento normal das plantas como tolerância à salinidade, regulação do pH intracelular, expansão celular e ativação do transporte secundário<sup>14</sup>. A atividade e o transporte de  $H^+$  promovidos pela  $H^+$ -ATPase de MP no genótipo insensível (*dgt*) ao AIA não foram afetados pelo tratamento com AH. Os genótipos sensível (MT) e supersensível (MT8196) foram fortemente estimulados na presença de AH (Fig. 2A e 2B).

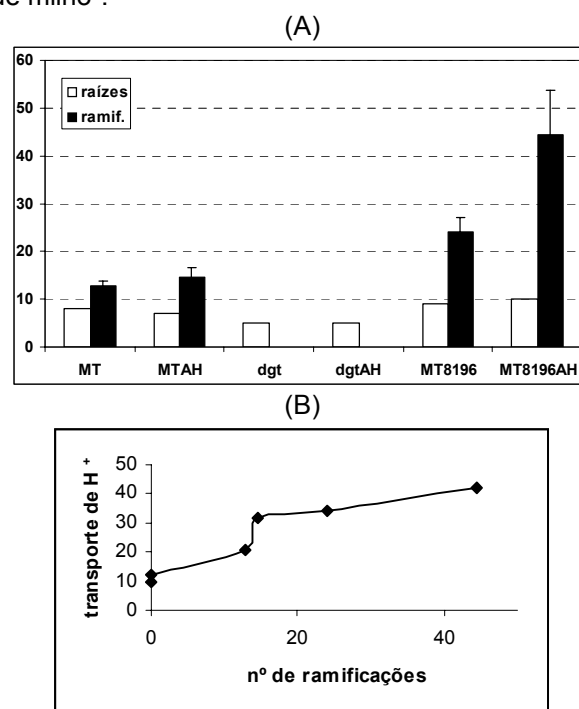


**Figura 2.** Atividade hidrolítica da  $H^+$ -ATPase de MP (A) e transporte de  $H^+$  (B) de vesículas isoladas de raízes MT (sensível a auxina), *dgt* (pouco sensível a auxina) e MT8196 (supersensível a auxina) cultivadas ou não na presença de ácidos húmicos (20 mg  $C_{AH} L^{-1}$ ).

A redução da acidificação dependente da  $H^+$ -ATPase de MP em segmentos de hipocótilo de tomate *dgt* foi descrita anteriormente<sup>1</sup>. No presente estudo, foi possível, além disso, confirmar a ação da

auxina sobre a regulação dessa bomba através da utilização do genótipo supersensível MT8196.

A não observação de qualquer efeito dos AH sobre a  $H^+$ -ATPase de MP no genótipo *dgt* é uma prova inequívoca de que os AH utilizam uma via dependente de auxina para estimulação desta bomba. A relação entre a localização de  $H^+$ -ATPases de MP nos ápices de raízes de milho e a formação de raízes laterais já foi estabelecida<sup>15</sup>. A diferenciação das células das raízes dos genótipos de tomate estudados foi bastante distinta (Fig 3A) e evidencia uma relação entre o bombeamento de  $H^+$  promovido pela  $H^+$ -ATPase de MP e a emissão de raízes laterais (Fig. 3B). Estes resultados estão de acordo com os descritos anteriormente em raízes de milho<sup>5</sup>.



**Figura 3.** Ramificação das raízes MT (sensível a auxina), *dgt* (pouco sensível a auxina) e MT8196 (supersensível a auxina) na presença de 20 mg  $C_{AH} L^{-1}$  (A) e relação com estímulo do transporte de  $H^+$  mediado pela ATPase de MP (B).

## Conclusões

Os dados apresentados no presente trabalho indicam que efeito que os AH exercem na promoção do enraizamento lateral nas plantas é do tipo auxínica. A utilização de mutantes insensíveis e supersensíveis a auxina fornecem argumentos irrefutáveis para um modo de ação do AH dependente da via de transdução de sinal de auxina.

## Agradecimentos

Ao CNPq (471910/2003-1) e IFS (c3391-1) pelo apoio financeiro.

<sup>1</sup>Coenem, C.; Bierfreund, N.; Lüthen, H. e Neuhaus, G. *Physiol. Plant.* **2002**, 114, 461-471.

<sup>2</sup>Zobel R. W. J. *Hered.* **1972**, 63, 91-97.

<sup>3</sup>Kelly M. O. & Bradford K., J. **1986**; *Plant Physiol.*, 82, 713-717.

<sup>4</sup>Muday G. K.; Lomax T. L. e Rayle D. L. **1995**, *Planta* 195, 548-553.

<sup>5</sup>Canellas, L.P.; Olivares, F. L.; Okorokova-Façanha, A. L. & Façanha A. R. *Plant Physiol.* **2002**, 1951-1957.

<sup>6</sup>Murashige, T.; Skoog, F. *Physiol. Plant.* **1962**, 15, 473-497.

<sup>7</sup>Façanha, A. R. & De Méis, L. *Plant Physiol.* **1995**, 108 (1), 241-246.

<sup>8</sup>De Michelis, M. I. & Spanswick, R. M. *Plant Physiol.* **1986**, 81:542-547.

<sup>9</sup>Pino-Nunes, L. E. Tese de Mestrado/ESALQ, **2005**, 1, 73p.

<sup>10</sup>Muscolo A.; Cutrupi S. e Nardi S, **1998**, 30, 1199-1201.

<sup>11</sup>Quaggiotti S.; Ruperti B.; Pizzeghello D.; Francioso O.; Tugnoli V. e Nardi S. *J. Exp. Bot.*, **2004**, 55, 803-813.

<sup>12</sup>Cleland, R. E. Auxin and cell elongation. In: *Plant hormones and their role in the plant growth development* **1995**, p. 214-227.

<sup>13</sup>Hager, A.; Debus G.; Edel H. G.; Stransky H. e Serrano R. *Planta*, **1991**, 185, 527-537.

<sup>14</sup>Frias I.; Caldeira M. T.; Perez C. J. R.; Navarro A. J. P.; Culianez M. F. A.; Kuppinger O.; Stransky H.; Pages M.; Hager A. e Serrano R. *Plant Cell* **1996**, 8, 1533-1544.

<sup>15</sup>Morsomme, P. & Boutry, M. *Bioch. Biophys. A. Biom.* **2000**, 1465 (1-2), 1-16.

<sup>16</sup>Jhan T.; Baluska F.; Michalke W.; Harper J. F. e Volkmann D. *Physiol. Plant.* **1998**, 104, 311-316.

## Teores de ácido húmico sobre a atividade de bombas de prótons em raízes transgênicas de trevo

Natália Pereira Zatorre<sup>1\*</sup> (IC), Wallace L. Lima<sup>2</sup> (PG), Leandro A. Santos<sup>2</sup> (PG), Carlos A. Bucher<sup>2</sup> (PG), Gabriel A. Santos<sup>3</sup> (PQ), Ricardo L. L. Berbara<sup>3</sup> (PQ), Sonia R. de Souza<sup>4</sup> (PQ)

<sup>1</sup> Estudante de Agronomia, Bolsista PIBIC/CNPq/UFRuralRJ; <sup>2</sup> Pós-Graduandos do CPGA-CS/UFRuralRJ; <sup>3</sup> Prof. Dep. Solos/UFRuralRJ; <sup>4</sup> Profª. Dep. Química/UFRuralRJ. \*e-mail: zatorre@ufrj.br

Palavras Chave:  $P H^+$ -ATPases,  $V H^+$ -ATPases e  $H^+$ -PPases.

### Introdução

Um dos principais constituintes orgânicos presentes no solo são as substâncias húmicas (SH) que podem ser classificadas como ácido húmico (AH), presente em maior quantidade, ácido fúlvico e humina<sup>(1)</sup>. As SH participam de importantes reações que ocorrem nos solos, influenciando a fertilidade pela liberação de nutrientes, pela detoxificação de elementos químicos, pela melhoria das condições físicas e biológicas<sup>(2)</sup> que podem influenciar no desenvolvimento radicular e na ativação das bombas de prótons o que poderia ser um dos sinais primários da ação das substâncias húmicas na absorção de nutrientes pelas plantas<sup>(3)</sup>.

As bombas de prótons são responsáveis em gerar um potencial eletroquímico na membrana plasmática ( $P H^+$ -ATPase) e vacúolo ( $V H^+$ -ATPase e  $H^+$ -PPase), que permitem a absorção e remobilização de nutrientes pela célula, importantes para seu desenvolvimento e podem ter sua atividade aumentada pela presença de AH proporcionado pelo aumento da permeabilidade da membrana plasmática<sup>(4)</sup>.

A  $P H^+$ -ATPase é uma bomba de  $H^+$  eletrogênica, isto é, estabiliza um potencial na membrana que serve como suprimento primário de energia para a absorção de nutrientes e manutenção do turgor celular<sup>(5,6)</sup> e duas bombas protônicas distintas foram encontradas na membrana vacuolar (tonoplasto) que ambas contribuem para gerar um gradiente eletroquímico de  $H^+$  usando energia derivada da hidrólise de ATP e PPi, respectivamente<sup>7</sup>.

Diante de efeitos tão diversos, os alvos para estudos da interação SH-planta são difíceis de serem estabelecidos, particularmente devido à natureza complexa da estrutura das SH e da diversidade bioquímica do organismo vegetal.

O objetivo deste trabalho foi determinar a atividade das bombas de prótons,  $P H^+$ -ATPases,  $V H^+$ -ATPases e  $H^+$ -PPases, em raízes transgênicas de trevo, cultivadas com diferentes teores de AH após 60 dias da repicagem das raízes.

### Material e Métodos

Raízes transgênicas de trevo (*Trifolium repens* L.), foram cultivadas em placas Petri contendo meio mínimo<sup>(8)</sup> modificado, adicionado de Bacto-Agar para solidificação, enriquecido com AH, proveniente de vermicomposto. O AH foi extraído<sup>4</sup> e adicionado ao meio de cultivo antes da autoclavagem, em adições crescentes, sendo: 1) controle (0 mg C.L<sup>-1</sup>); 2) 10 mg C.L<sup>-1</sup>; 3) 20 mg C.L<sup>-1</sup>; 4) 40 mg C.L<sup>-1</sup> e 5) 80 mg C.L<sup>-1</sup>. O pH do meio foi corrigido para 5,5 com HCl 0,01 M.

Sessenta dias após a repicagem das raízes, foram feitas as extrações de vesículas de plasmalema por fracionamento celular<sup>(9,10)</sup>, com modificações. Depois de extraídas as vesículas foram congeladas a -25°C e estocadas para posterior determinação das atividades hidrolítica da  $P H^+$ -ATPases<sup>10</sup> através da quantificação colorimétrica de fosfato (Pi) liberado na hidrólise pela reação<sup>11</sup> na presença e ausência de Vanadato 200  $\mu$ M e a atividade das  $H^+$ -PPase foram determinadas pela presença e ausência de potássio ( $K^+$ ) 100mM<sup>12</sup>.

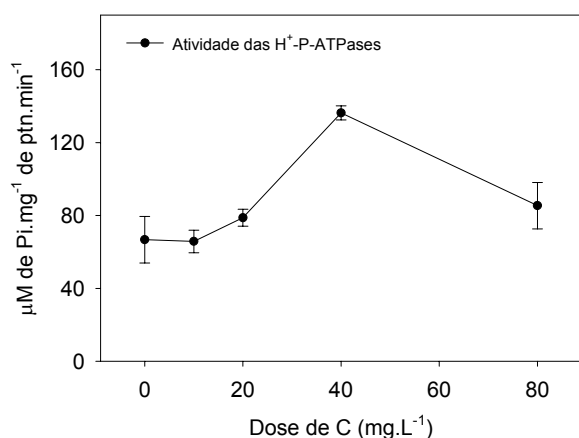
### Resultados e Discussão

Substâncias presentes no solo, como os ácidos húmicos, podem estimular a síntese ou um aumento na atividade das  $H^+$ -ATPases de membrana plasmática criando uma maior acidificação da rizosfera resultando em gradientes que favorecem a absorção de íons<sup>16</sup>. Na Figura 1 pode-se notar que houve diferença quanto ao comportamento do bombeamento de prótons ao adicionar AH no meio de cultura para o desenvolvimento das raízes transgênicas, estimulando de modo diferenciado, a atividade hidrolítica da  $P H^+$ -ATPase nas concentrações estudadas.

Foi observado um maior estímulo na concentração de 40 mg de C.L<sup>-1</sup>, o que sugere ser a concentração de AH a mais eficiente em estimular a atividade da  $H^+$ -ATPase da membrana plasmática. Nas demais concentrações não houve diferenças significativas na sua atividade.

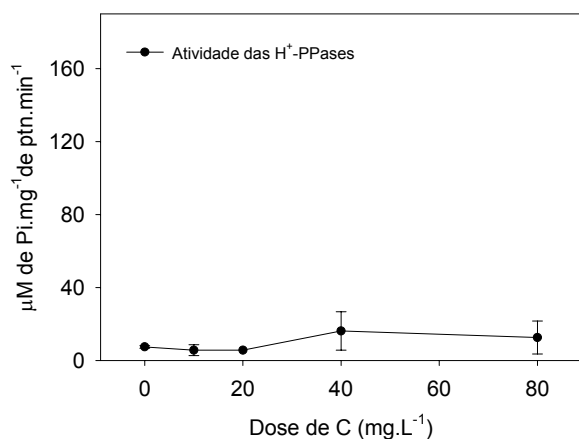
As  $H^+$ -ATPases de membrana plasmática são proteínas chaves para a absorção de nutrientes influenciando o metabolismo e a adaptação de

planta ao meio ambiente, e podem ser consideradas alvos sensíveis para a identificação de respostas da atividade biológica das SH e a ativação diferenciada da  $P H^+$ -ATPase pode ser decorrente da presença do ácido húmico na solução e condições de desenvolvimento.



**Figura 1.** Atividade específica da  $H^+$ -ATPase de membrana plasmática de raízes geneticamente modificadas cultivadas em meio mínimo modificado contendo diferentes concentrações de ácido húmico (mg C.L<sup>-1</sup>).

Em plantas, o PPI tem sido considerado um substrato alternativo ao ATP, podendo ativar o metabolismo em condições de estresse energético, quando ocorre a depleção dos níveis de ATP citossólico<sup>13</sup>. Uma hipótese recente descreve um possível acoplamento entre as duas bombas de prótons vacuolares, onde o gradiente eletroquímico gerado pela  $H^+$ -PPase energizaria a reversão do ciclo catalítico da  $H^+$ -ATPase, favorecendo a síntese de ATP<sup>7</sup>.



**Figura 2.** Atividade específica da  $H^+$ -PPase do tonoplasto de raízes geneticamente modificadas cultivadas em meio mínimo modificado contendo

diferentes concentrações de ácido húmico (mg C.L<sup>-1</sup>).

Foi observado um baixo estímulo das  $H^+$ -PPase, o que pode ser decorrente das diferentes concentrações de AH adicionadas ao meio de cultura, e por estes AH poderem apresentar natureza químicas diferenciadas<sup>14</sup>.

## Conclusões

1. A concentração de 40 mg C.L<sup>-1</sup> foi a que proporcionou a maior atividade das  $P H^+$ -ATPase nas raízes transgênicas de trevo.
2. Os ácidos húmicos estimularam de modo diferenciado as atividades das  $P H^+$ -ATPases e  $V H^+$ -ATPases.
3. Foi observado um sincronismo entre as  $H^+$ -PPase vacuolares e as  $H^+$ -ATPase da membrana plasmática.

## Referencias Bibliográficas

1. Piccolo, A. The supra molecular structure of humic substance Soil Science. 166, 810 – 832, .2001.
2. Santos, G. A. & Camargo, F. A. O. Fundamentos da matéria orgânica: Ecossistema Tropicais e Subtropicais. Porto Alegre: Gênese, p69-90, 1999.
3. Vaughan, D. & Malcolm, R. E. Influence of humic substances on growth and physiological process. In: Vaughan, D.; Malcolm, R. E. (Ed.). Soil organic matter and biological activity. Dordrecht: Kluwer Academic, 1985. p. 37-75.
4. Canellas, L.P.; Olivares, F.L.; Façanha, A.L.O. & Façanha, A.R. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane  $H^+$ -ATPase activity in maize roots. Plant Physiology, 130: 1951-1957, 2002.
5. Sze, H.  $H^+$ -Translocating ATPases: advances using membrane vesicles. Annual Rev. Plant Physiol. V. 36, p. 175 – 208, 1985.
6. Palmgren, M. G. Plant plasma membrane  $H^+$ -ATPase s: powerhouses for nutrient uptake. Annu. Rev. Plant Mol. Biol. 52:817-45.2001.
7. Façanha, A. R., & De Meis, L. Reversibility of  $H^+$ ATPase and  $H^+$ -Pyrophosphatase in tonoplast vesicles from maize coleoptiles and seeds. Plant Physiol., 116 , p. 1487-1495, 1998.
8. Bécard, G. & Fortin, J. A. Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed roots. New Phytol., 108: 211-218, 1988.
9. De Michelis, M. I. & Spanswick, R. M.  $H^+$ -pumping driven by vanadate sensitive ATPase in membrane vesicles from corns roots. Plant Physiology, 81: 542-547. 1986.
10. Yan, F.; Zhu, Y.; Muller, C.; Zorb, C. & Schubert, S. Adaptation of  $H^+$ -Pumping and Plasma Membrane  $H^+$ ATPase Activity in Proteoid Roots of White Lupin under Phosphate Deficiency. Plant Physiology, v.129, p.50-63, 2002.
11. Fiske, C. F. & Subbarow, Y. The colorimetric determination of phosphorus. Journal of Biological Chemistry, 66: 375. 1925.
12. Yang, S.; Maeshima, M.;Tanaka, Y. & Komatsu, S. Modulation of vacuolar  $H^+$ - pumps and aquaporins by phytohormones in rice seedling leaf sheaths. Biol. Pharm. Bull. v. 26(1), p.88-92, 2003
13. Stitt, M. Pyrophosphate as na energy donor in the cytosol of plant cells: an enigmatic alternative to ATP. Bot. Acta, v.111. p167-175, 1998.
14. Nardi, S.; Pizzeghello, D.; Reniero, F. & Muscolo, A. Biological activity of humic substances extracted from soils under different vegetation cover. Communications in Soil Science and Plant Analysis, New York, v. 30, p. 621-634, 1999.

## Seção 2



Todos os resumos publicados neste livro são reproduções de cópias fornecidas pelos autores. O conteúdo dos resumos é de responsabilidade exclusiva dos autores. O Comitê Organizador do VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas não se responsabiliza pelas conseqüências do uso de qualquer dado, afirmação ou opinião publicada neste livro.



## Varição da hidrofobicidade de hematita e quartzo na presença de ácido húmico e dodecilamina

Iranildes Daniel dos Santos (PG), Edgard Suzano da Silva (IC), José Farias de Oliveira (PQ)\*

Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais – COPPE/UFRJ

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ. \*e-mail: oliveira@metalmat.ufrj.br

Palavras Chave: Ácido Húmico, hidrofobicidade e Flotação.

### Introdução

As substâncias húmicas são geralmente classificadas de acordo com a solubilidade em meio aquoso: as huminas são insolúveis, os ácidos fúlvicos são solúveis em qualquer faixa de pH e os ácidos húmicos (AH) insolúveis em pH menor que 2 [1]. A estrutura do AH ainda não se encontra perfeitamente estabelecida podendo, no entanto, ser descrita como uma associação de ligações covalentes, constituídas por cadeias alifáticas e aromáticas, contendo vários grupos funcionais, dos quais podemos destacar os fenólicos e os carboxílicos [2]. Estudos realizados por Ramos-Tejada *et al.* [3] e Illés *et al.* [4] revelaram que a adsorção de macromoléculas de AH em partículas minerais pode modificar suas propriedades físico-químicas de superfície tornando-as hidrofílicas. Através deste mecanismo, a adsorção de AH está relacionada à molhabilidade de solos.

O Estado do Rio de Janeiro possui grandes jazidas de turfa na região de Itaboraí, Saquarema e Jacaré, que poderão vir a ser uma importante fonte de matéria-prima para a produção de ácido húmico, que poderá atender ao mercado consumidor, acarretando oferta de trabalho e geração de receita em impostos para o Estado.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo estudar a variação da hidrofobicidade da hematita e do quartzo na presença de ácido húmico e dodecilamina (DDA), com a finalidade de uma possível utilização desses reagentes como depressor na separação seletiva de minerais.

### Metodologia

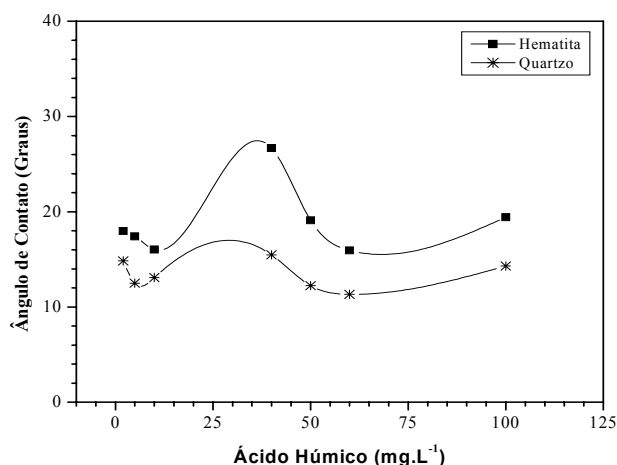
As amostras de hematita e quartzo utilizadas nos experimentos fazem parte do acervo do Laboratório de Tecnologia Mineral-LTM (COPPE/UFRJ). As medidas de ângulo de contato da hematita e do quartzo foram realizadas em goniômetro computadorizado Ramé-Hart. Antes de cada medida de ângulo de contato, o pH da solução era ajustado e as amostras eram condicionadas sob leve agitação por um determinado período de tempo. Nos ensaios realizados utilizando-se ácido húmico na presença de dodecilamina, a amostra era condicionada por 5 minutos na presença de AH e posteriormente por mais 5 minutos após adição da

DDA. Para medir o ângulo de contato uma bolha de ar era depositada sob a superfície do mineral. Os resultados representam a média aritmética de três bolhas.

Os testes de microflotação de hematita e quartzo isoladamente na presença do AH e da DDA em pH 10,2 foram realizados em célula EMDEE.

### Resultados e Discussão

Superfícies polidas de hematita e quartzo foram caracterizadas quanto à sua hidrofobicidade na presença de soluções de ácido húmico através de medidas de ângulo de contato. A Figura 1 apresenta a variação do ângulo de contato da hematita e do quartzo em função da concentração de AH em pH 10,2. Observa-se que o AH torna a superfície do quartzo mais hidrofílica em relação à hematita, uma vez que os valores de ângulo de contato do quartzo são inferiores aos obtidos para a hematita em toda a faixa de concentração estudada para os dois minerais.



**Fig. 1** Variação do ângulo de contato da hematita e do quartzo em função da concentração de ácido húmico em pH 10,2, após 10 minutos de condicionamento sob leve agitação.

No entanto, com a adição subsequente da dodecilamina o processo é invertido, ou seja, o quartzo torna-se hidrofóbico em relação à hematita, indicando a possibilidade de este reagente ser utilizado como depressor na flotação seletiva de minerais. Este efeito pode ser observado na Figura 2 que apresenta a variação da hidrofobicidade da hematita e do quartzo em função da concentração

de ácido húmico na presença de  $20 \text{ mg.L}^{-1}$  de DDA em pH 10,2. Verifica-se que o ângulo de contato do quartzo é maior que o da hematita em toda faixa de concentração analisada.

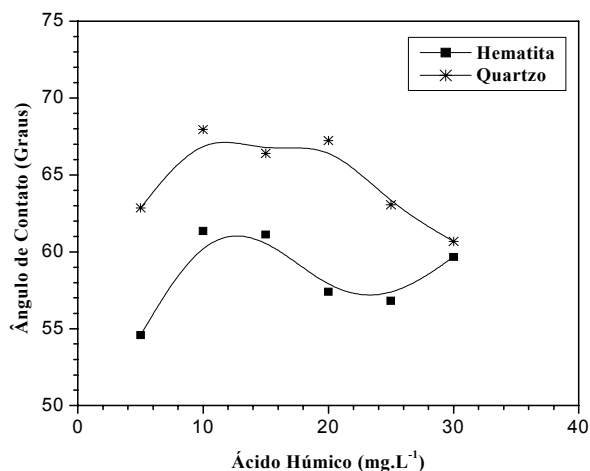


Fig. 2 Variação do ângulo de contato da hematita e do quartzo em função da concentração de AH na presença de  $20 \text{ mg.L}^{-1}$  de DDA em pH 10,2. Tempo de condicionamento: 5 minutos para ambos os reagentes.

Com o objetivo de verificar a influência da concentração de dodecilamina na variação do ângulo de contato da hematita e do quartzo, foram realizados ensaios mantendo-se constante a concentração de ácido húmico em  $20 \text{ mg.L}^{-1}$  e o pH em 10,2. Os resultados apresentados na Figura 3 mostram o aumento da hidrofobicidade do quartzo em relação à hematita, indicando a importância da concentração de DDA na variação do ângulo de contato.

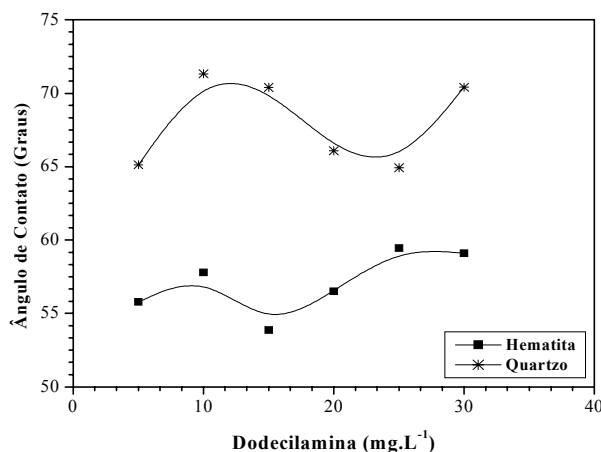


Fig. 3 Variação do ângulo de contato da hematita e do quartzo em função da concentração de DDA na presença de  $20 \text{ mg.L}^{-1}$  de AH em pH 10,2. Tempo de condicionamento: 5 minutos para ambos os reagentes.

A Figura 4 apresenta a variação da porcentagem de hematita e quartzo flotado em função da concentração de DDA, na presença do depressor, AH em pH 10,2. Observa-se inicialmente que os dois minerais apresentam comportamento

semelhante. Porém, verifica-se que a partir de  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  de DDA o quartzo apresenta maior flotabilidade, atingindo recuperação acima de 85% para uma concentração de  $15 \text{ mg.L}^{-1}$  de coletor. A partir desta concentração há uma considerável queda na flotação, evidenciando a importância do controle da concentração do coletor para manter-se a seletividade.

Pela figura 4 observa-se ainda que no caso da hematita, tem-se um aumento gradual da flotação com o aumento da concentração.

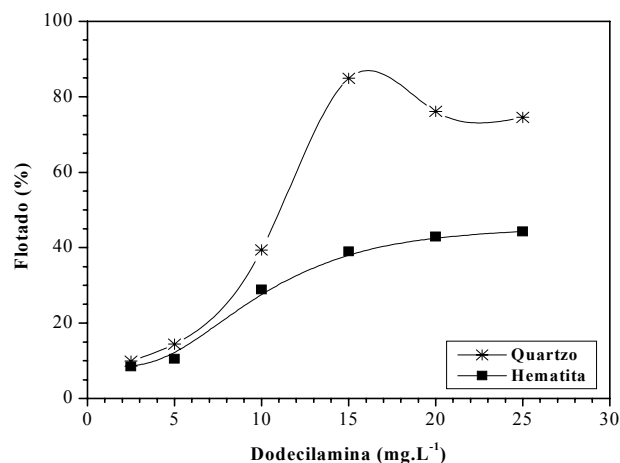


Fig. 4 Variação da porcentagem de hematita e quartzo flotado em função da concentração de AH na presença de  $15 \text{ mg.L}^{-1}$  de DDA em pH 10,2. O tempo de condicionamento do AH e da DDA foi de 5 e 1 minuto, respectivamente

## Conclusões

As medidas de ângulo de contato da hematita e do quartzo na presença de AH mostraram que esta macromolécula orgânica reduz de forma significativa a hidrofobicidade do quartzo em relação à hematita. Observou-se ainda que o AH na presença da DDA torna o quartzo hidrofóbico em relação a hematita, ou seja neste sistema o quartzo apresenta valores de ângulo de contato superiores ao da hematita. Os resultados de ângulo de contato foram confirmados nos ensaios de microflotação, que mostraram que é possível a utilização do AH como depressor na flotação seletiva desses minerais. E dependendo da concentração de DDA pode-se ter uma flotação do quartzo elevada.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pelo apoio financeiro ao projeto (Edital Universal) e pela bolsa de mestrado concedida (I.D.S.)

<sup>1</sup> Rauen, T.; Grando, D. A.; Serra, M. M.S. Química Nova, 2002, v.25, n.6

<sup>2</sup> Bryan, N. D.; Jones, M. N. Advances in Colloid and Interface Science. 1998, 78, 1-48.

<sup>3</sup> Ramos-Tejada, M. M., Jun, W., Katsoyannis, I. A. Colloids and Surface A, Physicochem. Eng. Aspects. 2003, 268, 85-95.

<sup>4</sup> Illés, E.; Tombácz, E. Colloids and Surface A, Physicochem. Eng. Aspects. 2004, 230, 99-109.

## Determinação da matéria orgânica em solos por método oxidimétrico modificado

Andrea Oliveira<sup>1\*</sup>(PG), Marcilene Ferrari Barriquello<sup>1,2</sup>(PQ), Eduardo Almeida Neves<sup>1</sup>(PQ)

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos – Departamento de Química, Caixa Postal 676, 13565-905, São Carlos – S.P. – Brasil.

<sup>2</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, Caixa Postal 741, 13560-970, São Carlos – S.P. – Brasil.

\*e-mail: aoliveira@dq.ufscar.br

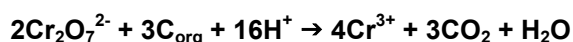
Palavras Chave: matéria orgânica (MO), oxidimetria, solos

### Introdução

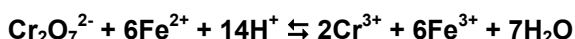
A matéria orgânica MO presente no solo, juntamente com seus componentes inorgânicos, desempenha importantes funções que acabam afetando diretamente a química dos solos, garantindo-lhe a fertilidade.

Solos que contém certos teores de MO geralmente apresentam um significativo aumento na sua capacidade de retenção de água, aeração e agregação. Como a MO é de origem biológica, procedente de plantas mortas e de restos de animais, é considerada uma fonte vital de carbono, sendo este de grande importância tanto para a macro como a microflora. Além do que, é uma grande fornecedora de principais macronutrientes como, N, P e S, também Ca Mg e Fe, e ainda diversos micronutrientes tais como B, Se, Mo, etc.

A fim de se determinar o teor de MO contida em diversos solos, várias metodologias têm sido propostas<sup>1-4</sup>; algumas destas baseando-se no teor de cinzas por calcinação até massa constante a 450<sup>o</sup> ou 750<sup>o</sup>C. Entretanto a maior parte destas metodologias baseia-se na oxidação da MO a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O por íons de dicromato em meio fortemente ácido (ácido sulfúrico), conforme reação a seguir:



Nesta reação, considera-se o dicromato consumido equivalente ao carbono orgânico existente na amostra de solo, e o excesso de dicromato é então titulado com íons ferrosos, Fe(II) obtidos a partir de uma solução previamente padronizada de sulfato ferroso. Nestas titulações a indicação visual do ponto final é detectada empregando-se o indicador redox de difenilamina, juntamente com ácido fosfórico para complexar o Fe(III) formado:



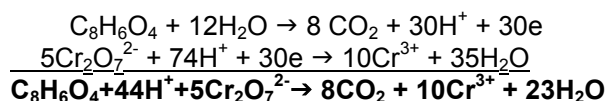
Há também indicações na literatura para se quantificar o Cr(III) formado por meio de medidas espectrofotométricas, embora isto não seja muito recomendado, visto que a absorvidade molar do produto é facilmente afetada por pequenas variações na composição do meio de reação<sup>5</sup>.

### Resultados e Discussão

A determinação da matéria orgânica em amostras ambientais é geralmente uma análise bastante rápida e quantitativa. Em um dos procedimentos utiliza-se dicromato como um de seus sais, como por exemplo, o dicromato de potássio ou de sódio, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> ou Na<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, sendo este dissolvido em concentração alta de ácido sulfúrico, resultando em um poderoso agente oxidante<sup>1</sup>.

A oxidação da MO em método bem estabelecido<sup>2</sup>, inclusive para se obter a Demanda Química de Oxigênio, COD, ocorre em uma solução de menor poder oxidante, diluída em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. Promove-se ebulição em refluxo por um tempo relativamente longo de aproximadamente 2 horas. Após, titula-se o excesso de íons de dicromato com solução padrão de Fe(II), em presença de ácido fosfórico.

Para estes procedimentos oxidimétricos é bem aceita a idéia de se utilizar como padrão de matéria orgânica, em razoável aproximação, o biftalato de potássio, embora diversos autores tenham sugerido fatores de correção, visto que a estequiometria redox de uma mistura de compostos orgânicos se afasta um pouco do que se espera para o padrão de biftalato. Em meio ácido o íon biftalato libera ácido ftálico C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>, contendo 57,84% de carbono; 3,64% de hidrogênio; 38,52% de oxigênio e massa molar 166,13 g mol<sup>-1</sup>. A oxidação a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O constitui um processo de Z=30 elétrons realizada por íon do dicromato em meio fortemente ácido, reagente Z = 6 elétrons, conforme o esquema abaixo:



Extensão deste processo, com algumas modificações foi feito conforme consta em literatura nacional<sup>3</sup>, seguindo indicações da literatura internacional<sup>4,6</sup>, onde adiciona-se H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> de alta concentração em solução padrão de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, contendo um certo volume de solo. Em algumas metodologias, a súbita adição, por exemplo, de 20 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (98% m/m) em 10,00 mL de dicromato padrão 0,1270 mol L<sup>-1</sup> (1N), contendo certa massa da amostra, gera temperatura elevada,

algo acima de 110°C, que combinada com a alta acidez livre no meio reacional, cria condições drásticas de oxidação da MO, dispensando longo tempo de refluxo. A oxidação da matéria orgânica é rápida e em poucos segundos observa-se significativa mudança da cor laranja para verde. Após esfriar a solução (cerca de 30 minutos), titula-se com solução padrão de Fe(II) o excesso do dicromato não reagido, por indicação visual, empregando indicador redox de difenilamina, em presença de 10 mL de ácido fosfórico. Entretanto esta viragem visual é algo precária, pois a viragem da coloração da solução ocorre da seguinte forma: marrom esverdeado → verde musgo → azul intenso → verde. A visualização destas etapas não é muito bem definida pelo olho humano levando possivelmente a erros experimentais para o volume equivalente, obtendo-se, portanto resultados não confiáveis. Daí se pensar em um método instrumental como a potenciometria para determinação do volume final.

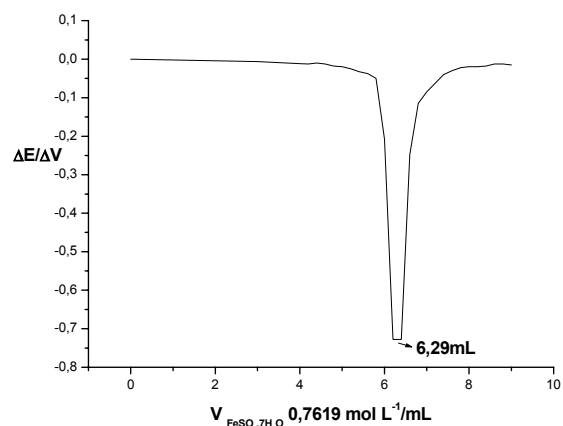
Otimizando este procedimento relatado nesta comunicação, obtiveram-se alguns resultados bastante interessantes. Verificou-se em diversos testes que:

1) a proporção de volume de ácido sulfúrico para um volume de solução aquosa poderia cair da proporção de 2:1 para 1:1. Assim, em várias experiências com 12,00 mL de solução aquosa de dicromato padrão, contendo certa massa da amostra em suspensão ou em solução, emprega-se 12,00 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc.. Ocorre elevação da temperatura do meio reacional para aproximadamente 105°C.

2) O volume de dicromato de potássio padrão utilizado foi 6,00 mL de concentração em torno de 0,25-0,33 mol L<sup>-1</sup> (quase saturada), + 5,00 mL de biftalato de potássio 0,03004 mol L<sup>-1</sup> (0,9012 N) completado a 12,00 mL com água destilada. O dicromato de potássio e o biftalato de potássio foram usados como padrões primários.

3) Verificou-se também que nestas condições a oxidação do ácido ftálico liberado neste meio oxidante é rápida e quantitativa, conforme consta na determinação do fator Z elétrons do agente redutor.

4) A titulação do excesso de íons de dicromato com solução padrão de (FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,750 mol L<sup>-1</sup>) foi realizada potenciométricamente, com menor erro quando comparado com a indicação visual, dispensando-se então o emprego de ácido fosfórico. Para a realização desta titulação, empregou-se eletrodo indicador de grafite, combinado com eletrodo de referência Ag/AgCl,KClsat.. O gráfico abaixo mostra uma curva potenciométrica derivativa típica para o cálculo do volume final.



**Figura 1.** Curva potenciométrica derivativa ( $\Delta E/\Delta V$ ) em função do volume de solução padrão de FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,7619 mol L<sup>-1</sup>, referente à titulação potenciométrica de 50 mg de café (produto convencional) após completa oxidação da MO.

**Tabela 1.** Valores experimentais obtidos para o fator Z

Número de determinações	Valor de Z encontrado
1	29,946
2	29,921
3	29,935
4	29,659
5	29,775
6	30,009
7	29,932
8	29,880
9	29,895
10	30,105

Para um intervalo de confiança de 95%, tem-se 29,91 ± 0,09, isto é, ± 0,30%

5) Neste procedimento o número experimental de Z elétrons envolvidos na oxidação do ácido ftálico dispensa o uso do branco convencional sendo este mais confiável, pois provém de apreciável consumo do agente oxidante. O valor encontrado Z=29,91±0,09 é muito próximo do teórico, Z=30e, para um intervalo de confiança de 95%, proveniente de várias determinações, comprovando que a reação é quantitativa, como mostrado na Tabela 1 acima.

É importante mencionar que ao se usar a proporção convencional 2:1 (Vácido/Vsolução

aquosa), obteve-se, ao contrário do esperado, um valor de apenas  $Z=25,71$ , indicando menor poder oxidante do dicromato e conseqüente oxidação incompleta do ácido ftálico. Esta diminuição do poder oxidante pode ser interpretada como uma diminuição da atividade do Cr(VI) por sua polimerização além da forma dímica,  $Cr_2O_7^{2-}$ . Isto explica porque alguns autores usam um fator de correção para oxidação incompleta.

6) Programas em QuickBASIC foram utilizados para facilitar os cálculos. Um deles, **Zredut**, para o cálculo do fator Z com uso dos dados experimentais das titulações. Uma vez determinado o valor médio de Z, outro programa, **Zorganic**, utiliza este valor para calcular o teor de matéria orgânica nas amostras em estudo, seguindo o procedimento oxidimétrico acima mencionado. As saídas de dados são mostradas abaixo para os dois programas, para um determinado cálculo típico.

#### PROGRAMA Zredut

Calcula o valor de Z de agente REDUTOR em teste oxidimétrico

[TITULANTE OXIDANTE] (molar)? .3341  
Z DO TITULANTE? 6  
VOLUME TITULANTE, ml? 5.01  
[TITULANTE REDUTOR] (molar)? .7684  
Parâmetro Z do TITULANTE REDUTOR? 1  
[ANALITO] (molar)? .03004

V mL ANALITO? 7  
V mL titulante de RETORNO? 4.875  
**Zredut = 29.906**

#### PROGRAMA Zorganic

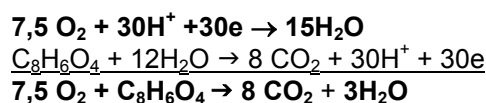
Calcula a massa e COD de substâncias orgânicas em solos por método oxidimétrico

[TITULANTE OXIDANTE] (molar)? .3341  
Z DO TITULANTE? 6  
VOLUME TITULANTE, ml? 5.01  
[TITULANTE REDUTOR] (molar)? .7619  
Parâmetro Z do TITULANTE REDUTOR? 1  
Parâmetro Z ac.ftálico, corrigido, ? 29.906  
Fator f corrigindo Ze do analito ? 1

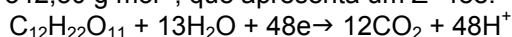
Gramas da amostra titulada? .0210  
V mL titulante de RETORNO? 8.616  
Gramas de matéria orgânica = 1.932E-02  
**% de matéria orgânica 9.202E+01**  
**COD em mg de oxigênio/g de solo = 1.329E+03**

Os cálculos se baseiam nos balanços de massa com as amostras tituladas nas mesmas condições do padrão de biftalato de potássio, isto é, pela equivalência com a massa molar do ácido ftálico,  $166,13 \text{ g mol}^{-1}$ . O programa **Zorganic** aceita

também, se necessário, um fator de correção estequiométrico. Não havendo correção, o fator é 1,000. Além disso, este programa calcula ainda a demanda química de oxigênio, COD, em mg de oxigênio por gramas de solo, baseado na equivalência para a seguinte reação redox:



Alguns testes foram realizados, tendo como bom exemplo a oxidação da sacarose anidra, massa molar  $342,30 \text{ g mol}^{-1}$ , que apresenta um  $Z=48\text{e}$ :



Transportando para a massa molar  $166,13 \text{ g mol}^{-1}$ , por regra de três simples, obtém-se um processo de 23,49 elétrons. O fator de correção estequiométrico a ser introduzido no programa é então  $(30/23,49) = 1,277$ . Na análise de sacarose anidra obteve-se um teor de **99,9%** de matéria orgânica, mostrando que os balanços de massa no programa estavam corretos e que a oxidação foi completa. Para o amido de milho, após correção de significativo valor de hidratação (~12% de água), obteve-se um teor de matéria orgânica de **97,7%**. Amostras de café em pó de forma solúvel e convencional apresentaram um teor de matéria orgânica de **70,6%** para o solúvel, e **92,0%** para o produto convencional. Para estas análises, massas da ordem de 50 mg foram tratadas.

Em uma destas amostras foi feito o tratamento convencional, usando-se o dobro do volume de ácido sulfúrico (relação 2:1). Neste caso o fator **Z=25,71** foi utilizado no programa **Zorganic**, para análise do resultado experimental, mostrando resultado comparável ao proposto neste trabalho. Isto mostra excelente compensação deste fator, usado como branco, compensando a oxidação incompleta.

Observou-se que carvão não é oxidado, o que pode ser interessante em análise de solos, já que somente a matéria orgânica ativa, contendo grupos vulneráveis à oxidação, reage com o agente oxidante. Este fato é bastante importante para o controle do seqüestro de carbono como matéria orgânica ativa no solo, trocável com cátions, cujo valor pode continuar aumentando dentro dos princípios da agricultura moderna de plantio direto. Ao contrário, carvão vegetal incorporado ao solo é inativo, proveniente de queimadas, comportando-se como material inerte, o que não ocorre com as substâncias húmicas.

Amostras de vermicomposto, previamente secas a temperatura de aproximadamente  $40^\circ\text{C}$ , tomando o cuidado para não degradar a MO também foram analisados, apresentando teores de matéria orgânica nas imediações de **15-20%**. Amostras de substâncias húmicas como ácido húmico, AH



também foi analisada apresentando um teor de matéria orgânica em torno de **78,6%**.

Nestas amostras a simples observação visual mostrou não restar traços de matéria orgânica não oxidada, de coloração escura. Restava apenas material inorgânico incolor, sílica ou alumina.

Os estudos deverão se completar com um exame comparativo entre os resultados da titulação oxidimétrica e o que se observa no teor de cinzas por calcinação a uma temperatura de 450° ou 750°C. Cabe também questionar o uso de um fator de correção para maior confiabilidade do resultado analítico. Por exemplo, tomando-se dados da literatura<sup>7</sup>, obteve-se de 52 amostras de substâncias húmicas a seguinte composição média, percentual: C = 55,08 ± 0,35; H = 5,25 ± 0,24; N = 3,08 ± 0,17; S = 0,73 ± 0,11 e O = 35,90 ± 0,75. Com base nesta composição média calculou-se um fator Z = 33,77 elétrons, para oxidação equivalente à massa molar de 166,13 g mol<sup>-1</sup> (ácido ftálico). Neste caso o fator de correção estequiométrico ainda não utilizado foi def = 0,8883.

### Conclusões

As seguintes principais conclusões que podem ser obtidas deste trabalho são:

1) O método oxidimétrico baseado no uso de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para oxidar substâncias orgânicas em solos é rápido e eficiente.

2) A modificação feita em diminuir o teor de ácido sulfúrico de 2:1 para 1:1, em volumes com a fase aquosa se mostrou adequada. O calor liberado foi suficiente para a oxidação quantitativa do padrão de biftalato de potássio, liberando ácido ftálico, evidenciado pelo fator estequiométrico próximo a Z=30.

3) A detecção do ponto final da titulação do excesso de dicromato com ferro(II) é feita por titulação potenciométrica, dispensando-se o uso de ácido fosfórico.

4) A eficiência da oxidação do padrão é evidenciada pelo número de elétrons envolvido na oxidação do ácido ftálico, Z=29,91±0,09, muito próximo do valor teórico, conforme cálculos efetuados em programa QuickBASIC.

Ao contrário, comprovou-se que o processo convencional (relação 2:1 do ácido/solução) leva a oxidação incompleta do padrão ácido ftálico, Z=25,71.

5) Este valor de Z=29,91 experimental é utilizado como branco da reação em outro programa em QuickBASIC, Zorganic, para análise dos dados oxidimétricos das titulações, comparando com a oxidação do padrão. O fator Z=25,71 se comprovou ser usado corretamente como branco no processo convencional (relação 2:1 do ácido/solução).

6) O programa calcula ainda a demanda química de oxigênio, COD (Chemical Oxygen Demand).

7) Há possibilidades de melhorar a estimativa de teores de substâncias orgânicas pelo uso de um fator de correção de estequiometria que pode ser introduzido no programa. Para sacarose, por exemplo, é f = 1,277; para a média de 52 substâncias húmicas, é f = 0,8883.

8) Substância pura como a sacarose, utilizada como teste, deu valor correto na análise oxidimétrica, com erro experimental insignificante. Carvão contido em solos não é oxidado, permitindo estimar somente o carvão ativo, trocável com cátions.

9) É recomendável que se faça um estudo comparativo com a determinação do teor de cinzas de solos e substâncias húmicas pelos métodos usuais de calcinação.

### Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES, CNPq e a FAPESP pelo apoio financeiro ao desenvolvimento do presente trabalho.

1. BAIRD, C. "Química Ambiental", trad. Maria Angeles Lobo Recio e Luiz Carlos Marques Carrera, 2<sup>ed</sup>. Porto Alegre: Bookman, 2002. p. 443-455.
2. GREENBERG, A. E.; CLESCERI, L. S. e EATON, A. D. "Standard Methods – For The Examination of Water and Wastewater", 18th ed. Washington, 1992. p.5-6.
3. QUAGGIO, J. A. e RAIJ, B. van. "Comparação de Métodos Rápidos para a Determinação da Matéria Orgânica em Solos", Revista Brasileira de Ciência do Solo, vol.3, Campinas, 1979. p.184-187.
4. WALKLEY, A. e BLACK, I. A. "An examination of the Degtjareff Method for Determining Soil Organic Matter, and Proposed Modification of the Chromic Acid Titration Method", Soil Science, vol. 37, Baltimore, 1934. p.29-38.
5. RAY van B.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H. e QUAGGIO, J. A. "Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais", Instituto Agronômico, Campinas, 2001. p.173-180.
6. WALKLEY A. "A Critical Examination of a Rapid Method for Determining Organic Carbon in Soils: Effect of Variation in Digestion Condition and of Inorganic Constituents", Soil Science, vol. 63, Madison, 1947. p.251-264.
7. SPARKS, D. L. "Environmental Soil Chemistry", Academic Press, London, 1995, p.53-79.

## Resíduos orgânicos - fontes alternativas e sustentáveis de substâncias orgânicas para utilização na agricultura e no meio ambiente

Ernest Ramiarina<sup>1\*</sup>, Aline G. Roza<sup>2</sup>, Daniely M. Maciel<sup>2</sup>, Arthur P. da C. Junior<sup>2</sup>, Regina C. S. de Souza<sup>2</sup>, Carla D. de Souza, Carla M. Garcia, Vinicius de M. Benites<sup>3</sup>

1\* -Prof. Depto de Geociências – UFRRJ, Departamento de Geociências, Instituto de Agronomia, UFRRJ- Universidade Federal Rural de Janeiro, Km 47 Rio - São Paulo, Seropédica (RJ) – CEP 23890-000.

2- Alunos de graduação, Curso de Geologia, Depto de Geociências – UFRRJ

3- Pesquisador Embrapa Solos, R. Jardim Botânico, Rio de Janeiro –RJ

\*e-mail: [ernest@email.iis.com.br](mailto:ernest@email.iis.com.br)

Palavras Chaves: Resíduos, turfa, química

### Resumo

A quantidade de resíduos orgânicos provenientes das diferentes atividades humanas não pára de aumentar em função do crescimento da população e do crescimento econômico. Estes resíduos constituam, às vezes, problemas ambientais não fáceis de serem resolvidos. Em face desta situação, apresentam-se neste trabalho as diferentes características físicas e químicas de resíduos do carvão fino, proveniente da carvoeira de Minas Gerais, do composto orgânico de grama da Infraero do Aeroporto do Galeão, Rio de Janeiro, misturado com o carvão fino, da turfa DAG de Suzano, São Paulo e da turfa de Jaconé, Saquarema, Rio de Janeiro. Os resultados obtidos mostram diferenças marcantes nas características seguintes: Na, Ca, Mg, K, H +Al, Al, no CTC, no C org., na concentração de fosfato (P) e potássio (K) e nitrogênio (N). O Na elevado e o pH baixo permitem diferenciar a origem do material e a influência da água do mar no composto Infraero e na turfa de Jaconé. A concentração elevada em P e K no composto orgânico da Infraero foi vista como consequência de uso de adubo à base de NPK no cultivo da grama.

### Introdução

A demanda de adubo orgânico vem crescendo a cada ano, devido a sua ampla utilização na agricultura orgânica por seu valor comercial elevado e como forma de amenizar o impacto ambiental dos resíduos de metais pesados e nitratos relacionados aos fertilizantes de origem mineral. Nos usos intensivos destes tipos de fertilizantes durante muitos anos, vários estudos e análises de solos mostraram a presença de quantidades preocupantes destes metais pesados que podem provocar danos à saúde humana e ao meio ambiente. Associado aos metais pesados assiste-se o aumento de concentração do nitrato. Os metais pesados e nitratos podem atingir o lençol freático das águas subterrâneas, alterar a qualidade da

água, fonte de abastecimento da grande parte da população das áreas rurais. As fontes de adubo orgânico podem ser oriundas de resíduos diversos: folhas, plantas, madeiras, serragem de madeira, cascas de madeiras, beneficiamentos de café, bagaços de cana de açúcar etc. Em grande parte das indústrias agro-alimentares para fabricação de açúcar, álcool etc, estes resíduos de origem orgânica, como bagaços, são aproveitados para produzir energia a fim de baixar o custo do empreendimento. Neste contexto, resta pouca quantidade de resíduos a serem transformados em adubo orgânico através de compostagem. As cidades são grandes fontes de resíduos orgânicos, oriundos dos lixos domésticos que, após separação, beneficiamento e compostagem, pode ser aproveitado economicamente. Na grande maioria das cidades, os resíduos orgânicos urbanos são levados aos aterros sanitários para serem armazenados e recuperados sob forma de gás de metano com pouco aproveitamento na agricultura devido a sua qualidade e características.

Visualizando o aspecto de uso nobre destas substâncias orgânicas na agricultura e no meio ambiente convêm neste estudo mostrar as diferentes características físicas e químicas de diferentes tipos de resíduos orgânicos como: carvão fino, resíduos de grama em forma de compostagem, cujas características foram comparadas a 2 tipos de turfas.

### Metodologia

A preparação das amostras e as análises granulométricas foram feitas no Laboratório de Sedimentologia do Departamento de Geociências da UFRRJ e as análises químicas no Laboratório de Fertilidade de Solos do Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ., Seropédica – RJ. As análises químicas seguem a rotina de procedimento da Embrapa.

Para cada análise foi usado 10cm<sup>3</sup> de material TFSA. Para obter um melhor resultado foram feitas 3 repetições por análise.

## Resultados e discussões

**Tabela 1** – Relação cor, grau de humificação e capacidade de retenção de água no carvão fino (MG), composto Infraero Aeroporto Galeão Rio de Janeiro (RJ), turfa DAG Suzano (SP) e turfa de Jaconé Saquarema (RJ)

	Cor	Grau humificação		Retenç H <sub>2</sub> O %
		Von Post	Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	
carvão fino	preta	-	-	22,5
comp. Infra.	marron-preto	-	-	22,54
turfa DAG	escura preta	6 - 7	-	40,31
turfa Jaconé	marron	5	18	38,26

**Tabela 2** - Relação pH em água, C org., Nitrogênio (N), Fosfato (P) e Potássio (K) no carvão fino (MG), composto Infraero Aeroporto Galeão Rio de Janeiro (RJ), turfa DAG Suzano (SP) e turfa de Jaconé Saquarema (RJ)

	pH água	C. org. %	N	P	K
			%	mg / l	
carvão fino	10,6	42,96	0,543	302	1223
comp. Infraer	6,7	17,28	1,072	2333	5316
turfa DAG	4,2	11,71	0,750	17	67
turfa Jaconé	2,4	10,56	1,007	26	4

**Tabela 3** - Relação dos cátions trocáveis no carvão fino (MG), composto Infraero Aeroporto Galeão Rio de Janeiro (RJ), turfa DAG Suzano (SP) e turfa de Jaconé Saquarema (RJ)

	Na	Ca	Mg	K	H <sup>+</sup> AL	Al
	Cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>					
carvão fino	0,190	3,5	1,5	3,14	1,49	0,0
comp. Infra.	1,140	6,5	6,6	13,63	1,65	0,0
turfa DAG	0,080	6,6	3,5	0,17	46,86	2,2
turfa Jaconé	1,200	7,6	21,2	0,01	69,63	27

**Tabela 4** – Relação bases trocáveis (S), Capacidade de troca de cátions (CTC), Saturação bases (V), saturação por Al (m), saturação por Na (n) no carvão fino (MG), composto Infraero Aeroporto Galeão Rio de Janeiro (RJ), turfa DAG Suzano (SP) e turfa de Jaconé Saquarema (RJ)

	S	CTC	V	m	n
	Cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>		%		
carvão fino	8,33	9,82	85	0	2
compostol nfraero	27,87	29,52	94	0	4
turfa DAG	10,35	57,21	18	3,85	0
turfa Jaconé	30,01	99,64	30	27,1	1

Os resultados apresentados mostram nítida diferença entre o carvão fino, composto Infraero, turfa de DAG e turfa de Jaconé. O Na elevado indica a influência da água do mar no composto da Infraero e a turfa de Jaconé. O pH baixo reflete a característica marcante da turfa de Jaconé com CTC elevada 99,64 Cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>. A turfa de DAG apresenta pH 4,2 menos ácido, com teor de K largamente superior ao da turfa de Jaconé. O carvão fino diferencia-se por sua concentração elevada em C orgânico, fósforo e potássio. A CTC do carvão fino é bastante baixa. O composto orgânico da Infraero tem concentração elevada em nitrogênio, fósforo e potássio consequência da adubação em NPK na plantação da grama.

## Conclusão

Os resultados de análises apresentadas servirão de base para futuros trabalhos a serem desenvolvidos na busca de melhor aproveitamento econômico de cada uma destes quatro tipos de substâncias orgânicas estudadas.

## Agradecimento

Agradecimento a Jair do N. Guedes do Laboratório de Fertilidade de Solos do Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ., Seropédica – RJ pela ajuda na realização das análises químicas. Nosso reconhecimento aos Professores Everaldo Zonta e Nelson M. B. de A. Sobrinho pela liberação dos laboratórios para as análises.

Bolter, D. H., 1969, Physical properties of peats as related to degree of decomposition. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 33:606-609.

Embrapa, 1979, Manual de métodos de análises de solos.

Ramiarina, E., 2001, Valorização industrial da turfa de Jaconé, município de Saquarema, Estado de Rio de Janeiro, Brasil. *Simpósio de Geologia do sudeste, Rio de Janeiro,- RJ, Brasil, boletim de resumos p.112.*

Ramiarina, E., 2004, Chemical and physical characterization of peat from Jaconé, Saquarema, Rio de Janeiro (RJ) State, Brazil, for use as a soil amendment. *XII International meeting of IHSS, humic substances and soil and water environment, São Pedro, São Paulo, Brazil, boletim de resumos p 98, resumos expandidos p 497-499.*

## Fracionamento físico-densimétrico da matéria orgânica de Latossolo tratado com lodo de esgoto

Emanuelle Mercês Barros Soares<sup>1\*</sup>(PG), Carlos Alberto Silva<sup>2</sup>(PQ), Bruno de Oliveira Dias<sup>2</sup>(PG), Wagner Bettiol<sup>3</sup>(PQ), Maísa Honório Belizário<sup>2</sup>(IC)

<sup>1</sup> UFV, Departamento de Solos, CEP: 36570-000, Viçosa, MG.

<sup>2</sup> UFLA, Departamento de Ciência do Solo, 37.200-000, Lavras, MG.

<sup>3</sup> Embrapa Meio Ambiente, CEP: 13.820-000, Jaguariúna, SP.

e-mail: mercessoares@yahoo.com.br

Palavras Chave: fração leve, fração pesada, biodisponibilidade.

### Introdução

A matéria orgânica do solo (MOS) atua regulando diferentes processos, como a ciclagem e a disponibilidade de nutrientes, a solubilização de fertilizantes, a complexação de metais tóxicos, alumínio, o poder tampão, o fluxo de gases para a atmosfera, a erosão, etc. No solo, são encontradas diferentes substâncias orgânicas, desde materiais livres e com elevada biodisponibilidade, até compostos mais estabilizados quimicamente, em íntima associação com a fase mineral do solo (Christensen, 1992). As frações orgânicas de menor tempo de ciclagem e que responde mais rapidamente às mudanças do uso do solo correspondem a uma pequena fração do teor total de carbono orgânico (Corg) (Christensen, 1996), estando os indicadores mais responsivos às alterações da qualidade do solo associados aos compartimentos mais lábeis da MOS, como o compartimento da fração leve (FL) (Stevenson, 1994).

Com o emprego do fracionamento físico-densimétrico da MOS é possível separar o C associado a FL (C-FL) do C associado à fase mineral ou fração pesada (C-FP), já que são quantificadas frações que se distinguem uma das outras em relação à composição e localização física no solo, e que respondem diferentemente às práticas de manejo (Preston, 1996). Por ser fonte de nutrientes e de matéria orgânica, a utilização agrícola do lodo de esgoto têm sido amplamente preconizada. Em solos tropicais, os efeitos sobre o Corg podem ser temporários (Melo et al., 1994) ou duradouros (Marques, 1996; Oliveira et al., 2002), sendo verificado, em longo prazo, aumentos lineares nos teores de Corg com a aplicação de doses crescentes de lodo. Esses aumentos dependem das taxas de decomposição do lodo no solo e dos fatores que a condicionam (Oliveira et al., 2002). Além das alterações nos teores totais, o lodo pode exercer influência sobre a composição química da MOS, pois os solos tratados com esse resíduo podem apresentar menor quantidade de C lábil (C-carboidrato) e maior presença de óleos e graxas, em relação aos solos não tratados<sup>7</sup>.

Este estudo teve como objetivo avaliar a influência do uso continuado de doses crescentes de lodo de esgoto sobre os teores em solo de Corg e de C associado à fração leve, à argila, ao silte e à areia, obtidos pelo uso de técnica de fracionamento físico-densimétrico da MOS.

### Material e Métodos

O experimento foi instalado no Campo Experimental da Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna (SP), no ano de 1999, em uma área de Latossolo Vermelho distroférico de textura argilosa. O lodo de esgoto utilizado é o proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto de Barueri-SP.

Os tratamentos foram distribuídos num delineamento em blocos casualizados com três repetições, sendo utilizadas parcelas experimentais de 20 x 10 m (200 m<sup>2</sup>), que foram cultivadas com milho.

As doses acumuladas de lodo de esgoto (base seca) utilizadas nas parcelas experimentais foram de: 0, 30, 60, 120 e 240 Mg ha<sup>-1</sup>, as quais deram origem aos seguintes tratamentos: (L0) testemunha sem adição de lodo; NPK, adubação mineral recomendada para a cultura; aplicação de lodo de esgoto visando fornecer uma (L1), duas (L2), quatro (L4) e oito (L8) vezes o N requerido pelo milho.

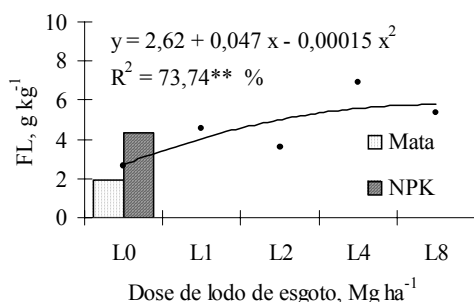
O lodo de esgoto foi distribuído a lanço em área total das parcelas experimentais e incorporado ao solo a uma profundidade de 20 cm com o auxílio de enxada rotativa e arado de disco. Para fins das determinações laboratoriais, as amostras de solo foram coletadas 60 dias após a sexta aplicação de lodo, na profundidade de solo de 0-10 cm.

Para realizar a extração das frações leve (FL) e pesada (FP), seguiram-se os procedimentos descritos em Machado (2002) e Sohi et al. (2001). O teor de C nas FL e FP da MOS foi determinado de acordo com procedimento descrito por Yeomans & Bremner (1988). Os teores de C na fração silte foram obtidos indiretamente, com base no teor de C na argila e na fração silte + argila<sup>6</sup>. Os dados obtidos foram avaliados estatisticamente por meio da análise de variância e de regressão, utilizando-se as três repetições de campo, sendo usado nessa etapa o programa estatístico SISVAR.



## Resultados e Discussão

A fração leve (FL) respondeu às aplicações continuadas de lodo de esgoto na etapa de fracionamento físico-densimétrico da MOS, (Figura 1), notando-se um acréscimo no seu peso com o aumento da dose de lodo até 120 Mg ha<sup>-1</sup>. A concentração de FL no solo variou de 1,88 a 6,9 g kg<sup>-1</sup>. Roscoe & Buurman (2003) verificaram, para um latossolo sob plantio convencional cultivado com milho, 7 g kg<sup>-1</sup> de FL. Janzen et al. (1992) observaram valores superiores, na faixa de 6,1 a 14 de g kg<sup>-1</sup> de solo de FL, sob condições de clima temperado, uma vez que, sob condições tropicais, ocorre uma ciclagem mais rápida dessa fração, o que compromete o seu acúmulo em solo.

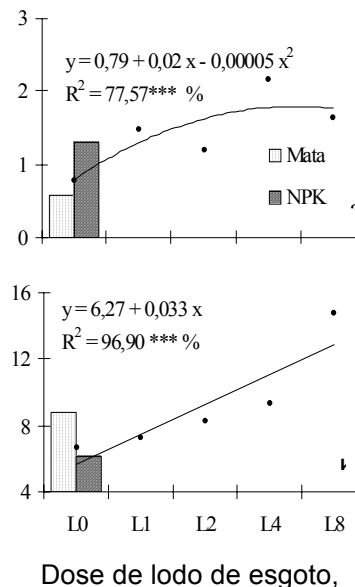


**Figura 1.** Efeito das doses de lodo de esgoto sobre o teor de Fração Leve após 60 dias da sexta aplicação do lodo; L0=controle absoluto ou testemunha; L1, L2, L4 e L8=lodo de esgoto baseado no teor de N para fornecer 1, 2, 4 e 8 vezes a dose de N recomendada na adubação mineral.; \*\*, significativo a 1 % de probabilidade.

Numa fase posterior, foi quantificado o teor de C em cada uma das frações, obtidas via fracionamento físico-densimétrico, sendo, desse modo, quantificado o C associado à FL (C-FL), à areia (C-areia), ao silte (C-silte) e à argila (C-argila) (Figuras 2 e 3). O C-FL variou de 0,57 a 2,17 g kg<sup>-1</sup>, estando esses teores dentro da faixa verificada em outros trabalhos (Leite, 2001; Freixo et al., 2002a,b; Pinheiro et al., 2004). Na figura 2a, são observados acréscimos no C-FL, proporcionados pelas crescentes doses de lodo de esgoto, em relação à testemunha, de: 89,5 % no L1; 53,6 % no L2; 179,4 % no L4 e 110,7 % no L8. Os aumentos nos teores de C-FL são inversos aos valores de C-biomassa microbiana (C-BM), obtidos por Soares (2005), em estudo simultâneo realizado na mesma área experimental. No estudo de Soares (2005), os aumentos de C-BM em relação à testemunha, foram de 17,24 % no L1, 79,31 % no L2, 18,97 % no L4, e 29,31 % no L8, o que indica a possibilidade de estar havendo uma imobilização temporária do C na BM, em detrimento da FL, indicando uma ciclagem mais rápida dessa fração.

Considerando o fato de a FL servir como um indicador e a BM como um regulador da decomposição da MOS no solo, Fließbach & Mäder (2000), avaliando a proporção de C-BM/C-FL como

um potencial indicador da qualidade do material orgânico adicionado para formar e manter a BM, ressaltaram a possibilidade de uma maior BM induzir uma decomposição mais rápida da MOS, reduzindo, assim, os teores da FL.



**Figura 2.** Efeito das doses de lodo de esgoto no C-fração leve (a), C-silte (b) aos 60 dias da aplicação do lodo; L0=controle absoluto ou testemunha; L1, L2, L4 e L8=lodo de esgoto baseado no teor de N para fornecer 1, 2, 4 e 8 vezes a dose de N recomendada na adubação mineral.; \*\*\*, significativo a 0,1 % de probabilidade.

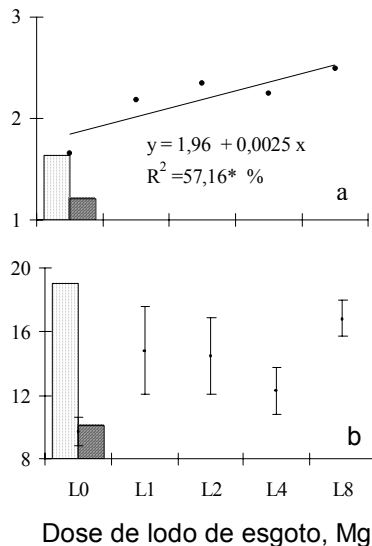
O impacto da aplicação de lodo de esgoto no C-FL deve-se ao fato de que o único mecanismo de proteção que atua nesse compartimento é a recalcitrância química<sup>16</sup>, ou seja, a própria composição do material, não havendo proteção física (oclusão ou complexação), tornando o material mais acessível ao ataque de microrganismos.

A aplicação de fertilizantes aumentou o teor de C-FL, provavelmente pelo fato de proporcionar uma maior produtividade da planta em razão de o N ser prontamente disponível às plantas<sup>8</sup>. Em média, na área sob mata, o teor de C-FL foi 26 % menor em relação aos teores de C-FL observados nos tratamentos com adição de lodo de esgoto. Os teores de C na FP variaram, em g kg<sup>-1</sup>, para o C-areia, de 1,21 a 2,49; para o C-silte, de 6,16 a 14,77; e para o C-argila, de 9,75 a 16,8. A adição de lodo promoveu um aumento linear no C-silte (Figura 2b) e no C associado à fração areia (Figura 3a). Verifica-se que, com a diminuição do tamanho da partícula, ocorre um aumento na capacidade do solo em armazenar C. Isso se explica, de acordo com Christensen (1992), pela redução observada na relação C/N dos compostos ligados às frações granulométricas, que diminui com a redução do tamanho da partícula, sugerindo um grau de humificação mais avançado para o C associado às partículas mais finas (areia<silte<argila) do solo.



Pelo fato de não ter havido a separação da fração leve intra-agregado (FLI), pode-se inferir que parte do C-areia seja oriundo da FLI. Considerando essa hipótese, parte do C quantificado como C-areia estaria parcialmente protegido do ataque de microrganismos dentro dos agregados, o que poderia ser uma das explicações para o aumento linear do C-areia, à medida que aumentam as doses de lodo de esgoto aplicadas. Além disso, os compostos orgânicos que estão associados à areia apresentam outros mecanismos de proteção, além de uma maior recalcitrância que a FL (Roscoe & Machado, 2002), o que pode explicar os aumentos de até 50,42 % no C-areia do tratamento com maior uso de lodo (L8), em relação à testemunha.

Os aumentos observados para o C-silte, em função do uso de lodo, foram de até 119,45 % (maior dose de lodo, L8), em relação à testemunha (L0), essa maior capacidade de acumular Corg à medida que as doses de lodo aplicadas aumentam se deve à recalcitrância do C dessa fração granulométrica, em relação ao C-areia.



**Figura 3.** Efeito das doses de lodo de esgoto no C-C-areia (a) e C-argila (b) aos 60 dias da aplicação do lodo; L0=controle absoluto ou testemunha; L1, L2, L4 e L8=lodo de esgoto baseado no teor de N para fornecer 1, 2, 4 e 8 vezes a dose de N recomendada na adubação mineral.; \*, significativo a, 5 % de probabilidade, respectivamente.

Assim, é provável que o C-silte, por ser mais recalcitrante que o C-areia, acumulava-se mais, à medida que o aporte do material orgânico aumentava, com menor grau de influência da microbiota. O teor de C-argila não sofreu influência significativa da aplicação continuada de lodo esgoto.

O C-argila se constitui em uma das frações mais estabilizadas da MOS, tanto por ser constituída de um material mais recalcitrante como pela maior estabilidade química e física conferida ao Corg quando em associação com a fase mineral do solo (Christensen, 1992, 1996).

Assim, é bastante provável que seja necessário um maior tempo para que se manifestem alterações no teor de C-argila em função do manejo diferenciado do solo e do uso de lodo de esgoto.

Em geral, o quadro constituído por todas as frações extraídas sugere que a aplicação continuada de lodo de esgoto, no presente estudo, aumenta os teores de C na FL e FP em relação à testemunha. A aplicação continuada de lodo de esgoto exerce também influência diferenciada sobre o C ligado às frações granulométricas, sendo notada uma tendência de decréscimo no C-FL em detrimento de um enriquecimento de C nas frações pesadas, com a elevação das doses de lodo de esgoto.

## Conclusões

Em relação ao C-orgânico, os teores de C associados aos compartimentos de MOS seguem a seguinte ordem de contribuição: C-fração leve<C-areia<C-silte<C-argila.

A aplicação de até 120 Mg ha<sup>-1</sup> de lodo de esgoto aumenta a quantidade de fração leve e o teor de C associado a esse compartimento de MOS.

Os teores de C-areia e C-silte aumentam linearmente com o acréscimo na dose de lodo de esgoto, não sendo o C-argila influenciado pelo uso desse resíduo.

<sup>1</sup>Christensen, B.T. In: Carter, M.R.& Stewart, B.A., eds. Structure and organic matter storage in agricultural soil. **1996**. p.97-165.

<sup>2</sup>Christensen, B.T. Adv. Soil Sci., 20:1-90, **1992**.

<sup>3</sup>Fliepbach, A. & Mäder, P. Soil Biol. Biochem., 32:757-768, **2000**.

<sup>4</sup>Freixo, A.A.; Machado, P.L.O. de A.; Guimarães, C.M.; Silva, C.A.; Fadigas, F. de S. R. Bras. Ci. Solo, 26:425-434, **2002a**.

<sup>5</sup>Freixo, A.A.; Machado, P.L.O. de A.; Santos, H.P.; Silva, C.A.; Fadigas, F.S. Soil and Till. Res., 64:221-230, **2002b**.

<sup>6</sup>Gavinelli, E.; Feller, C.; Larré-Larrouy, M.C.; Bacye, B. Comm. Soil Sci. Plant Anal., 26:1749-1760, **1995**.

<sup>7</sup>Hohla, G.N.; Jones, R.L.; Hinesly, T.D. J. Env. Qual., 7: 559-563, **1978**.

<sup>8</sup>Janzen, H.H.; Campbell, C.A.; Brandt, S.A.; Lafond, G.P.; Townley-Smith, L. Soil Sci. Soc. Am. J., 56:1799-1806, **1992**.

<sup>9</sup>Leite, L.F.C. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, **2002**. 146p. (Tese Doutorado).

<sup>10</sup>Machado, P.L.O.A. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, **2002**. 6p. (Comunicado Técnico, 9).

<sup>11</sup>Marques, M.O. Jaboticabal, Universidade do Estado de São Paulo, **1996**. 111p. (Tese Livre de Docência)

<sup>12</sup>Oliveira, F.C.; Mattiazzo, M.E.; Marciano, C.R. & Rosseto, R. R. Bras. Ci. Solo, 26:505-519, **2002**.

<sup>13</sup>Pinheiro, E.F.M.; Pereira, M.G.; Anjos, L.H.C.; Machado, P.L.O.A. de R.. Bras. Ci. Solo, 28:731-737, **2004**.

<sup>14</sup>Preston, C.M.. Soil Sci., 161:144-166, **1996**.

<sup>15</sup>Roscoe, R. & Buurman, P.. Soil Till. Res., 70:107-119, **2003**.

<sup>16</sup>Roscoe, R. & Machado, P.L.O. de A. Dourados, EMBRAPA-CPAO/CNPS, 2002. **86p**

<sup>17</sup>Hohla, G.N.; Jones, R.L.; Hinesly, T.D. J. Env. Qual., 7: 559-563, **1978**.

<sup>18</sup>Soares, E.M.B. Lavras, Universidade federal de Lavras, **2005**. 82p. (Dissertação de Mestrado).

<sup>19</sup>Sohi, S.; Mahieu, N.; Arah, J.R.M.; Powlson, D.S.P.; Madari, B.; Gaunt, J.L. Soil Sci. Soc. Am. J., 65:1121-1128, **2001**.

<sup>20</sup>Stevenson, F.J. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. **1994**. 496.

<sup>21</sup>Yeomans, J.C.; Bremner, J.M. Comm. Soil Sci. Plant Anal., 19:1467-1476, **1988**

## Ácidos húmicos de carvão vegetal: caracterização espectroscópica e interação com solutos orgânicos e inorgânicos

Patrick Marques Trompowsky(PG)<sup>1\*</sup>, Vinicius de Melo Benites(PQ)<sup>2</sup>, Alexandre Santos Pimenta(PQ)<sup>1</sup>, Cláudio Mudado Silva(PQ)<sup>1</sup>, Jorge Colodette(PQ)<sup>1</sup>, Willian C. Hockaday(IC)<sup>3</sup>, Patrick G. Hatcher(PQ)<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Engenharia Florestal, Campus Universitário, 36571-000, Viçosa-MG, Brasil.

<sup>2</sup> Embrapa Solos, Rua Jardim Botânico 1024, 22460-000, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

<sup>3</sup> Department of Chemistry, Ohio State University, 100 W. 18th Ave., Columbus, Ohio, 43210 USA

\*e-mail: patrick.marques@globo.com

Palavras Chave: carvão vegetal, ácidos húmicos, FTIR, NMR, adsorção

### Introdução

Substâncias húmicas podem ser formadas a partir da oxidação química do carvão vegetal com ácido nítrico concentrado (Trompowsky et al., 2005). O Brasil é o maior produtor mundial de carvão de florestas plantadas, e o uso de carvão vegetal como matéria prima pode ser uma alternativa viável à produção comercial de ácidos húmicos (AH). Sabe-se que substâncias húmicas provenientes do solo apresentam grupos funcionais, como carboxilas, fenóis e aminas cíclicas, capazes de interagir com cátions e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Cada vez mais se discute o potencial dos ácidos húmicos na remediação do solo e dos aquíferos poluídos, porém um dos maiores empecilhos para o seu uso é a sua solubilidade na faixa de pH ótimo de complexação. A interação entre o ácido húmico e outras substâncias se dá por meio de diferentes sítios de ligação, nem sempre comuns entre os diversos cátions e hidrocarbonetos. Essa interação pode provocar mudanças estéricas, enovelamento da molécula pela neutralização de cargas, e a agregação de duas ou mais moléculas de AH através de forças eletrostáticas, tornando o complexo AH-poluinte insolúvel ou de fácil remoção através de processo de filtração.

### Resultados e Discussão

Ácidos húmicos foram extraídos de carvão vegetal de eucalipto<sup>1</sup> e caracterizados pelas técnicas de FTIR e NMR.

O espectro de infravermelho foi obtido utilizando um espectrômetro Perkin-Elmer FTIR Spectrum 1000 na faixa entre 4.000-400 cm<sup>-1</sup>, com pastilhas KBr (2 mg de AH + 200 mg of KBr). O espectro foi normalizado com a sua divisão pela área integral após a correção da linha base.

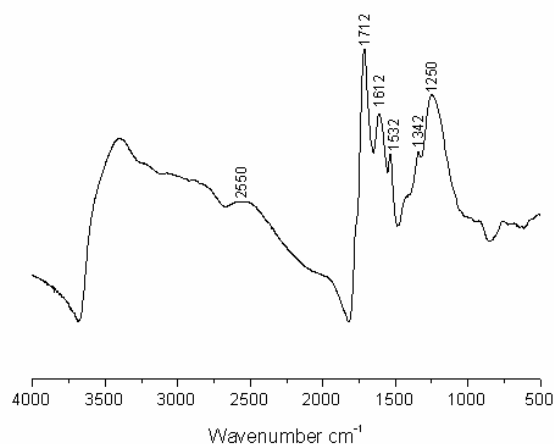
O espectro de NMR do <sup>13</sup>C no estado sólido foi obtido em um espectrômetro Bruker DMX equipado com um magneto de 7.05 T (equivalente à frequência de ressonância de 75.483 MHz para o <sup>13</sup>C). Utilizou-se uma rotação em torno do ângulo

mágico (MAS) de 13 kHz e uma rampa para a polarização cruzada (<sup>13</sup>C Ramped-CP/MAS NMR). Rotores de zirconia de 4 mm de diâmetro com tampas de Kel-F foram preenchidos com aproximadamente 100 mg de amostra. Utilizou-se os seguintes parâmetros de aquisição: 1 s de tempo de espera para relaxação, tempo de contato de 2 ms e um desacoplamento com pulsos compostos (TPPM). As áreas dos picos foram integradas nas seguintes regiões: 0-45 ppm (C alquila), 45-60 ppm (C metoxila, N-alquila), 60-90 ppm (C O-alquila e NO<sub>2</sub>-alquila), 90-110 ppm (C di-O-alquila), 110-140 ppm (C arila), 140-160 ppm (C O-arila e NO<sub>2</sub>-arila), 160-180 ppm (C carboxila), 180-220 ppm (C carbonila). As bandas laterais do C arila (-50 e 310 ppm) foram integradas e adicionadas à área do pico central.

Foram preparadas soluções dos seguintes adsorbatos: Ca<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup> e diclorofenol nas concentrações de 60; 5,8; 100 e 14,2 mg L<sup>-1</sup> respectivamente. Para os ensaios de adsorção foram usados dois tratamentos de AH nas concentrações de 200 e 400 mg L<sup>-1</sup>, e carvão vegetal moído (CV) na concentração de 10.000 mg L<sup>-1</sup>. 100 mL da mistura adsorbato + amostra em pH 4,5 foram agitados por 1 hora. A mistura foi filtrada com membrana de 0,45 µm e a solução filtrada foi analisada em um espectrômetro de absorção atômica Avanta GBC (Analítica) previamente calibrado e um espectrômetro Euroglass ECS 1600, para quantificar os metais e o composto organoclorado, respectivamente.

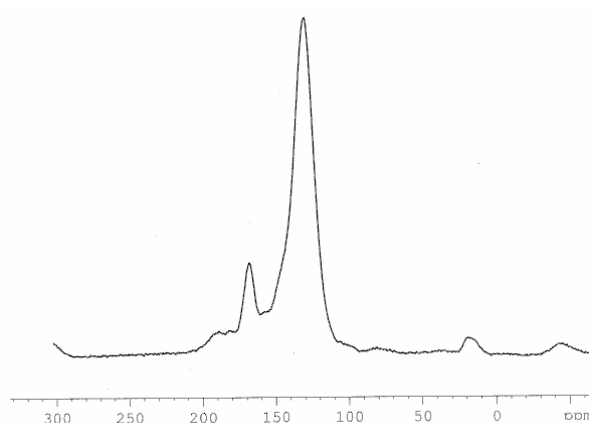
O espectro FTIR (figura 1) mostrou uma banda larga na região de 3.400-3.300 cm<sup>-1</sup>, geralmente atribuída ao estiramento de O-H e posteriormente de N-H presente em vários grupos funcionais. Bandas de absorção em 2.920 cm<sup>-1</sup> e 2.850 cm<sup>-1</sup>, que são geralmente atribuídas ao estiramento do C-H alifático, não estão presentes, sugerindo uma destruição destes componentes durante o processo de síntese e extração. As bandas fortes observadas a 1.712 cm<sup>-1</sup> e 1.250 cm<sup>-1</sup> indicam a presença de grupos carboxílicos. A banda de absorção para grupos carboxílicos ionizados ocorre em torno de

1.612  $\text{cm}^{-1}$ . A região entre 1.620 e 1.600  $\text{cm}^{-1}$  pode ser atribuída também às vibrações C=C aromáticos, C=O protonados de cetonas conjugadas e a deformação da água. De maneira geral, o espectro de AH obtidos do carvão vegetal apresentaram os mesmos picos que AH obtidos do solo, semelhante aos AH do tipo A, associado a solos ricos em carbono pirogênico<sup>2</sup>. Todos os picos observados estão relacionados a grupos carboxílicos e à estrutura policíclica aromática, sugerindo um conteúdo baixo de carbono alifático. A exceção é a presença de picos de absorção característicos em 1.532  $\text{cm}^{-1}$  associado com um pico em 1.342  $\text{cm}^{-1}$ . Esses picos estão relacionados com a formação de grupos funcionais contendo N, provavelmente nitro benzenos, formados pela reação do carvão com ácido nítrico durante o processo de síntese.



**Figura 1.** Espectro de FTIR do AH obtido de Carvão Vegetal

O espectro de  $^{13}\text{C}$  Ramped-CP/MAS NMR (figura 2) reforça as informações estruturais obtidas pela análise do espectro FTIR. Foi observado um baixo teor de carbono alifático (0-45ppm).



**Figura 2.** Espectro de  $^{13}\text{C}$  Ramped-CP/MAS NMR do AH obtido de Carvão Vegetal

Similarmente, o carbono remanescente nos grupos metoxila/N-alquila, O-alquila e di-O-alquila combinados (45-110 ppm) representam menos que 6% do carbono no AH (tabela 1).

Deve ser levado em consideração que algum sinal nessas regiões pode provir da substituição do carbono alquila por nitrogênio como resultado da oxidação por ácido nítrico. O espectro do AH sintetizado a partir do carvão vegetal assemelha-se com AH de solos vulcânicos, paleossolos e extratos alcalinos de material carbonizado<sup>3</sup>. O espectro é caracterizado por uma predominância de carbono aromático (110-160 ppm) e carboxílico (160-190 ppm). Em contraste com a maioria dos AH do solo, o pico de carbono alifático é estreito e centrado em 20 ppm. Isso é típico de substituintes alquilas de cadeia curta, provavelmente grupos metila em anéis aromáticos condensados.

**Tabela 1.** Contribuição relativa de cada grupo químico no espectro de  $^{13}\text{C}$  Ramped-CP/MAS NMR

Região espectral	(%)
0-45 ppm	3,2
45-60 ppm	0,5
60-90 ppm	1,8
90-110 ppm	2,3
110-140 ppm	62,4
140-160 ppm	10,3
160-180 ppm	10,7
180-220 ppm	4
% Ar total	77,5

Os ensaios de adsorção não mediram o grau de interação AH-adsorbato, pois a metodologia utilizada não discriminou íons/moléculas livres na solução dos íons/moléculas adsorvidos pelo AH solúvel. Porém, foi observado uma interação entre íons  $\text{Al}^{3+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$  e o AH, tornando este insolúvel e facilmente retirado da solução pelo processo de filtração com membrana 0,45  $\mu\text{m}$ . Íons metálicos podem se ligar com grupos carboxílicos desprotonados, resultando na redução da carga e no envelhecimento da molécula de AH, tornando este insolúvel. O  $\text{Al}^{3+}$  apresentou uma forte interação com o AH, sendo quase totalmente removido na menor concentração de AH (tabela 2) e removido abaixo do limite de detecção do aparelho no segundo tratamento. A interação  $\text{Al}^{3+}$ -AH é bem conhecida, onde o alumínio floccula AH naturais em pH 4,5; sendo também observado visualmente no AH do carvão vegetal. O  $\text{Ca}^{2+}$  apresentou um grau de interação menor, como era de se esperar, por ser um íon divalente. Porém observou-se um grau de flocculação expressivo, onde o complexo  $\text{Ca}^{2+}$ -AH ficou retido no filtro, com a diminuição do teor de  $\text{Ca}^{2+}$  na solução filtrada. Com o  $\text{Mn}^{2+}$ , não foi observado diferença entre os tratamentos com AH e o branco, indicando que o processo de flocculação pode ser dependente da concentração de íons no meio, e/ou que o pH ótimo de complexação do  $\text{Mn}^{2+}$  é diferente de 4,5. Com o diclorofenol também não se observou o processo de flocculação, pelos mesmos motivos do  $\text{Mn}^{2+}$ . Já o tratamento com o

carvão vegetal provocou uma ligeira retenção do  $\text{Al}^{3+}$  e  $\text{Mn}^{2+}$ , que estava em menor concentração. Isto sugere uma saturação das carboxilas, fenóis e outros grupos funcionais ácidos que estão presentes em pequena quantidade em um material que é predominantemente aromático, como o carvão vegetal. Em contrapartida, o organoclorado foi quase que inteiramente retido pelo carvão vegetal, levando a crer que os grupos funcionais envolvidos na adsorção de íons metálicos são diferentes dos envolvidos com o diclorofenol. Provavelmente anéis aromáticos condensados são mais importantes para a adsorção de compostos organoclorados, por meio de interações hidrofóbicas. Uma das vantagens de utilizar carvão vegetal é sua insolubilidade, tornando-o mais fácil de ser manipulado em processos de filtração.

**Tabela 2.** Ensaio de adsorção: valores residuais do soluto após a aplicação do tratamento (ppm), e a quantidade removida por filtração.

Tratamento	branco	200 (AH)	400 (AH)	10000 (CV)
Ca (ppm)	60	41,5	18,9	-
% rem <sup>1</sup>		31,5	69,2	-
Mn (ppm)	5,8	5,8	5,8	4,1
% rem		0	0	29,3
Al (ppm)	100	3	0	78
% rem		97	100	22
AOX (ppm)	14,2	14,2	14,2	0,6
% rem		0	0	95,8

1 - percentual de contaminante removido pelo tratamento

## Conclusões

Os ácidos húmicos obtidos mediante a oxidação de carvão vegetal com  $\text{HNO}_3$  são constituídos basicamente por grupos carboxílicos e anéis aromáticos. Foi observado a incorporação de N na forma de grupos nitro-benzênicos, e portanto se fazem necessários ensaios de toxicidade do AH sintetizado. Estes AHs possuem capacidade de adsorver íons  $\text{Al}^{3+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$  em pH 4,5; tornando-se insolúveis e permitindo sua remoção por filtração em membrana de porosidade 0,45 $\mu\text{m}$ . A metodologia utilizada não permitiu observar se houve adsorção do diclorofenol e  $\text{Mn}^{2+}$ . O carvão vegetal moído teve uma pequena capacidade de remoção dos íons estudados, porém apresentou alta eficiência na remoção de diclorofenol.

## Agradecimentos

Este trabalho faz parte das atividades do plano de ação "Produção de adubos orgânicos de alta estabilidade a partir de carvão vegetal e subprodutos da carbonização" relativo ao projeto TERRA PRETA NOVA: Sistemas indígenas de manejo do solo como base para o desenvolvimento de manejo sustentável da fertilidade de solos na Amazônia, registrado na Embrapa no Macroprograma 2 sob o número 02.02.5.08.07. O primeiro autor agradece ao CNPq pela bolsa de mestrado concedida.

<sup>1</sup> Trompowsky P.M, Benites V.M., Madari B.E., Pimenta A.S., Hockaday W.C., Hatcher P.G. *Organic Geochemistry* **2005**, In Press

<sup>2</sup> Kumada, K.,... *Soil Science and Plant Nutrition* **1983**, 29(3), 383-386.

<sup>3</sup> Haumaier, L., Zech, W., *Organic Geochemistry* **1995**, 23, 191-196.





### Seção 3



Todos os resumos publicados neste livro são reproduções de cópias fornecidas pelos autores. O conteúdo dos resumos é de responsabilidade exclusiva dos autores. O Comitê Organizador do VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas não se responsabiliza pelas conseqüências do uso de qualquer dado, afirmação ou opinião publicada neste livro.

## Estudo da estrutura de substâncias húmicas através da fluorescência

Marcilene F. Barriquello<sup>1,2\*</sup>(PQ), Débora M. B. P. Milori<sup>1</sup>(PQ), Eduardo Almeida Neves<sup>2</sup>(PQ), Ladislau Martin-Neto<sup>1</sup>(PQ)

<sup>1</sup>EMBRAPA Instrumentação Agropecuária, <sup>2</sup>Departamento de Química - Universidade Federal de São Carlos.

\*e-mail: ferrari@cnpdia.embrapa.br

Palavras Chave: Substâncias Húmicas, Fluorescência, Estrutura.

### Introdução

Substâncias húmicas (SH) são substâncias orgânicas naturais que estão presentes na água, solo e sedimento, e são de suma importância para o crescimento das plantas e no controle do destino de poluentes e carbono orgânico do meio ambiente. Apesar de seu papel na sustentabilidade da vida, a natureza química básica e a reatividade das SH ainda não estão totalmente entendidas<sup>1</sup>, embora os elementos básicos e grupos funcionais que as compõem já sejam conhecidos, baseados em análises utilizando uma variedade de técnicas, dentre elas a fluorescência que, atualmente, tem sido amplamente utilizada para estudar as substâncias húmicas. As principais vantagens desta técnica são a alta sensibilidade e seletividade, pois somente aqueles grupos funcionais que fluorescem podem ser observados. Nas substâncias húmicas, os principais fluoróforos presentes, grupos capazes de absorver e emitir energia, na forma de luz, são sistemas com alto grau de conjugação, como por exemplo anéis aromáticos e grupos do tipo quinona. A extensão do sistema de elétrons  $\pi$ , o nível de substituição por heteroátomos, o tipo e o número de grupos substituintes no anel aromático, afetam grandemente a intensidade de fluorescência e o comprimento de onda. Devido à complexidade molecular e heterogeneidade de materiais húmicos, o espectro de fluorescência, observado em qualquer um dos três modos de fluorescência, é provavelmente a soma dos espectros de vários fluoróforos diferentes presentes na molécula. A complexidade química e estrutural das moléculas húmicas, representa um obstáculo para a identificação individual dos componentes responsáveis pela fluorescência das SH<sup>2</sup>. Senesi et al.<sup>2</sup> propuseram utilizar as propriedades fluorescentes das substâncias húmicas para estabelecer critérios para a diferenciação e classificação das mesmas e Milori et al.<sup>3</sup> avaliaram a utilização da técnica na determinação do grau de humificação de ácidos húmicos. Muitas estruturas foram propostas<sup>4,5,6</sup> e cada uma delas é caracterizada por grupos funcionais similares e a presença de componentes alifáticos e aromáticos. Já é conhecido que o oxigênio está presente na forma de grupos carboxílicos, fenólicos, OH de

álcoois, ésteres e éteres e que o nitrogênio está presente como estruturas heterocíclicas e como nitrilas. Entretanto a estrutura básica das SH ainda não está totalmente entendida devido a heterogeneidade e complexidade das mesmas. Se as SH pudessem ser separadas em seus componentes puros, poder-se-ia produzir maiores avanços nos estudos relacionados com a sua estrutura. Como os avanços conseguidos para as proteínas e outros biopolímeros químicos onde suas formas puras foram isoladas. Usando-se modelos pode-se obter mais informações com relação a esses componentes, já que os grupos funcionais e átomos doadores de elétrons podem ser regulados por precursores específicos.

Dentro desse contexto, o objetivo do trabalho foi estudar a influência de íons metálicos na estrutura e conformação final de polímeros sintetizados, com características análogas às das substâncias húmicas, por meio de caracterização através de Fluorescência de Luz Ultravioleta Visível.

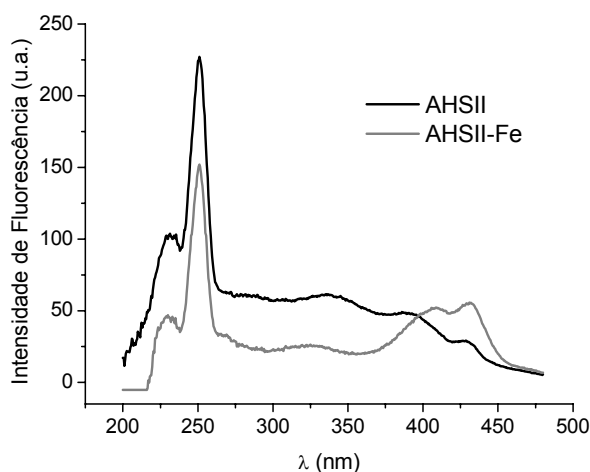
### Resultados e Discussão

Para a obtenção dos espectros de fluorescência foram utilizadas amostras dos ácidos húmicos sintéticos (AHSII) e sintéticos com metais complexados (AHSII-Cu, AHSII-Fe e AHSII-Mn). Foi utilizado p-benzoquinona como precursor para obtenção amostras dos ácidos húmicos sintéticos (AHSII). Colocou-se a solução em um frasco o qual foi borbulhada com ar purificado com NaOH em uma razão de 1Lmin<sup>-1</sup>. Depois de vinte e duas horas de reação obteve-se uma mistura viscosa e marrom que foi tratada com HCl concentrado. Coletou-se o precipitado marrom-escuro por filtração<sup>7</sup>. As amostras de ácidos húmicos sintéticos com metais complexados (AHSII-Cu, AHSII-Fe e AHSII-Mn) foram preparadas utilizando o seguinte procedimento: em 0,1g de AH sintético adicionou-se 40 mL de solução de metal 0,1 mol L<sup>-1</sup> (Sulfato de Cobre, Ferro(III) e ou Manganês) e agitou-se por 16 horas. Após o tempo de agitação centrifugaram-se as amostras a 2.200 rpm por 20 min e o sobrenadante foi descartado. Os espectros de fluorescência foram realizados num espectrômetro de luminescência Perkin Elmer LS50B pertencente a Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP, utilizando soluções de 10 mg kg<sup>-1</sup>

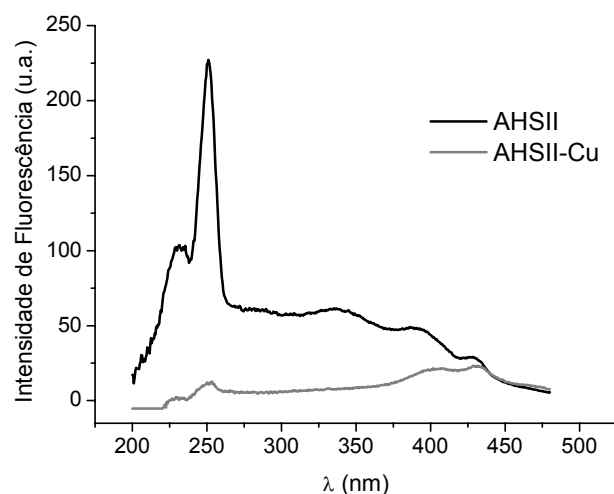
preparadas por diluição a partir de soluções de 2 mg de amostra em 10 mL de  $\text{NaHCO}_3$  0,05 mol  $\text{L}^{-1}$ . O pH dessas soluções foi ajustado para 8 com adição de NaOH ou HCl diluído. Os espectros de fluorescência foram adquiridos em 2 modos: excitação com emissão em  $\lambda = 500$  nm e emissão com excitação em  $\lambda = 330$  nm. A abertura das fendas de entrada e saída foi 10 nm e a velocidade de aquisição foi de 120 nm  $\text{min}^{-1}$ .

Os espectros de excitação e emissão de fluorescência obtidos para as distintas amostras estão mostrados nas figuras 1- 6, respectivamente.

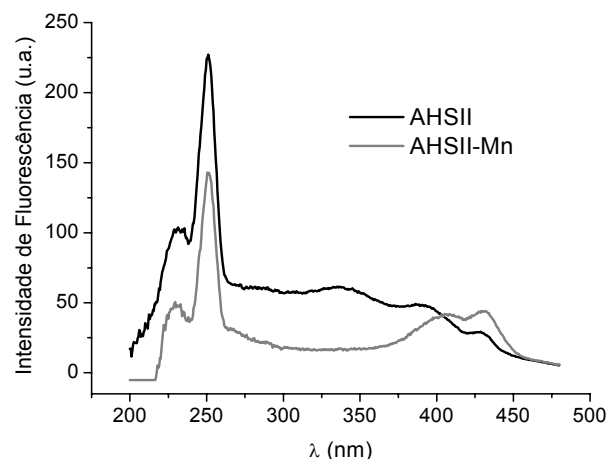
As Figuras 1-3 ilustram os espectros no modo excitação, obtidos para as amostras de AHS e amostras de complexos com AHS. Os espectros de excitação com emissão em  $\lambda = 500$  nm, obtidos para o AHSII e complexos mostraram máximos em 230, 250, 340, 390 e 430 nm.



**Figura 1.** Espectros de excitação com emissão em  $\lambda = 500$  nm de ácido húmico sintetizado a partir da p-benzoquinona (AHSII) e com metal ferro complexado (AHSII-Fe).



**Figura 2.** Espectros de excitação com emissão em  $\lambda = 500$  nm de ácido húmico sintetizado a partir da p-benzoquinona (AHSII) e com metal cobre complexado (AHSII-Cu).

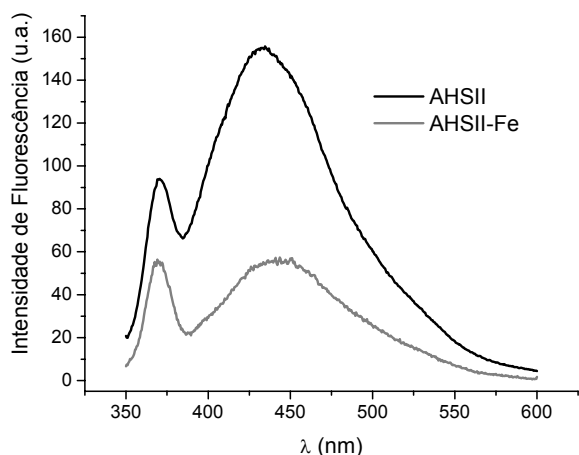


**Figura 3.** Espectros de excitação com emissão em  $\lambda = 500$  nm de ácidos húmicos sintetizados a partir da p-benzoquinona (AHSII) e com metal manganês complexado (AHSII-Mn).

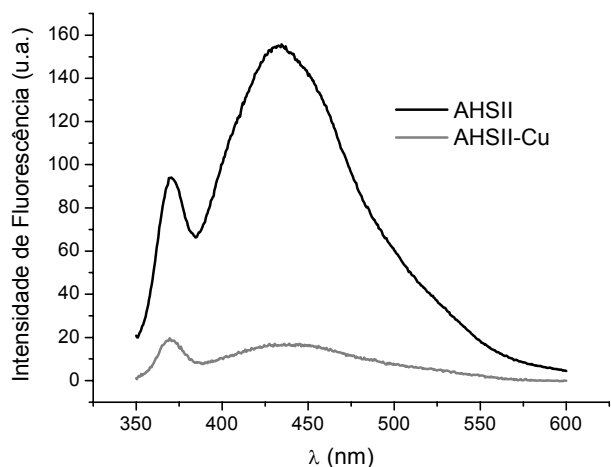
Após a complexação dos íons metálicos com as amostras de AHSII, todos os espectros (Figuras 1-3) mostraram uma diminuição da intensidade de fluorescência na região de comprimento de onda de 200 a 350 nm e um aumento da intensidade de fluorescência na região de comprimento de onda de 375 a 460 nm. Na região de comprimento de onda de 375 a 460 nm, houve um pequeno deslocamento das bandas para o vermelho. A diminuição da intensidade de fluorescência foi mais acentuada na amostra de AHSII complexada com o íon cobre.

A diminuição na intensidade de fluorescência pode estar relacionada com um aumento no tamanho molecular após a complexação dos íons metálicos<sup>9</sup>. O aumento da intensidade de fluorescência na região de 375 a 460 nm pode estar relacionado com a diminuição dos grupos COOH na molécula após a complexação com íons metálicos. Segundo Senesi et al.<sup>2</sup> os picos de fluorescência em comprimentos de ondas longos estão associados à presença de substituintes como grupos carbonilas e carboxílicos, havendo uma diminuição da intensidade de fluorescência com o aumento desses grupos na molécula. Spark e Swift<sup>8</sup> encontraram redução da intensidade relativa com o aumento do tamanho molecular, e, também obtiveram resultados que indicam um aumento da intensidade de fluorescência com o decréscimo de grupos C=O, C de aromáticos e grupos COOH.

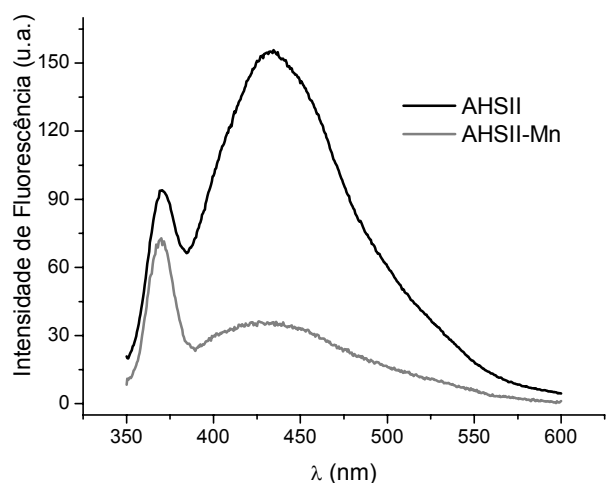
As Figuras 4-6 ilustram os espectros de emissão obtidos para as amostras de AHSII e amostras de complexos com os AHSII. Os espectros de emissão com excitação em  $\lambda = 330$  nm, obtidos para o AHSII e complexos, apresentaram uma banda em 370 nm e uma banda larga de emissão centrada em 433 nm.



**Figura 4.** Espectros de emissão com excitação em  $\lambda = 330$  nm de ácidos húmicos sintetizados a partir da p-benzoquinona (AHSII) e com metal ferro complexado (AHSII-Fe).



**Figura 5.** Espectros de emissão com excitação em  $\lambda = 330$  nm de ácidos húmicos sintetizados a partir da p-benzoquinona (AHSII) e com metal cobre complexados (AHSII-Cu).



**Figura 6.** Espectros de emissão com excitação em  $\lambda = 330$  nm de ácidos húmicos sintetizados a partir da p-benzoquinona (AHSII) e com metal manganês complexado (AHSII-Mn).

Para os espectros de emissão, após a complexação dos íons metálicos às amostras de AHSII, também podemos observar que todos os espectros (Figuras 4-6) mostraram uma diminuição da intensidade de fluorescência. Quando comparados, os complexos de AHSII com cobre(II), ferro(III) e manganês(II), observou-se que houve uma diminuição da intensidade de fluorescência mais acentuada na amostra de AHSII complexada com o íon cobre.

Estudos mostraram que quando íons  $\text{Cu}^{2+}$  são adicionados ao ácido fúlvico de solo ocorre nos espectros de emissão e ou excitação um considerável decréscimo na intensidade de fluorescência<sup>9</sup>. Os dois picos de excitação característicos do ácido fúlvico sofreram uma redução na intensidade que foi diretamente relacionada com a concentração do metal. A posição do pico em 465 nm permaneceu inalterada quando mais metal foi adicionado. No entanto, a intensidade relativa da banda em 360 nm decresceu gradualmente e houve um deslocamento para maiores comprimentos de onda<sup>9</sup>. Outro estudo<sup>9</sup>, também com ácido fúlvico, mostrou uma diminuição na intensidade de fluorescência na complexação com íons  $\text{Mn}^{2+}$ .

De acordo com Senesi<sup>9</sup>, acredita-se que a intensidade de fluorescência, nos modos de emissão e excitação, decresce com o aumento da massa molecular da amostra. Vários fatores podem contribuir para uma menor intensidade de fluorescência de moléculas grandes. Por exemplo, a presença de metais, como o ferro associado a sistemas eletrônicos  $\pi$ , pode diminuir a intensidade de fluorescência, aumentando a energia do estado singleto para o tripleto. Por outro lado, grupos doadores de elétrons tais como grupos hidroxil e metoxil, em pequenas moléculas, podem aumentar a fluorescência pelo aumento da probabilidade de transição entre os estados fundamental e singleto. Pode ocorrer deslocamento do comprimento de onda com a diminuição do tamanho molecular das frações, devido a mudanças no número e orientação dos grupos funcionais, ou a propensão da molécula para formar ligações de hidrogênio.

Com aumento na massa molecular, há um deslocamento do pico de emissão para o vermelho acompanhado por um alargamento. Esses efeitos são atribuídos a uma maior proximidade dos cromóforos aromáticos e ao conseqüente aumento da probabilidade de desativação dos estados excitados por "quenching" interno em moléculas com elevado peso molecular<sup>9</sup>.

Alberts *et al.*<sup>10</sup> compararam frações obtidas por cromatografia de exclusão de tamanho de três amostras, ácido fúlvico e húmico extraído de solo e matéria orgânica natural extraída de água de rio. Pela cromatografia o ácido húmico extraído de solo apresentou frações maiores e distribuição de

carbono diferente pela absorção UV, com relação àquela observada para o ácido fúlvico isolado do mesmo solo e o material orgânico extraído de água de rio. No entanto, a distribuição do material fluorescente no ácido húmico é muito similar àquele encontrado para o ácido fúlvico e matéria orgânica de água de rio. Eles observaram que os componentes fluorescentes da mistura ocorrem em frações específicas, com tamanho molecular menor, indicando que a fluorescência das três amostras, mesmo de fontes diferentes, pode estar aparentemente associada com moléculas do mesmo tamanho.

Uma óbvia consideração é a distribuição dos fluoróforos como uma função do tamanho molecular dos componentes da mistura. Intuitivamente, pode parecer que moléculas grandes têm maior potencial para possuir sistemas altamente conjugados, que podem proporcionar maior fluorescência. No entanto, moléculas com conjugação estendida, também são capazes de absorver luz. Misturas de ácidos húmicos têm em média maiores tamanhos moleculares do que ácidos fúlvicos, no entanto, foi mostrado que misturas de compostos com grandes tamanhos, definidos por ultracentrifugação, mostram menores intensidades de fluorescência por unidade de carbono do que materiais menores<sup>11</sup>.

É plausível que os fluoróforos presentes nas grandes moléculas de ácidos húmicos de solo estejam mais impedidos dentro do corpo da matriz hidrofóbica do que aqueles nos ácidos fúlvicos e materiais aquáticos.

## Conclusões

Os espectros de fluorescência dos ácidos húmicos sintéticos após a complexação de íons metálicos mostraram alterações nas bandas que estão associadas a mudanças estruturais. Essas mudanças observadas nos espectros de fluorescência com a adição dos íons metálicos  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ , podem estar indicando que os grupos fluoróforos estão de algum modo envolvidos na complexação.

## Agradecimentos

EMBRAPA Instrumentação Agropecuária, CNPq, CAPES.

<sup>1</sup> Conte, P. and Piccolo, A. *Environ. Sci. Technol.* **1999**, 33, 1682-1690.

<sup>2</sup> Senesi, N.; Miano, T.M.; Provenzano, M.R.; Brunetti, G. *Soil Sci.* **1991**, 152, 4, 259.

<sup>3</sup> Milori, D. M. B. P.; Martin-Neto, L.; Bayer, C.; Mielniczuk, J.; Bagnato, V. S. *Soil Sci.* **2002**, 167, 11, 739-749.

<sup>4</sup> Schnitzer, M.; Khan, S.U. *Soil organic matter*. Amsterdam: Elsevier Scientific, 1978. 319p

<sup>5</sup> Schulten, H.R.; Schnitzer, M. *Soil Sci.* **1997**, 162, 115-130.

<sup>6</sup> Sein, L.T.; Varnum, J.M.Jr.; Jansen, S.A. *Environ. Sci. Technol.* **1999**, 33, 546-552.

<sup>7</sup> Cataldo, F.; *Polymer Internat.* **1998**, 46, 4, 263-268.

<sup>8</sup> Spark, K.M. and Swift, R.S. In: Senesi, N. and Miano, T.M. (Ed) *Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health*. Elsevier Science B.V., **1994**. p. 153-160.

<sup>9</sup> Senesi, N. *Anal. Chim. Acta.* **1990**, 232, 77-106.

<sup>10</sup> Alberts, J.J.; Takács, M. *Organic Geochemistry.* **2004**, 35, 1141-1149.

<sup>11</sup> Alberts, J.J.; Takács, M. *Organic Geochemistry.* **2004**, 35, 243-256.



# Thermal analysis of humic substances extracted from contrasting pedoenvironments

Vinicius de Melo Benites(PQ)<sup>1\*</sup>, Jiří Kučerík(PQ)<sup>2</sup>, Beata Eموke Madari(PQ)<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Solos, Rua Jardim Botânico, 1024, Rio de Janeiro – RJ, CEP 22460-000, <sup>2</sup> Institute of Physical and Applied Chemistry, Faculty of Chemistry, Brno University of Technology, Purkyňova 118, 602 00 Brno, Czech Republic, <sup>3</sup> Embrapa Rice and Bean, \*e-mail: [vinicius@cnpq.embrapa.br](mailto:vinicius@cnpq.embrapa.br)

Palavras Chave: Calorimetry, termogravimetry, humic acids.

## Introduction

Thermal analysis is a simple and powerful tool to investigate some molecular aspects of humic substances. Thermogravimetry permits us to understand the resistance of these molecules to thermal degradation. Calorimetry is useful especially to identify heat effects and to its evaluation. For humic substances it can provide information on heat effects of single steps, and applied together with TG it can indicate the calorimetric types of degraded molecules. Moreover, it can also be used to compare the stability of humic substances, since peak onset temperatures are weight independent.

In this work, humic acids (HA) extracted from contrasting soils, including extreme examples for aliphaticity and aromaticity, were evaluated by the thermal analysis. Results show, that on one extreme, the HA of soils that are rich in black carbon feature a stable polycyclic aromatic nuclei, and on the other extreme, the HA of ornithogenic soils from the Antarctic are very aliphatic and easily thermodegradable structures.

## Results and Discussion

Six HA samples, extracted from soils representing very contrasting pedoenvironments, and a humic acid like substance, synthesized from Eucalyptus charcoal, were selected (Table I). The A1 sample was extracted from an ornithogenic soil profile from Antarctica. Samples SB5 and SV5 are from high altitude Atlantic Rain Forest soils, and IC7 from a High Altitude Rocky Black soil from Brazil<sup>1</sup>. Samples T6 and T7 were extracted from Amazonian anthropogenic dark earth soils.

Humic acids were extracted and purified as indicated by the International Humic Substances Society<sup>2</sup>. The precipitated HA samples (except the Antarctic HA) were treated with 0.5% HF + HCl solution twice, dialyzed, and lyophilized. Standard sample of peat HA from IHSS (no IS 103H) was used as reference in TG analysis.

Thermodecomposition curves of HA were obtained by a TGA-50 SHIMADZU thermogravimetric analyzer using  $3.3 \pm 0.1$  mg samples over static air. The initial weight was stabilized at 30°C and heating curve was obtained,

by 5°C min<sup>-1</sup> increments, to 105°C, with a holding time of 10 min, followed by heating at 5°C min<sup>-1</sup> rate up to 650°C. The first derivative curves (DTG) were obtained from the thermodecomposition curves. The weight loss at 105°C was considered as sample moisture. At the end of burning, the residue was considered as the ash content. The weight loss between 105 and 350°C and between 350 and 650°C was determined. The ratio of these two thermo-decomposition events was calculated and was defined as a thermogravimetric index (TGI).

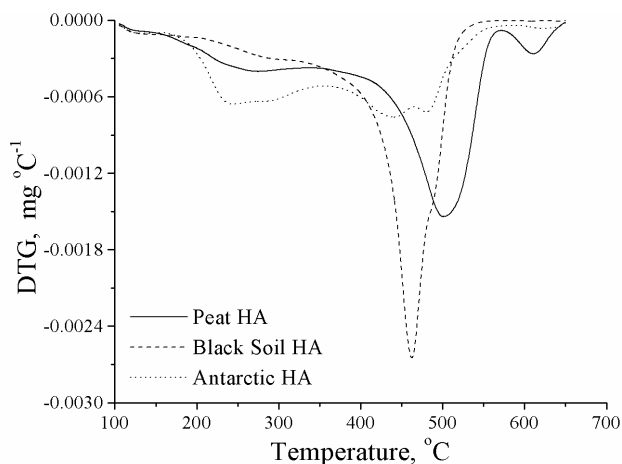
**Table 1.** Elemental composition of HA extracted from soils of different origin

code	Sample description	C H N			Atomic ratios		Moist	Ash
		Dry ash free basis			H:C	C:N		
SV5	Forest Black Soil HA	63.1	2.7	3.5	0.51	20.8	9.4	2.1
SB5	Forest Soil HA	55.5	4.1	4.3	0.90	14.8	4.5	1.1
IC7	HARC Black Soil HA	66.1	2.6	1.9	0.48	40.3	6.6	1.3
P5	Charcoal synthetic HA	62.1	1.9	2.5	0.37	28.2	9.9	0.3
T7	Anthropogenic Black Soil HA	50.8	4.5	5.9	1.07	9.9	3.8	9.2
T6	Anthropogenic Black Soil HA	59.4	4.4	6.1	0.90	11.2	5.1	8.6
A1	Antarctic Soil HA	50.3	7.1	7.3	1.71	8.0	12.8	3.8
IHSS	Peat HA (IS103H)	56.3	3.8	3.6	0.81	17.8	8.1	1.9

Differential Scanning Calorimetry (DSC) measurements were performed at the same temperature program described for TG by means of Shimadzu DSC 60 using  $1 \pm 0.1$  mg of HA sample. Measurements were realized in an open aluminum crucible with a flow rate of oxygen of 20 mL min<sup>-1</sup>, and an empty pan was used as reference.

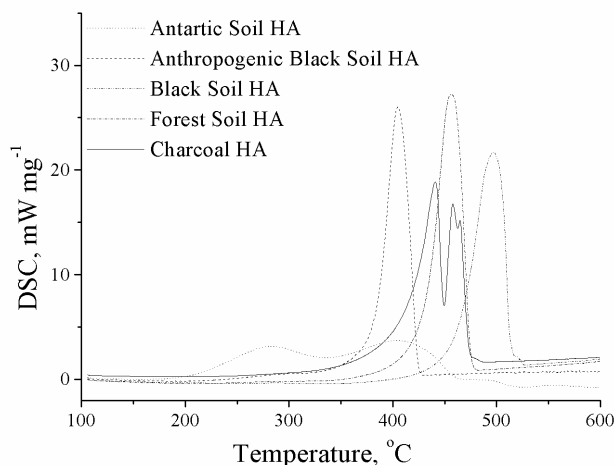
The DTG curves of HAs showed two well-defined burning events. The first one was associated with degradation of aliphatic, alicyclic, and partly of polar functional groups (i.e. biodegradable structures). The second degradation step could be contributed to the degradation of aromatic structures<sup>3</sup>. The relationship between the two peaks represents the resistance of humic substances to thermal degradation, which was described by a thermogravimetric index (TGI)<sup>1</sup>.

The TGIs for the different HA are presented in Table II. The IC7 HA sample, extracted from HARC Black soil, showed very high thermal resistance. The IC7 thermogravimetric curve was formed basically by a single peak between 350 and 650°C, resulting in high TGI (Figure 1). This indicates the occurrence of polycyclic aromatic structures that have greater thermal resistance. On the other extreme, the thermogravimetric curve of the Antarctic Ornithogenic HA showed two bands almost with the same area between 105 and 350°C and 350 and 650°C (Figure 1) due the presence of easily thermodegradable structures, possible aliphatic.



**Figure 1.** First derivative of thermogravimetric (DTG) curves of Black Soil HA (IC7), Antarctic HA (A1) and Peat HA (IHSS, IS103H)

The DSC record showed similar behavior as described for DTG (Figure 1). In fact, two well-defined degradation steps were shown (Figure 2). In Table II are given the basic DSC parameters: onset temperatures (extrapolated temperatures of the beginning of HA decomposition), and total heat evolution during HA samples analysis.



**Figure 2.** Differential scanning Calorimetry (DSC) of Black Soil HA (IC7), Antarctic Soil HA (A1), Anthropogenic Black Soil (T7) and Atlantic Rain Forest Soil (SV5)

**Table 2.** Results of thermogravimetric and calorimetric analysis of the analyzed HA samples. (LBI - percent of loss by ignition in the specified temperature range in relation with the total mass loss, TGI - Thermogravimetric Index) and calorimetric data of the analyzed HA samples

Code	Sample description	LBI		TGI	Onset °C	Total heat kJ/g
		105-350 °C	350-650 °C			
SV5	Forest Black Soil HA	23	77	3.38	205	7.11
SB5	Forest Soil HA	28	72	2.52	215	5.32
IC7	HARC Black Soil HA	15	85	5.62	228	7.60
P5	Charcoal Synthetic HA	22	78	3.63	238	6.59
T7	Anthropogenic Black Soil HA	24	70	3.36	213	6.39
T6	Anthropogenic Black Soil HA	23	63	2.74	217	7.82
A1	Antarctic Soil HA	46	54	1.17	195	6.19
IHSS	Peat HA (IS103H)	27	73	2.74	-	-

Thermal analysis of HA reflects the dynamics of soil organic matter development. The amount of evolved heat measured by DSC and calculated as the integration of total area under DSC curve is influenced by the degree of humification, and by the amount of oxygen in humic molecules. Higher aromaticity degree implies in higher heat evolution.

It is noteworthy that sample A1 (Antarctic soil) generated total amount of heat comparable with the other HA samples (Table 2). Moreover, the contribution of the first decomposition step was significantly higher in comparison with the other HA samples. This HA also had lower onset temperature, that suggests lower stability. Such results reflect biological soil formation processes that are exceptionally low in comparison with more moderate climates, and suggest the presence of greater amount of biodegradable molecular structures in relation to the aromatic ones in HA. In contrast, Forest Soil HA (SB5), which developed under conditions that are more favorable for humus synthesis, had higher onset temperature (Table 2). The sample IC7 (HARC Black Soil) had a great contribution of charred plant residues to the synthesis of its HA, that is reflected in the high humification degree and stability (i.e. high degree of aromaticity) of this sample<sup>1</sup>. The HA of Amazonian Anthropogenic Dark Earth soils (T6, T7) gave weak heat evolution in the first stage, and narrow peak in the second stage around 400°C (Figure 2). This is in concordance with climatic and other factors influencing organic matter formation in these soils, such as higher temperatures and high precipitation that contribute to the loss of the more biodegradable structures. The great amount of heat evolution, especially in case of sample T6, that is similar to that

of sample IC7 (HARC Black Soil), and the fact that this soil contains high amounts of pyrogenic carbon accumulated by anthropogenic activity, suggests, that the pyrogenic material had influence on the humification process and finally on the molecular composition of the HA fraction. The charcoal synthetic HA (P5) showed the highest stability (onset temperature)(Table 2) and the most complex DSC curve (Figure 2). The cleavage of its DSC curve suggests that aromatic part consist of highly heterogeneous mixture of cyclic and polycyclic molecules.

## Conclusions

Although thermal analysis is a simple technique, its permits understand the resistance of these molecules to thermal degradation and identify heat effects and to its evaluation.

Humic acids from different origins have a different thermal behavior showing in one extreme easily thermodegradable aliphatic molecules and in the other extreme the high recalcitrant polycyclic aromatic ones

## Acknowledgements

Thanks are extended to Dr. Miloslav Pekař for providing background for this collaboration.

---

<sup>1</sup>. Benites, V.M., Mendonça, E. de S., Schaefer, C.E.G.R., Novotny, E.H., Reis, E.L. and Ker, J.C.: *Geoderma* 127, 104-113, 2005.

<sup>2</sup>. Swift, R. S., in: *Methods of soil analysis: Chemical methods* (Sparks K., et al., ed.), chapter XXX, p. 1011. SSSA, Madison 1996.

<sup>3</sup>. Kučerik J., Kovář J., and Pekař M.: *J. Therm. Anal. Cal.* 76, 55 (2004).

## Caracterização de ácidos húmicos em diferentes profundidades de Neossolos hidrofóbicos sob plantios de *Pinus taeda*

Cristiane R. Budziak<sup>1</sup> (PG), Yorleni C. Cambroner<sup>2</sup> (TC), Claudia M.B.F. Maia<sup>3\*</sup> (PQ), Renato A. Dedecek<sup>3</sup> (PQ), Antonio S. Mangrich<sup>1</sup> (PQ), Kelly M. Narimoto<sup>4</sup> (PG), Débora M.B.P. Milori<sup>4</sup> (PQ)

<sup>1</sup> Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, CP 19081, 81531-970 Curitiba - PR

<sup>2</sup> Engenharia Florestal e aluna especial do Curso de Pós-graduação em Solos da UFPR

<sup>3</sup> Embrapa Florestas, Caixa Postal 319, CEP 83411-000, Colombo, PR.

<sup>4</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, 1452, Cp. 741, CEP: 13560-970, São Carlos, SP.

\*e-mail: maia@cnpf.embrapa.br

Palavras Chave: ácidos húmicos, solos florestais

### Introdução

A repelência à água é observada freqüentemente em solos florestais e é causada principalmente pela natureza da matéria orgânica do solo<sup>1</sup>. Na primeira fase de nosso estudo, o objetivo foi caracterizar a variação nas estruturas químicas das substâncias húmicas no perfil de um solo repelente à água.

As amostras foram obtidas em solo classificado como NEOSSOLO LITÓLICO Distrófico, textura média, fase campo nativo, relevo suave ondulado<sup>2</sup>, sob plantio de *Pinus taeda* aos 16 anos, no município de Pirai do Sul, PR, em área de propriedade da Cia. Iguazu de Papel e Celulose. As amostras foram tomadas às profundidades de 0 a 5, 5 a 10 e 10 a 30 cm, durante o outono de 2005. Os ácidos húmicos foram extraídos pelo método do IHSS<sup>3</sup> e caracterizados por EPR, IVTF, UV-VIS, Fluorescência e DRX.

### Resultados e Discussão

Os ácidos húmicos foram obtidos pelo método recomendado pela IHSS. As análises de UV-VIS das amostras sólidas foram feitas utilizando-se um espectrofotômetro Shimadzu UV-2401PC, equipado com esfera de integração 240-52454-01. Estas análises foram realizadas no LABPAM, Depto. de Química, UFPR. Nesta técnica, através das absorções em 465 nm ( $E_4$ ) e em 665 nm ( $E_6$ ) e conseqüente relação  $E_4/E_6$ , faz-se medida da condensação/conjugação e/ou tamanho molecular das substâncias húmicas estudadas.

**Tabela 1.** Razões das absorbâncias em UV-VIS dos ácidos húmicos nos comprimentos de onda 270 e 407 nm ( $E_2/E_4$ ) e 465 e 665 nm ( $E_4/E_6$ ).

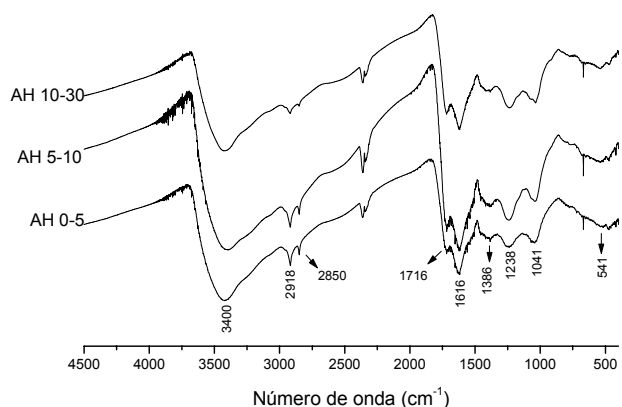
Amostras	$E_2/E_4$	$E_4/E_6$
AH 0-5	0,707	1,109
AH 5-10	0,859	1,103
AH 10-30	0,827	1,081

A razão  $E_2/E_4$  ( absorções em 270 e em 407 nm) mais alta sugere a maior participação de estruturas de ligninas (absorção em 270 nm).

A baixa razão  $E_4/E_6$  observada nas amostras indica o aumento de estruturas orgânicas conjugadas. A razão  $E_4/E_6$  diminui com a profundidade.

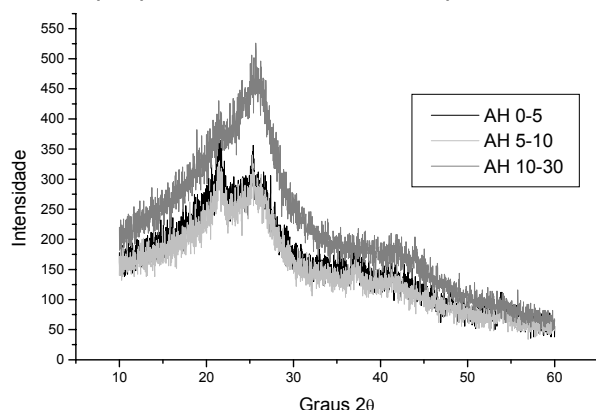
Os espectros de IVTF foram obtidos em Espectrofotômetro Bomen FTIR MB 100 em pastilhas de KBr. As bandas de absorção dos espectros na região do infravermelho de ácidos húmicos são compatíveis com aquelas encontradas na literatura<sup>4</sup>. As principais bandas de absorção dos espectros de FTIR de AH são mostradas na Figura 1. Nos espectros, as amostras de AH apresentaram uma banda larga e de grande intensidade centrada na região de  $3400\text{ cm}^{-1}$ , atribuída ao estiramento O-H de grupos fenólicos e/ou carboxílicos com ponte de hidrogênio e/ou OH de álcoois e/ou NH. Bandas a  $2918$  e a  $2850\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas à estiramento assimétrico de C-H alifáticos<sup>5</sup> ( $-\text{CH}_2$ ), com intensidade menor em profundidade de 10-30 cm. Observa-se bandas de estiramento C=O de ácidos carboxílicos livres ( $1716\text{ cm}^{-1}$ ). Em  $1616\text{ cm}^{-1}$  observa-se estiramento C=C de anel aromático, e na região de  $1400 - 1370\text{ cm}^{-1}$  observa-se deformação O-H, deformação de C-H ( $-\text{CH}_2$ ;  $-\text{CH}_3$ ), estiramento simétrico do  $\text{COO}^-$ ; em  $1238$  e  $1041\text{ cm}^{-1}$  observa-se absorções referentes a éteres aromáticos e vinílicos. Em  $1170 - 950\text{ cm}^{-1}$  estiramento C-O de álcoois e/ou fenóis e/ou carboidratos, impurezas de silicatos (Si-O); Absorções em  $541\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas à oscilação torcional de  $\text{NH}_2$  de aminas.

As análises de difração de raios-X das amostras de AH foram realizadas por um difratômetro Shimadzu XRD-6000 utilizando radiação Cu  $K\alpha$  ( $\lambda=1,5418\text{ \AA}$ ) com parâmetros de 40 kV e 40 mA. Os ângulos de varredura variando de 10 a  $60^\circ$  ( $2\theta$ ) foram corridos em 30 minutos.



**Figura 1.** Espectro de infravermelho das amostras de ácido húmico em diferentes profundidades.

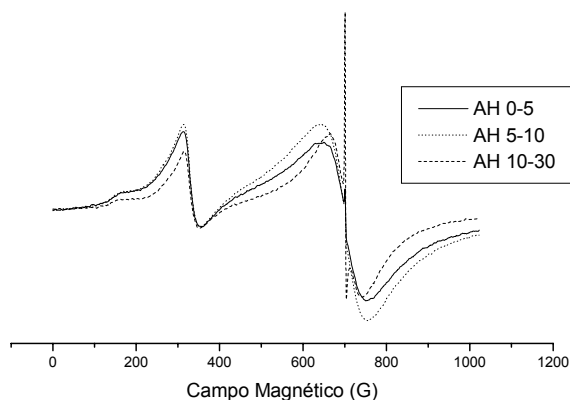
Os difratogramas de raios-X de pó para os ácidos húmicos (Figura 2) evidenciam a aromaticidade como um importante indicador de origem, estabilidade e reatividade química de materiais húmicos em solo. Para os ácidos húmicos o difratograma é subdividido em duas áreas, bandas G (aromáticos) em  $\sim 25,5^\circ$  e bandas  $\gamma$  (alifáticos) em  $\sim 20,5$  à  $21^\circ$ . Observa-se nos difratogramas uma maior intensidade de aromáticos para a amostra AH 10-30, que para as amostras mais superficiais.



**Figura 2.** Difratogramas de raios-X dos ácidos húmicos.

Os espectros de EPR foram registrados em espectrofotômetro Bruker ESP 300E, à temperatura ambiente ( $\sim 300$  K), operando em banda -X (frequência nominal de 9,5 GHz), empregando 100 kHz de frequência de modulação de campo magnético e amplitude de modulação em função do material em análise. Cerca de 100 mg de amostra foram colocados em tubo de quartzo de 3 mm de diâmetro interno. A quantificação do número de radicais livres orgânicos (RLO) (número de spins.g<sup>-1</sup> de AH) foi obtida pela área dos sinais de radical livre através da integral dupla do espectro de RPE, usando o padrão Bruker "strong pitch" (SP). Para obtenção do número de spin g<sup>-1</sup> das amostras registra-se o espectro em faixa de campo magnético de 50 Gauss ao redor do campo magnético do sinal do RLO ( $\sim 3350$ G), com amplitude de modulação (AM) de 2 Gauss. Nesta AM, os sinais largos

devidos aos centros de Fe<sup>3+</sup> em domínios concentrados, que aparecem na mesma região do espectro, são minimizados. Tanto as amostras de AH quanto o padrão de SP são posicionados, da mesma forma (mesma altura) dentro da cavidade do espectrômetro de EPR.



**Figura 3.** Espectros de EPR dos ácidos húmicos.

Os radicais livres orgânicos (RLO) das amostras de AH apresentaram valores de g variando entre 2,0025 e 2,0027, típicos de RLO de semiquinonas. Os dados de teores de RLO por grama de AH (Tabela 2) aumentaram com a profundidade. A amostra AH 10-30 apresenta menor intensidade da linha em g = 4,3 correspondente aos domínios diluídos de íons Fe<sup>3+</sup> (Figura 3).

**Tabela 2.** Valores de spin/g e g(corrigido com padrão interno de strong pitch) para as amostras de ácidos húmicos.

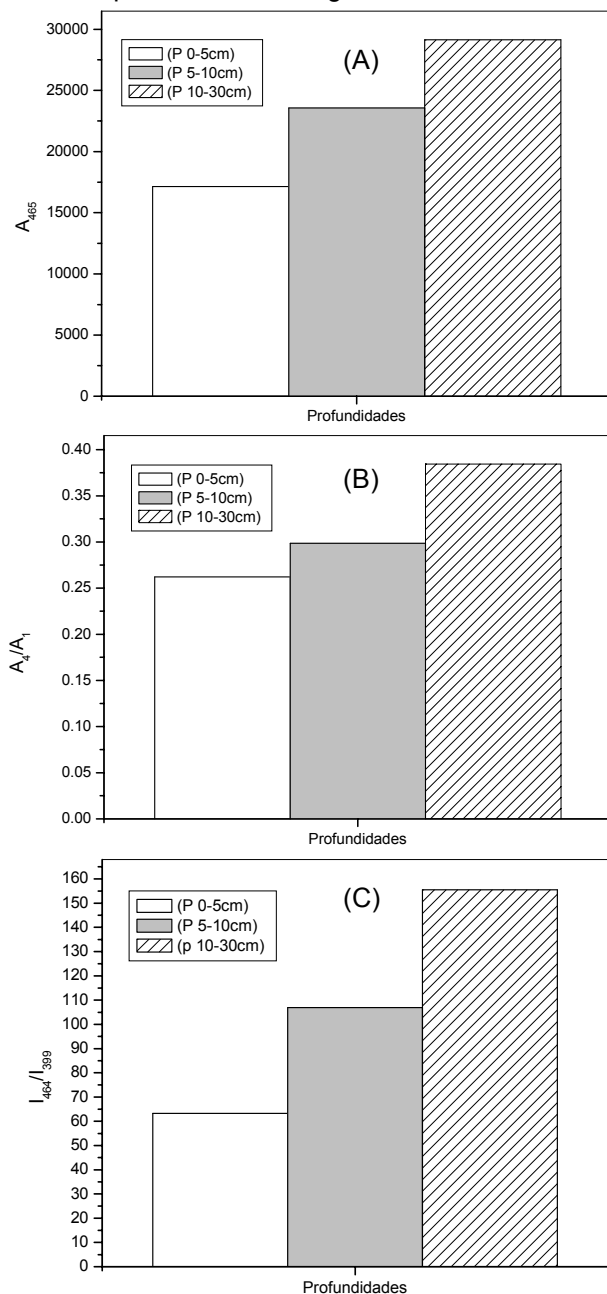
Amostra	Spin.g <sup>-1</sup>	Fator g
AH 0-5	2,96277E+16	2,0026
AH 5-10	8,10632E+16	2,0025
AH 10-30	8,57356E+16	2,0027

A espectroscopia de fluorescência por luz UV-Visível fornece informações que podem ser usadas para diferenciar e classificar a MO natural de acordo com a sua origem, gênese e natureza, também para identificar estruturas moleculares e funcionalidades, sendo sensível à presença de metais pesados e contaminantes orgânicos. As principais vantagens são alta sensibilidade e seletividade e somente os grupos funcionais que fluorescem podem ser observados. Os espectros de fluorescência das substâncias húmicas são constituídos pela soma dos espectros dos diferentes tipos de fluoróforos presentes nelas, conseqüência da complexidade molecular e heterogeneidade das mesmas. Baseado nestes fatos, é possível propor a fluorescência como técnica para estudar os processos de humificação<sup>6</sup>. O grau de humificação (Figura 4) foi determinado através das metodologias propostas por Milori et al. (2002)<sup>6</sup>, Zsolnay et al. (1999)<sup>7</sup> e Kalbitz et al. (1999)<sup>8</sup>.



Os experimentos de fluorescência foram realizados com soluções de  $\text{NaHCO}_3$   $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  do AH em concentração de  $20 \text{ mg L}^{-1}$  e  $\text{pH}=8$ . Utilizou-se espectrômetro de luminescência Perkin Elmer LS-50B com abertura de fendas de entrada e saída de  $10 \text{ nm}$  e a velocidade de aquisição de  $500 \text{ nm/min}$ .

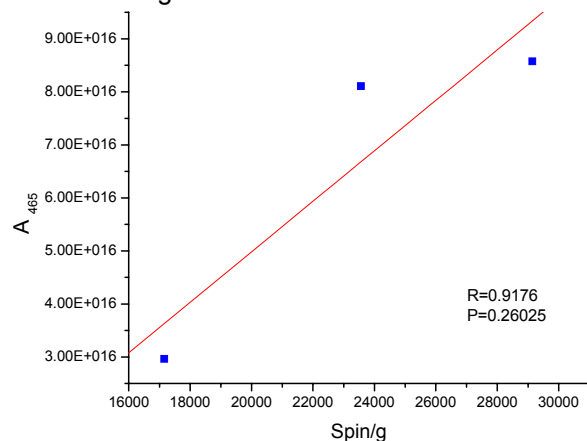
Os valores dos índices de humificação obtidos por fluorescência, calculados para cada método, estão representados na Figura 4.



**Figura 4.** Diagramas de barras representativos dos índices de humificação obtidos através da fluorescência pelas metodologias: (A) Milori, (B) Zsolnay, (C) Kalbitz.

Após obtidos os resultados de fluorescência foi feita a correlação com os resultados obtidos pela técnica de EPR. A correlação do número de radicais livres do tipo semiquinona e o grau de humificação

obtido pela metodologia de Milori (2002) está mostrada na figura 5.



**Figura 5.** Correlação das técnicas de EPR com fluorescência pela metodologia de Milori (2002).

Ambas as técnicas mostraram um incremento do grau de humificação com o aumento da profundidade para este solo sob cultivo de pinus.

## Conclusões

A caracterização espectroscópica dos ácidos húmicos extraídos de Neossolo Litólico mostrou-se que, com o aumento da profundidade do solo, houve um aumento de estruturas orgânicas conjugadas, maior intensidade de grupos aromáticos e de radicais livres orgânicos, aumento no grau de humificação e diminuição de grupos alifáticos na fração dos ácidos húmicos. Estes resultados sugerem um maior caráter hidrofóbico na superfície, o que está de acordo com os testes de repelência já realizados com estas amostras (dados não publicados).

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Iguazu Celulose e Papel Ltda. pela concessão das amostras de solos.

<sup>1</sup> Buczko, U.; Bens, O.; Hüttl, R.F. Variability of soil water repellency in sandy forest soils with different stand structure under Scots pine (*Pinus sylvestris*) and beech (*Fagus sylvatica*). *Geoderma*, 126, **2005**, 317-336.

<sup>2</sup> EMBRAPA. Sistema brasileiro de classificação de solos. Embrapa Solos, **1999**, 412p.

<sup>3</sup> Swift, R.S. Organic matter characterization (chap 35). pp. 1018-1020. In D.L. Sparks et al. (eds) *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods*. Soil Sci. Soc. Am. Book Series: 5. **1996**, SSSA, Madison, WI

<sup>4</sup> Rosa, A. H.; Rocha, J. C. Furlan, M. Substâncias Húmicas de turfa: Estudo dos parâmetros que influenciam no processo de extração alcalina. *Química Nova*, 23, (4), **2000**, p 472.

<sup>5</sup> Miikki, V.; Senesi, N.; Hänninen, K. Characterization of humic material formed by composting of domestic and industrial biowastes. *Chemosphere*, 34, (8), **1997**, 1639-1651.

<sup>6</sup> 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 Sci.*, v.167 (11), **2002**, p.739-749.

<sup>7</sup> Kalbitz, K.; Geyer, W.; Geyer, S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances – a reflection of land use history in a fen area. *Biogeochemistry*, v. 47, **1999**, p. 219-238.

<sup>8</sup> Zsolnay, E.; Baigar, M.; Jimenez, B.; Steinweg, N. A.; Saccomandi, F. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere*, v. 38, **1999**, p. 45-50.

## Atividade de ácidos húmicos extraídos de vermicomposto com diferentes solventes

Luciano Pasqualoto Canellas<sup>1</sup> (PQ), Victor Marcos Rumjanek<sup>2\*</sup> (PQ), Daniel Basílio Zandonadi<sup>1</sup> (PG), Roberto Batista Marques Júnior<sup>1</sup> (PG), Marihus Altoé Baldotto<sup>1</sup> (PG) e Arnoldo Rocha Façanha<sup>3</sup> (PQ)

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Laboratório de Solos. Av. Alberto Lamego, n. 2000, CEP 28013-602, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil. bolsista CNPq

<sup>2\*</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, km 47 Antiga Rio-SP, Seropédica CEP 23851-970 RJ, Brasil. No momento na Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Exatas e Naturais, Departamento de Química, Campus do Guamá, Av. Augusto Corrêa 1, Guamá, Belém 66075-110 PA

<sup>3</sup> Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Biociências e Biotecnologias. Laboratório de Biologia Celular e Tecidual. \*e-mail: rumjanek@ufpa.br

Palavras Chave: ácidos húmicos, ressonância magnética nuclear, bioatividade.

### Introdução

Substâncias húmicas isoladas de vermicomposto podem afetar o crescimento e o metabolismo de plantas através de mecanismos ainda não esclarecidos<sup>1</sup>. O uso de vermicomposto produz plantas com um aspecto mais saudável, melhor estado nutricional e melhor qualidade alimentar quando comparados com plantas cultivadas com adubação convencional<sup>2</sup>. Canellas *et al.*<sup>3</sup> verificaram que ácidos húmicos (AH) isolados de vermicomposto tem a propriedade de induzir a síntese de H<sup>+</sup>-ATPases da membrana plasmática. O meio mais comum de regulação da síntese de H<sup>+</sup>-ATPase de membrana plasmática por AH é aquele observado por auxinas, que podem induzir a síntese *de novo* em tecidos vegetais e este efeito foi inclusive observado com AH isolados de vermicomposto<sup>4</sup>.

Canellas & Façanha<sup>5</sup> observaram diferenças marcantes na natureza química de ácidos húmicos e fúlvicos em função da profundidade do solo. Isto sugere uma relação entre natureza química e bioatividade, uma vez que substâncias húmicas mais condensadas promovem um estímulo mais acentuado de H<sup>+</sup>-ATPases microssomais de raízes de milho. Alguns estudos sugerem um modelo de estrutura para os AH em que moléculas relativamente pequenas agrupam-se em uma conformação supramolecular estabilizada somente por forças tênues tais como interações dispersivas (van der Waals e ligações  $\pi$ ) e ligações hidrogênio<sup>6</sup>. A presença de pequenas moléculas bioativas tais como ácido indolacético, dentro do arranjo supramolecular dos AH, poderia estar relacionada com a indução da ativação de H<sup>+</sup>-ATPases. Nardi *et al.*<sup>1</sup> observaram a presença de ácido indolacético, através de imunoensaios, em substâncias húmicas isoladas de outras fontes. Solventes diferentes podem extrair AH com

diferentes características e bioatividades. Assim, Schnitzer & Schulpli<sup>7</sup> observaram, através de RMN de <sup>13</sup>C, um grau maior de aromaticidade em AH isolados com Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> do que quando isolados com NaOH. Resultados semelhantes foram obtidos por Dick, com AH isolados de solos subtropicais<sup>8</sup>.

Este estudo tem por objetivo isolar AH de vermicomposto com diferentes solventes e verificar quais extratos promovem mais eficientemente o desenvolvimento radicular e o estímulo de H<sup>+</sup>-ATPases da membrana plasmática.

### Resultados e Discussão

Ácidos húmicos foram isolados de vermicomposto utilizando-se 4 solventes diferentes: acetona acidificada com HCl [0.6 mol L<sup>-1</sup> + conc. HCl 8:2 (v:v), abreviado por AC]; NaOH 0.1 mol L<sup>-1</sup> (abreviado por N); KOH 0.1 mol L<sup>-1</sup> (abreviado por K) e Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0.1 mol L<sup>-1</sup> (abreviado por P). As principais características destes AH estão mostradas na Tabela 1.

Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H dos AH isolados com os diferentes solventes são mostrados na Figura 1.

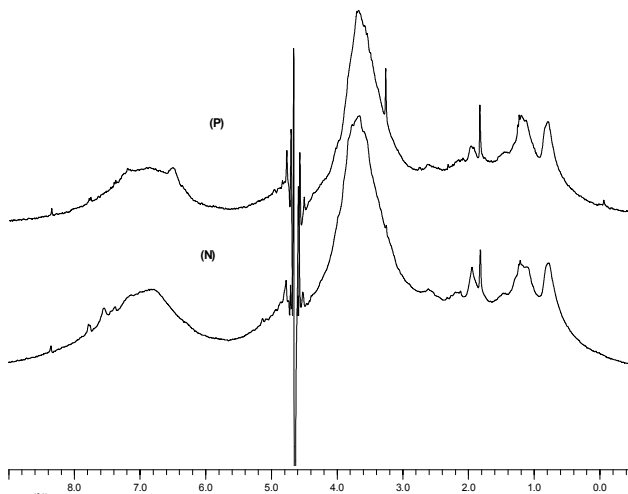
Os espectros de IV das amostras também foram obtidos, mas foram omitidos aqui por requisitos de espaço.

Os conteúdos de C, H e N dos AH isolados com acetona/HCl são aproximadamente a metade daqueles achados para os AH isolados com os outros solventes. No entanto, o conteúdo de O é significativamente maior nos AH isolados com acetona/HCl, o que produz altos valores de O/C, sugerindo um material húmico mais oxidado. Os AH isolados com AC apresentam tanto a maior razão H/C quanto o menor grau de aromaticidade, quando comparados com os AH isolados com os outros solventes, revelando assim sua natureza alifática mais acentuada. O grau de aromaticidade aumenta na ordem acetona/HCl < Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> < NaOH < KOH. Um estímulo marcante do crescimento radicular de

trigo foi observado para todos os AH. O menor incremento foi observado para o AH isolado com AC e o maior para o AH isolado com KOH. Semelhantemente, o AH extraído com KOH foi o que promoveu o maior estímulo da atividade de H<sup>+</sup>-ATPases enquanto que o AH isolado com AC foi o que menos estimulou a atividade desta enzima.

**Tabela 1.** Principais características de Ácidos Húmicos isolados de vermicomposto com diferentes solventes.

Características	Solventes			
	Acetona / HCl	Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	NaOH	KOH
C (g kg <sup>-1</sup> )	243.3	464.1	499.1	514.0
H (g kg <sup>-1</sup> )	27.4	45.0	52.8	48.3
N (g kg <sup>-1</sup> )	15.1	26.0	27.7	28.4
O(g kg <sup>-1</sup> )	714.2	464.9	420.9	409.3
C/N	18.8	20.8	21.4	21.1
H/C	1.4	1.2	1.3	1.1
O/C	2.2	0.8	0.6	0.6
Fórmula Mínima	C <sub>19</sub> H <sub>25</sub> N <sub>1</sub> O <sub>41</sub>	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> N <sub>1</sub> O <sub>16</sub>	C <sub>21</sub> H <sub>27</sub> N <sub>1</sub> O <sub>13</sub>	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> N <sub>1</sub> O <sub>13</sub>
Massa Molecular Mínima	927	538	505	493
Acidez total (cmolc kg <sup>-1</sup> )	1350	704	684	675
Ac. carboxílica (cmolc kg <sup>-1</sup> )	387	201	192	184
Acidez fenólica (cmolc kg <sup>-1</sup> )	963	503	492	491
razão E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub>	4.5	5.25	6.5	6.0



**Figura 1.** Espectros de AH isolados de vermicomposto com diferentes solventes.

## Conclusões

Apesar de os AH isolados de vermicomposto com diferentes solventes apresentarem semelhanças estruturais, é possível determinar diferenças entre eles, especialmente quando se observa, por exemplo, o espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 1). Apesar de os espectros se assemelharem, é possível observar, para o AH isolado com acetona/HCl, um sinal intenso entre 4.5 e 5.5 ppm, referente a cadeias laterais de aminoácidos (ou peptídeos), cuja presença pode ser corroborada por sinais na região de H amídicos (7.8 e 8.4 ppm), o que está de acordo com o caráter ácido do solvente utilizado. No entanto, o AH isolado com acetona/HCl foi o que menos estimulou os parâmetros utilizados neste estudo. Por outro lado, o AH isolado com KOH 0.1 mol L<sup>-1</sup> foi o que produziu os maiores estímulos. O fato de que este AH é o que apresenta o maior grau de aromaticidade, leva a crer que o estímulo maior observado deve ser produzido por moléculas semelhantes ao ácido indolacético.

## Agradecimentos

Ao CNPq (471910/2003-1), FAPERJ (E26/170.526/2004) e IFS (c 3391-1) pelo apoio financeiro.

<sup>1</sup> Nardi, S.; Pizzeghello, D.; Muscolo, A.; Vianello, A. *Soil Biology & Biochemistry* **2002**, *34*, 1527.

<sup>2</sup> Almeida, D.L. *Contribuição da adubação orgânica para a fertilidade do solo*. 1991. Dissertação (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí.

<sup>3</sup> Canellas, L.P.; Façanha, A.O.; Olivares, F.L.; Façanha, A.R. *Plant Physiology*, **2002**, *130*, 1951.

<sup>4</sup> Quaggiotti, S.; Ruperti, B.; Pizzeghello, D.; Francioso, O.; Tugnoli, V.; Nardi, S. *Journal Experimental Botany* **2004**, *55*, 803.

<sup>5</sup> Canellas, L.P.; Façanha, A.R. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **2004**, *39*, 233.

<sup>6</sup> Simpson, A. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2002**, *40*, 572.

Diallo, M. S., Simpson, A., Gassman, P., Faulon, J. L., Johnson, J. H., Goddard, W. A., Hatcher, P. G. *Environmental Science and Technology* **2003**, *37*, 1783.

<sup>7</sup> Schnitzer, M.; Schulplli, P. *Canadian Journal Soil Science* **1989**, *69*, 253.

<sup>8</sup> Dick, D.P.; Burba, P.; Herzog, H. *Journal Brazilian Chemical Society* **1999**, *10*, 140.

## Caracterização química e conteúdo de substâncias húmicas em vermicompostos de origem animal e vegetal

Rosa Maria Vargas Castilhos<sup>1</sup>(PQ) \*, Deborah Pinheiro Dick<sup>(2)</sup> (PQ), Tânia Beatriz Morselli <sup>1</sup>(PQ) Wagner Casagrande <sup>2</sup> (IC), Paula Fernanda Pinto da Costa<sup>1</sup>(IC)

<sup>1</sup>Depto Solos, UFPEL, Caixa Postal 354, CEP 96010- 900, Pelotas, RS; <sup>2</sup>Instituto de Química, UFRGS Av. Bento Gonçalves, 9500. 91501-907-Porto Alegre. \*e-mail: rosamvc@ufpel.edu.br

Palavras Chave: grau humificação, ác. fúlvico, ác. húmico.

### Introdução

A utilização sustentável de resíduos orgânicos como fertilizantes e condicionadores de solo requer a sua maturação e monitoramento da qualidade do material resultante. Alguns resíduos necessitam de uma prévia decomposição antes de serem incorporados ao solo, a fim de reduzir possíveis efeitos adversos. A vermicompostagem tem sido usada com o objetivo de produzir em tempo reduzido, um resíduo parcialmente decomposto que não cause prejuízos ao solo, à planta e ao meio ambiente. Diversos resíduos orgânicos têm sido utilizados como matéria prima para vermicompostagem, obtendo-se produtos finais com diferentes características e teores de matéria orgânica. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade de seis vermicompostos com respeito ao teor de ácidos húmicos (AH) e de ácidos fúlvicos (AF) e as suas características químicas e moleculares. Foram estudadas amostras de vermicompostos, coletadas após 70 dias de compostagem das seguintes matérias-primas: esterco bovino (EB), esterco ovino (EO), esterco suíno (ES) e esterco de codorna (EC), borra de café (BC) e de erva-mate (BE). Os vermicompostos foram secos em estufa a 65-70°C até peso constante, e moídos em gral para determinação do carbono orgânico total (COT), pelo método Walkley-Black (Tedesco et al., 1995). O fracionamento químico da matéria orgânica em AH e AF foi feito com base na solubilidade em meio ácido e básico (Dick et al., 1997). A 1 g de vermicomposto adicionou-se 30mL de HCl 0,5mol L<sup>-1</sup>, e o sistema foi agitado por 2h. O sobrenadante, contendo a fração não húmica (SNH), foi separado por centrifugação (15min a 2500rpm), e o volume total foi medido. Ao resíduo sólido adicionou-se 30mL de NaOH 0,5mol.L<sup>-1</sup>, procedeu-se a agitação por três horas e centrifugação (15min a 2500rpm), repetindo-se este procedimento até o sobrenadante ficar claro. Em cada extração o sobrenadante, contendo as substâncias húmicas solúveis (SH= AH+AF), foi transferido para um frasco coletor, e o volume final foi completado a 200mL. Retirou-se uma alíquota

para análise de carbono, e o restante foi acidificado com HCl 0,5mol L<sup>-1</sup> até pH 2,0. Após 24

horas de repouso, o AH, insolúvel em pH ácido, foi separado por centrifugação do AF, solúvel. O teor de carbono nos extratos de SNH, AF, SH foi quantificado espectroscopicamente, medindo-se a absorvância a 580nm, após reação com solução ácida de dicromato de potássio 0,625 mol L<sup>-1</sup>, durante 4 horas, a 60°C, empregando-se uma curva padrão de D-glucose anidra de 0 a 200mol C.L<sup>-1</sup>. O carbono contido na forma de AH foi estimado por diferença entre o carbono do extrato de SH e o carbono do extrato de AF. As amostras de AH foram purificadas com solução de HCl+HF 5%/5% (v/v), e secas em estufa à vácuo a 60°C. Os AF foram purificados por tratamento em resina XAD-8, seguido de tratamento com resina IR-120. Amostras de AF purificados foram secos em estufa à vácuo a 60°C. Nas amostras purificadas de AH e AF e nos vermicompostos inteiros foi determinada a composição elementar (CHN) (Perkin Elmer, 2400) e o teor de oxigênio nos AH e AF foi calculado por diferença de 1000 g kg<sup>-1</sup>, após correção dos valores para uma base livre de cinzas. O teor de cinzas foi determinado gravimetricamente, após calcinação a 750°C durante 4 horas.

Adicionalmente, as amostras purificadas foram analisadas por espectroscopia de infra-vermelho em pastilhas de KBr (Shimadzu 830FTIR). Os espectros de FTIR foram interpretados segundo Dick et al (2003). A partir dos dados de FTIR (análises em duplicatas), foi calculado o índice de aromaticidade  $I_{1600}/I_{2920}$  (Chefezt et al, 1996), dividindo-se a intensidade de absorção em torno de 1620 cm<sup>-1</sup> pela intensidade a 2922 cm<sup>-1</sup>. O valor da intensidade foi obtido utilizando o software do aparelho, após ajustar-se a linha de base geral do espectro em três a quatro pontos no mesmo (aproximadamente em 3800, 1750, 980 e 500 cm<sup>-1</sup>). Para a medição da intensidade dos grupos aromáticos estabeleceu-se uma linha de base entre 1696 e 1530 cm<sup>-1</sup> e para os grupos alifáticos, entre 3000 e 2800 cm<sup>-1</sup>.

### Resultados e Discussão

O conteúdo de carbono orgânico total variou de 231,6 mg g<sup>-1</sup> a 456,9 mg g<sup>-1</sup>, sendo inferior nos vermicompostos de resíduos de origem animal, com exceção do EC. (Tabela 1) O vermicomposto de EC apresentou o menor teor de SH, o que pode estar

relacionado com a composição do resíduo: após a vermicompostagem fragmentos de serragem, que é um material lignítico, usado como cama para as codornas, eram ainda visíveis. O valor mais elevado de SH foi observado no BC, indicando que este resíduo apresenta o maior teor de substâncias húmicas solúveis. A distribuição percentual do carbono entre as frações orgânicas corrobora a maior proporção de SH no BC (76%) e menor no EC (7,7%). Observou-se também uma maior proporção de AH (até 55%) do que de AF (até 21%) nos vermicompostos estudados.

Em geral, a compostagem é acompanhada pelo aumento do índice de humificação  $HI = AH/AF$  e do percentual de ácidos húmicos  $HP = AH/SH \cdot 100$ . Os vermicompostos de origem vegetal (BC e BE) apresentaram maior HI e HP (Tabela 1), indicando grau de maturação mais elevado nestes dois materiais (Chefetz et al., 1996).

A razão C/N dos vermicompostos variou de 5,8 a 7,9 sendo os maiores valores observados nas amostras de origem vegetal. Nestas amostras, BC e BE, a razão H/C foi de 1,0 e 0,92, respectivamente. Com exceção da amostra EC, a razão H/C nas amostras de origem animal foi  $\geq 1,0$ , sugerindo um caráter mais alifático do que as de origem vegetal. O valor de 0,36 observado para a amostra EC pode estar relacionado à presença da serragem

**Tabela 1.** Teor de carbono orgânico total (COT) e na forma de SH, AH e AF, em  $mg\ g^{-1}$ , índice de humificação (HI), percentual de ácidos húmicos (HP) razão C/N e razão atômica H/C da matéria orgânica de seis vermicompostos.

	EB	BC	EC	BE	EO	ES
COT	326 d	457 a	413 b	374 c	269 e	232 f
SHS	132 b	348 a	32 d	144 b	146 b	76 c
AH	67 c	252 a	6,5 e	104 b	94 b	33,5 d
AF	65 b	96,6 a	25,2 d	40,2 c	52 b	42,3 c
HI	1,02	2,61	0,26	2,57	1,81	0,79
HP	51	72	21	72	64	44
C/N	6,8	7,9	7,3	7,5	6,2	5,8
H/C	1,1	1,0	0,36	0,92	1,2	1,0

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade. EB: esterco bovino; BC: borra de café; EC: esterco de codorna; BE: borra de erva-mate; EO: esterco ovino; ES: esterco suíno.

O teor de cinzas nos AH foi inferior a 1 % enquanto nos AF variou de 12 a 46 %. Os AH em média apresentaram teores mais elevados de C e de N, e menores valores de O do que AF (Tabela 2). Estas diferenças se refletem nos valores da razão C/N e da razão O/C: AF são mais oxigenados e menos nitrogenados do que seus respectivos AH

(Tabela 3). Em comparação a amostras de solos, a composição química dos AH foi semelhante à observada em AH pedogênicos, com exceção do teor de N que foi em média mais elevado (5,4 a 6,3%). A elevada razão O/C, observada nos AF (0,98 a 1,43) indica serem estas amostras mais oxigenadas do que as usualmente encontradas em solos.

**Tabela 2.** Composição elementar de ácido húmicos e ácidos fúlvicos de vermicompostos

Amostra	C	H	N	O
----- mg g <sup>-1</sup> -----				
Ácidos húmicos				
EB	537	59,1	41,8	362
BC	550	55,0	52,5	342
EC	536	58,5	44,4	361
BE	552	63,3	49,3	335
EO	533	56,3	45,8	365
ES	536	58,8	44,3	361
Ácidos fúlvicos				
EB	322	71,2	22,7	546
BC	358	42,4	21,7	578
BE	397	44,6	25,7	532
EO	400	44,8	30,7	524

As amostras de AH e AF apresentaram o mesmo padrão de espectro de FTIR (Figuras 1 e 2), onde os principais grupos funcionais e respectivas regiões de absorção foram identificados: estiramento de -OH em ponte ( $3400\ cm^{-1}$ ); estiramento de C-H alifático ( $2920$  e  $2850\ cm^{-1}$ ), estiramento de C=O de grupos -COOH ( $1720\ cm^{-1}$ ), estiramento C=C de grupos aromáticos ( $1640\ cm^{-1}$ ), estiramento C-N-H de amidas ( $1550\ cm^{-1}$ ) deformação de -CH alifático ( $1434\ cm^{-1}$ ), absorção de Si-O e outras ligações em silicatos na região de  $1031\ cm^{-1}$  (Dick et al, 2003). Nas amostras de AF as bandas de absorção de C=O e de C=C foram proporcionalmente mais intensas do que nos respectivos AH. A maior proporção de grupos carboxílicos é confirmada pelos valores elevados de razão O/C nos AF (Tabela 3).

Os espectros de FTIR dos vermicompostos (Figura 3) diferenciam-se principalmente daqueles das SH pelo não aparecimento ou baixa intensidade da banda de C=O de carboxílicos ( $\approx 1720\ cm^{-1}$ ). Nos espectros das amostras de origem animal a banda de absorção atribuída à ligação C-O é proporcionalmente mais acentuada, indicando a presença mais abundante de polissacarídeos.

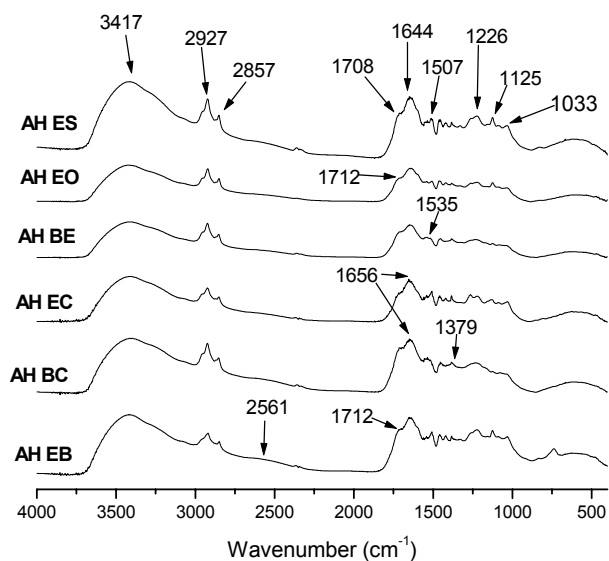
O valor do índice de aromaticidade  $I_{1600}/I_{2920}$  obtido por FTIR nos AF mais elevado em relação



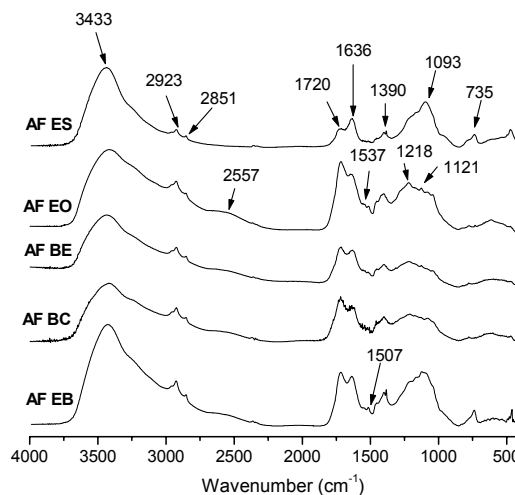
aos AH (Tabela 3), discordam das variações de H/C. Provavelmente, a existência de carboxilatos nestas amostras, que também absorve em  $1600\text{ cm}^{-1}$ , conduz à superestimação da absorção dos aromáticos. O elevado teor de oxigênio obtido nos AF (Tabela 2) confirma esta hipótese. Os menores valores de aromaticidade foram obtidos nos AH de BC e BE. As diferenças quanto a origem do vermicomposto foram mais evidentes nos AH, que são mais abundante do que AF nos vermicompostos estudados. Os AH das amostras de origem vegetal (BC e BE) são menos oxigenados ( $< O/C$ ), contém mais N e são menos aromáticos ( $< I_{1620}/I_{2920}$ ) do que as SH de origem animal (EB, EC, EO, ES).

**Tabela 3.** Razão C/N, razões atômicas H/C, O/C e índice de aromaticidade FTIR ( $I_{1620}/I_{2920}$ ) de ácidos húmicos e ácidos fúlvicos de vermicompostos

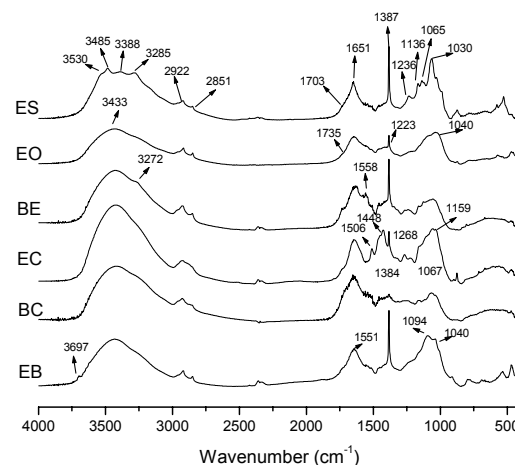
Amostra	H/C	C/N	O/C	$I_{1620}/I_{2920}$
Ácidos húmicos				
EB	1,32	12,85	0,50	1,11
BC	1,20	10,47	0,46	0,69
EC	1,31	12,07	0,50	1,12
BE	1,38	11,20	0,46	0,57
EO	1,27	11,63	0,51	0,77
ES	1,32	12,11	0,50	0,75
Ácidos Fúlvicos				
EB	2,67	14,16	1,43	1,05
BC	1,42	16,48	1,21	7,53
BE	1,35	15,48	1,00	1,58
EO	1,34	13,04	0,98	1,38



**Figura 1.** Espectros de FTIR de AH



**Figura 2.** Espectros de FTIR de AF.



**Figura 3.** Espectros de FTIR de vermicompostos

## Conclusões

A quantificação das substâncias húmicas permitiu diferenciar os vermicompostos quanto à sua composição de substâncias húmicas, onde o teor de SH decresceu na seqüência: borra de café > esterco ovino > erva-mate > esterco bovino > esterco suíno > esterco de codorna. O grau de maturidade foi superior nos vermicompostos de resíduos de origem vegetal (borra de café e de erva-mate). Os ácidos húmicos destes dois vermicompostos apresentaram menor grau de oxigenação e menor caráter aromático.

## Agradecimentos

O CNPq e FAPERGS pelas bolsas de Iniciação Científica.

<sup>1</sup>Chefetz, B., Hatcher, P., Hadar, Y., Chen, Y. **1996.** J. Environ. Qual, 25: 776-785.

<sup>2</sup>Dick, D. P.; Dick, Y. P.; Da Silva, L. F.; Essig, C.; Zortea, R. B. **1997.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.21,n.1, p.1-8.

Dick, D.P.; Santos, J.H.Z.; Ferranti, E.M. **2003.** Rev. Bras. Ci. Solo, 27: 29-39.

Tedesco, M. J.; Gianello, C.; Bissani, C. A.; Bohnen, H.; Volkweiss, S. J. Análise de solos, plantas e outros materiais. **1995.** 174p

## Estudo da proteção física da matéria orgânica do solo pelo fracionamento densimétrico com iodeto e politungstato de sódio.

Paulo Cesar Conceição<sup>1\*</sup> (PG), Madalena Boeni<sup>1</sup> (PG), Jeferson Dieckow<sup>2</sup> (PQ), Ladislau Martin-Neto (PQ)<sup>2</sup>, Cimélio Bayer<sup>1</sup> (PQ), João Mielniczuk<sup>1</sup> (PQ), Rafael Anzanello<sup>1</sup> (IC)

<sup>1</sup> Departamento de Solos da UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS.

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de novembro, 1452, Cx Postal, 741, São Carlos, SP

\*e mail: pconceicao@hotmail.com

Palavras Chave: matéria orgânica, politungstato.

### Introdução

O fracionamento físico baseado no tamanho (granulométrico) ou na densidade (densimétrico) das partículas do solo é utilizado em estudos de quantificação e caracterização dos compartimentos da matéria orgânica (MO) do solo<sup>1,2,3,4,5</sup>. O fracionamento granulométrico<sup>1</sup> baseia-se na dispersão do solo mediante uso de ultra-som ou agentes dispersantes e separação por peneiramento da matéria orgânica particulada (MOP) de tamanho areia (>53 µm). O fracionamento densimétrico permite estudar a relação entre a composição da MO, sua localização na estrutura do solo e interação com a fração mineral, com base na diferença de densidade entre a fração leve (FL) e fração pesada (FP), mediante o uso de líquidos com densidade de 1,5 a 2,4 g cm<sup>-3</sup>. A FL consiste em MO particulada, derivada dos resíduos de plantas, raízes e hifas que ainda apresentam estruturas celulares reconhecíveis. A FL é sensível às práticas de manejo, o que a torna uma importante fração na avaliação da qualidade do sistema de manejo no curto prazo. A FP representa a matéria orgânica em estágio avançado de decomposição, associada aos minerais do solo<sup>1,3</sup>, sendo mais estável e com maior tempo de residência no solo do que a FL<sup>6</sup>. A FL pode ser dividida em Fração Leve Livre (FLL) e Fração Leve Oclusa (FLO). A FLL está presente entre agregados, possuindo composição comparável àquela de materiais vegetais e cujo único mecanismo de proteção atuante é a recalcitrância intrínseca do material<sup>7</sup>. A FLO está localizada dentro dos agregados, compreendendo um diversificado conjunto de compostos orgânicos, com grau de decomposição mais avançado em comparação a FLL. A estabilidade da FLO advém da recalcitrância molecular e, principalmente, da oclusão ou proteção física por agregados<sup>7</sup>.

Dentre os produtos utilizados no fracionamento densimétrico, destacam-se o politungstato de sódio (PTS), que permite obtenção de meios com densidade até 2,9 g cm<sup>-3</sup>, e o iodeto de sódio (NaI), com densidade máxima ao redor de 1,85 g

cm<sup>-3</sup>. A eficiência de um produto comparativa ao outro não tem sido discutida e os resultados de literatura demonstram grandes variações em função do produto utilizado. Dessa maneira, os objetivos desse trabalho foram avaliar o efeito do uso do NaI e do PTS, na densidade de 1,8 g cm<sup>-3</sup>, e o efeito do aumento da densidade do segundo produto para 2,0 e 2,2 g cm<sup>-3</sup> nos resultados obtidos no fracionamento densimétrico da MO de solos da região Sul do Brasil (subtropical) e da região do Cerrado (tropical) (estudo 1). Visou-se também, verificar a influência desses resultados na avaliação da proteção física como mecanismo de estabilização da MO em diferentes sistemas de manejo (estudo 2).

Dois solos foram utilizados nesse trabalho. O primeiro solo amostrado foi um Argissolo Vermelho distrófico<sup>8</sup>, textura franco-argilosa (220 g kg<sup>-1</sup> de argila), caulínítico, substrato granito localizado na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, Eldorado do Sul (RS), tendo sido o experimento instalado em 1985. O segundo solo amostrado foi um Latossolo Vermelho distroférrico<sup>8</sup>, textura muito argilosa (630 g kg<sup>-1</sup> de argila), álico, em experimento instalado em 1995, em área experimental da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados (MS).

Para avaliação da FL total no estudo 1, foram utilizadas amostras de solo coletadas na profundidade de 0-5 cm, moídas a 2mm, no Argissolo sob tratamento de aveia+ervilhaca/ milho+caupi implantado sob plantio direto (PD AVMC) com 180 kg de N aplicados à cultura do milho e no Latossolo sob pastagem permanente de *Brachiaria decumbens*. Para obtenção da FLL e FLO no estudo 2, amostras de agregados da mesma camada dos solos foram separadas em peneira de 9,51 mm, secas ao ar e submetidas ao fracionamento densimétrico da MOS, utilizando NaI 1,8 g cm<sup>-3</sup> e PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup>. No Argissolo os tratamentos amostrados nesse caso foram PD AVMC e PC AM (preparo convencional aveia/milho) ambos sem adubação nitrogenada. No Latossolo amostrou-se o preparo convencional (PC) e *Brachiaria decumbens* (Pastagem). As amostras do Argissolo foram coletadas no final do ciclo das culturas de inverno do ano de 2003, antes do preparo do solo para a semeadura da cultura de verão, correspondendo a primeira quinzena de outubro enquanto que as amostras do Latossolo foram

coletadas após a colheita das culturas de verão, no mês de abril de 2004. O pH da solução de Nal foi mantido em 4,0 para ser igual ao do PTS e as análises foram efetuadas em triplicatas para cada densidade.

Para a obtenção da FLL, 20 g de agregados foram colocados em tubo de centrifuga de 100 mL contendo 80 mL do produto na densidade desejada. O tubo foi fechado com rolha e invertido lenta e manualmente por cinco vezes, evitando o rompimento dos agregados. A suspensão foi centrifugada a 2000 g por 90 minutos e o sobrenadante contendo a FLL da MOS foi passado, sob vácuo, em filtro de fibra de vidro WHATMANN, previamente pesado. Para retirar o excesso de Nal ou PTS, foi passada água destilada pelo filtro, o qual foi seco a 60°C por 24 horas, e quantificado quanto à massa da FLL+filtro. Para separar a FLO, a solução de Nal ou PTS foi retornada ao tubo contendo o centrifugado que foi ressuspensão e submetido à dispersão com ultrassom, com energia de 250 J mL<sup>-1</sup> para o Argissolo e 450 J mL<sup>-1</sup> para o Latossolo. Após a dispersão, a suspensão foi novamente centrifugada e a FLO obtida por filtragem da mesma forma que a FLL.

Após a retirada da FLO, o material que restou no tubo, correspondendo a FP, foi transferido para peneira de 53 µm e lavado com jatos de água. O material retido na peneira, composto de areia e MOP, foi transferido para potes de 100 mL e seco em estufa a 60°C. Essa fração foi denominada de C-Areia e correspondeu, a uma parte da fração leve não recuperada como FLL ou FLO. Para a obtenção da FL total foi utilizada a mesma seqüência acima sem a retirada prévia da FLL. As frações densimétricas, a obtida em peneira e o solo integral foram analisadas em relação aos teores de carbono orgânico (CO) pelo método da combustão seca em analisador Shimadzu-TOC-V CSH. O CO da fração pesada foi obtido por diferença entre o CO do solo integral e o CO da FL (estudo 1) ou FLL+FLO (estudo 2).

Para verificar o efeito da mudança de produto e de densidade do mesmo na qualidade da MO foram efetuadas análises de RMN <sup>13</sup>C para o material recuperado como FL total. Os estoques de CO nas diferentes frações e no solo integral foram calculados em massa equivalente. Os resultados foram submetidos à análise da variância considerando um delineamento inteiramente casualizado e as diferenças entre médias avaliadas pelo teste de Tukey a 5%.

## Resultados e Discussão

O rendimento de carbono da FL total foi 152% maior no Argissolo e 166% maior no Latossolo quando o Nal foi substituído por PTS, ambos na densidade de 1,8 g cm<sup>-3</sup> (Quadro 1). Uma possível causa talvez é a formação de complexos da matéria orgânica do solo com o íon I<sup>-</sup> aumentando a densidade da fração particulada e diminuindo a recuperação da FL com o uso do Nal. A recuperação de carbono na FL de ambos os solos aumentou em torno de 57% com o aumento da densidade da solução de PTS de 1,8 g cm<sup>-3</sup> para 2,0 g cm<sup>-3</sup>. Porém, o subsequente incremento na densidade de 2,0 g cm<sup>-3</sup> para 2,2 g cm<sup>-3</sup> não foi tão expressiva na recuperação de carbono na FL, cujo incremento foi somente de 5% para o Latossolo e 21% para o Argissolo.

**Tabela 1.** Efeito do Iodeto de Sódio (Nal) e Politungstato de Sódio (PTS) e da densidade do PTS na recuperação de carbono nas frações leve (FL) C-areia e pesada (FP), e na concentração de ferro na FL, na camada de 0 a 5 cm de dois solos.

Solo	Produto	Dens g cm <sup>-3</sup>	FL .....g	C-Areia C kg <sup>-1</sup> solo.....	FP*	Ferro .mg g <sup>-1</sup> FL..
Argissolo	Nal	1,8	1,83 d	1,67 a	19,52	30,94
		2,0	7,25 b	0,22 b	14,10	46,10
	PTS	1,8	4,62 c	0,44 b	16,74	26,40
		2,2	8,76 a	0,22 b	12,60	43,50
Latossolo	Nal	1,8	1,50 c	1,30 a	24,43	72,36
		2,0	6,31 a	0,44 bc	19,62	83,80
	PTS	1,8	3,99 b	0,75 b	21,93	56,60
		2,2	6,64 a	0,40 c	19,29	77,00

\*= obtida pela diferença entre o COT e a FL

A subestimação da concentração de CO da FL pelo uso de Nal é reforçada pelos teores de CO recuperado na fração C-Areia que representou 91% do CO da FL para o Argissolo e 87% para o Latossolo (Tabela 1). Como a metodologia utilizada para a obtenção da fração C-areia é a do fracionamento granulométrico<sup>1</sup>, assume-se que esse material ficou retido nessa classe de tamanho não por possuir ligações com as partículas simples de tamanho areia, mas sim, por tratar-se de MOP com esse tamanho de partícula e que, portanto, deveria ter sido recuperada como FL. Com a utilização do PTS 1,8 g cm<sup>-3</sup> houve uma redução na quantificação de carbono na fração C-Areia de 73% no Argissolo e 42% no Latossolo. O aumento na recuperação de CO como FL, pelo aumento da densidade de PTS, foi acompanhada por um acréscimo na concentração de ferro na FL (Tabela 1), sugerindo uma contaminação dessa fração orgânica com fração mineral (óxidos de Fe e argila). Estimou-se que a contaminação da FL com CO da fração argila variou de 4,1 a 12,1% no Argissolo de 1,6 a 3,4% no Latossolo, sendo inferior ao ganho de rendimento em função da alteração da densidade do PTS em todos os tratamentos.

**Tabela 2.** Estoque de C na Fração leve livre (FLL), leve oclusa (FLO), areia (C-Areia), pesada (FP) e no solo integral (COT) e, relação da variação das frações com a variação do COT em dois sistemas de preparo, duas densidades e dois produtos.

Solo	uso	Prod	Dens	FLL	FLO	C <sub>Areia</sub>	FP*	COT	Δ fração/ Δ COT			
									FLL	FLO	C <sub>Areia</sub>	FP
			-g cm <sup>-3</sup>			-----Mg ha <sup>-1</sup> -----						
Argissolo	PC	Nal	1,8	0,40	0,26	0,28	6,54	7,20				
	PD	Nal	1,8	0,92	0,51	1,16	10,67	12,10	0,11	0,05	0,18	0,84
	PC	PTS	2,0	0,38	1,08	0,14	5,74	7,20				
	PD	PTS	2,0	1,29	3,74	0,15	7,07	12,10	0,19	0,54	0,01	0,27
Latossolo	PC	Nal	1,8	0,41	0,18	0,36	10,35	10,94				
	Pasto	Nal	1,8	0,96	0,29	0,79	16,27	17,52	0,08	0,02	0,06	0,90
	PC	PTS	2,0	0,75	1,62	0,20	8,57	10,94				
	Pasto	PTS	2,0	1,51	3,14	0,30	12,87	17,52	0,12	0,23	0,02	0,65

\* = obtida pela diferença entre o COT e a FLL+FLO

Δ = PD-PC; para o Argissolo e Pastagem-PC; para o Latossolo

Comparando as duas frações leves entre si (Tabela 2) obtidas no estudo 2, ocorre uma alteração na interpretação dos resultados em função do produto utilizado. Enquanto com o Nal 1,8 g cm<sup>-3</sup> a FLL é preponderante sobre a FLO, independente do sistema de manejo e do tipo de solo, ao usarmos PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup>, a FLO passa a ser preponderante sobre a FLL. Dessa maneira, o efeito da agregação como mecanismo de proteção da MOS torna-se evidente pois é recuperado de 2 a 3 vezes mais material ocluso do que leve livre no solo quando do uso de PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup>, em todos os sistemas.

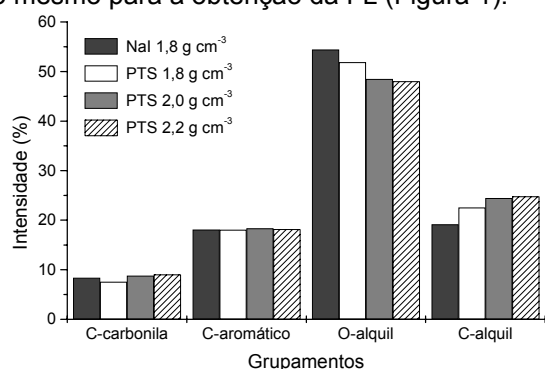
A maior recuperação de CO pelo uso de PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup> teve influência nas diferenças obtidas nos estoques das frações leves entre os sistemas de manejo para o Argissolo e para o Latossolo. Enquanto com o uso do Nal a diferença no estoque de CO na FLL entre o Argissolo em PC AM e o Argissolo em PD AVMC foi de 0,52 Mg ha<sup>-1</sup> (Tabela 2), ao usar PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup> ela passou para 0,91 Mg ha<sup>-1</sup>, significando um incremento de 75% na recuperação do CO pelo uso do PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup>. Porém, é com relação a FLO que as diferenças se tornam mais expressivas. O uso de Nal resultou em quantificação de estoque de CO no PD AVMC de 0,51 Mg ha<sup>-1</sup>, sendo praticamente o dobro do obtido para o solo em PC AM (0,26 Mg ha<sup>-1</sup>). Com a utilização do PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup> o estoque de CO no solo em PD (3,74 Mg ha<sup>-1</sup>) foi 3,5 vezes superior ao estoque obtido para o solo em PC AM (1,08 Mg ha<sup>-1</sup>). Dessa forma, o PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup> recuperou 2,41 Mg C ha<sup>-1</sup> a mais como FLO, que o Nal, entre os sistemas de preparo, ressaltando o efeito do uso de sistema sem revolvimento na manutenção da MO do solo protegida como FLO. Isso significa que a utilização de sistemas com menor revolvimento do solo associado com maior complexidade de culturas e/ou adição de resíduos, possibilitou a entrada no sistema de

energia e matéria favorecendo os processos ordenativos que levaram a melhoria da qualidade do solo e ao surgimento das propriedades emergentes<sup>9</sup>. No Latossolo, a diferença no estoque de CO da FLL entre o solo em PC e o manejado com pastagem foi de 0,55 e 0,76 Mg ha<sup>-1</sup> utilizando o Nal 1,8 g cm<sup>-3</sup> e PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup>, respectivamente. Já para a FLO as diferenças foram de 0,11 Mg ha<sup>-1</sup> utilizando Nal 1,8 g cm<sup>-3</sup> e 1,52 Mg ha<sup>-1</sup> com o uso do PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup>. Assim, enquanto com o Nal 1,8 g cm<sup>-3</sup> a importância de sistemas conservacionistas na preservação da MO era pequeno, com o uso do PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup> fica claro a relevância de sistemas sem revolvimento no acúmulo e proteção da matéria orgânica. Dessa maneira, ao utilizarmos Nal apenas 5% da variação do estoque de COT entre os sistemas de manejo para o Argissolo e 2% para o Latossolo, foram devidos a FLO (tabela 2). Quando utilizado o PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup> verificou-se que 54 e 23% do acúmulo de CO entre os sistemas de manejo ocorreram na FLO (Δfração/ΔCOT), para o Argissolo e o Latossolo, respectivamente, evidenciando a importância da proteção física na estabilização e conseqüente acúmulo de MO no solo.

Para o Latossolo, 90% da diferença no acúmulo de CO entre o solo em PC e o solo da Pastagem ocorreu na FP utilizando Nal, enquanto que usando o PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup> 65% desse acúmulo do COT é quantificado como CO da FP (Quadro 2). Para o Argissolo a importância da proteção coloidal no acúmulo de MO sofre alteração maior em função do uso do PTS. Enquanto com o Nal 84% do acúmulo de MO é atribuído a FP, ao utilizarmos PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup> apenas 27% da diferença de CO é quantificado nessa fração. Assim, para os solos subtropicais e tropicais apenas aproximadamente 20% do CO encontra-se como FL nos sistemas com revolvimento. Para os sistemas conservacionistas, 42% e 27% do COT são mantidos como FL na região subtropical e tropical, respectivamente, aumentando a qualidade do solo.

A caracterização qualitativa da MO obtida pelo uso da técnica de RMN <sup>13</sup>C evidenciou que houve uma

diminuição do percentual de C O-alkil com a utilização do PTS e pelo aumento da densidade do mesmo para a obtenção da FL (Figura 1).



**Figura 1:** Distribuição dos grupamentos de carbono obtidos através de RMN 13C para a fração leve da matéria orgânica de um Latossolo tropical, obtida por fracionamento densimétrico com dois produtos e diferentes densidades.

Esse resultado é coerente com o fato de que houve pouca diferença na recuperação da FLL entre os tratamentos (Tabela 2) enquanto que para a FLO ocorreu um aumento de 4 a 10 vezes na recuperação de C entre as amostras fracionadas utilizando Nal 1,8 g cm<sup>-3</sup> e PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup>. Assim, o aumento do rendimento de C da FL foi acompanhado por uma alteração da proporção FLO/FLL, tendo como consequência o aumento dos sinais C-alkil, indicativo de uma

matéria orgânica mais humificada, pois a FLO possui um grau de humificação maior do que a FLL<sup>4,5,7</sup>. Calculando o índice C-alkil/ O-alkil obtém-se valores variando de 0,35 a 0,52, sendo o menor índice referente a FL obtida com Nal 1,8 g cm<sup>-3</sup>. Isso é coerente com a menor quantificação de material ocluso com o uso desse produto e também com o visualizado em microscópio ótico evidenciando que o material recuperado com o uso de Nal era constituído de resíduos menos decompostos.

## Conclusões

Para a mesma densidade do Nal, o uso do PTS resultou em maior rendimento da Fração leve, com conseqüente redução da concentração de C-areia.

O uso de Nal subestima a importância da oclusão em estudos de proteção física da MOS, sendo importante em estudos dessa natureza, a utilização de PTS 2,0 g cm<sup>-3</sup>.

<sup>1</sup> Cambardella, C. A. e Elliott, E. T. Soil Sci. Soc. A. J. 1992. 56, 777-783,

<sup>2</sup> Bayer, C. 240 p. PPGCS-UFRGS 1996. Tese.

<sup>3</sup> Pillon, C. N. 232p PPGCS-UFRGS 2000 Tese

<sup>4</sup> Roscoe, R. e Machado, P. L. O. A. Embrapa Agropecuária Oeste, 2002. 86p.

<sup>5</sup> Diekow, J.; Mielniczuk, J.; Knicker, H.; Bayer, C.; Dick, D. P. e Kögel-Knabner, I. Plant Soil, 2005 268, 319-328.

<sup>6</sup> Sollins, P.; Homann, P. e Caldwell, B. A. Geoderma, 1996 74, 65-105.

<sup>7</sup> Christensen, B. T. Adv. Soil Sci. 1992. 20, 1-90.

<sup>8</sup> Embrapa- 1999, 412p.

<sup>9</sup> Vezzani, F. 184p PPGCS-UFRGS 2001 Tese



## Validação do método para determinação de nitrogênio Kjeldahl total utilizando amostra de turfa

Jussara Aparecida de Oliveira Cotta<sup>1\*</sup> (PG), Fernanda Helena Salami<sup>2</sup> (IC), Maria Diva Landgraf<sup>1</sup> (PQ), Maria Olímpia Oliveira Rezende<sup>1</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo. Av. Trab. São-carlense, 400, Centro, CP 780, CEP 13566 – 590, São Carlos – SP.

<sup>2</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, Km 235, Rodovia SP-310.

\*e-mail: japcotta@iqsc.usp.br

Palavras Chave: nitrogênio, turfa, validação.

### Introdução

O nitrogênio, dentre os nutrientes minerais de plantas, é o que mais limita a produtividade agrícola por fazer parte da estrutura de grande número de compostos vitais aos vegetais. O nitrogênio no solo em suas formas orgânicas, que constituem, em geral, 95% ou mais do total de N presente na camada arável. Embora as plantas possam absorver pequenas quantidades de N, como compostos orgânicos de baixa massa molar, a grande maioria é absorvida na forma inorgânica, como  $\text{NH}_4^+$  e, principalmente,  $\text{NO}_3^-$ . Dentre os nutrientes existentes na matéria orgânica (MO), o nitrogênio destaca-se com maior ênfase no processo de mineralização<sup>1</sup>. A decomposição dos resíduos orgânicos por organismos do solo leva à conversão da forma orgânica de N a  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ .

A razão atômica entre C e N, designada razão C/N, indica o grau de incorporação do nitrogênio na estrutura húmica. Quando a MO com relação C/N alta é adicionada ao solo, os microrganismos utilizam o N dessa MO e o N existente no solo para produção de biomassa, diminuindo, dessa maneira, a relação C/N da MO adicionada<sup>1</sup>.

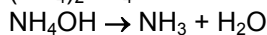
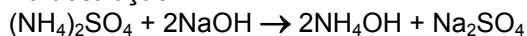
O ciclo global do N tem sido altamente modificado pela atividade humana em relação aos outros elementos. A utilização de fertilizantes nitrogenados e cultivo de leguminosas podem transferir mais N da atmosfera para formas biologicamente disponíveis em relação ao que é fixado por todos os processos combinados.

O termo “Nitrogênio Kjeldahl Total (NKT)” refere-se à combinação de amônia e nitrogênio orgânico. O método de determinação de NKT foi desenvolvido em 1883 por Johan Kjeldahl, e tornou-se um método de referência para determinação de nitrogênio. É aplicado para uma grande variedade de amostras: agricultura, produtos alimentícios, sedimentos e águas residuárias. O método consiste de uma completa digestão das amostras em ácido sulfúrico concentrado com catalisadores tais como sais de cobre e titânio em alta temperatura, variando de 300 a 450°C. Outros aditivos podem ser introduzidos durante a digestão de maneira a aumentar o ponto de ebulição do ácido sulfúrico. A

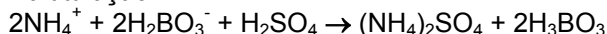
análise tradicional para determinação de NKT envolve 3 etapas: digestão, destilação e titulação. A Environmental Protection Agency (EPA)<sup>2</sup> recomenda o uso do método 351.x<sup>4</sup> para determinação de NKT.

Reações envolvidas:

Na destilação:



Na titulação:



Avaliar uma metodologia analítica é uma das etapas básicas em sistemas de qualidade, e integra os programas de Boas Práticas de Laboratório, visando assegurar que o método utilizado seja adequado ao que se propõe identificar ou quantificar, podendo empregar diferentes procedimentos em função do objetivo da análise. É uma forma de provar se um método analítico é aceito para a proposta pretendida<sup>3</sup>. A validação visa a diminuir ou controlar os fatores que levam à imprecisão ou inexatidão de um dado gerado<sup>4</sup>.

Existem diversas formas de se conduzir à validação de um método analítico. Neste trabalho é conveniente a comparação de precisão e exatidão entre duas amostragens de dados obtidos em condições diferentes. Teste “F” é um teste que consiste em se determinar as variâncias, colocando-se uma razão de variâncias,  $F_c$ , como na equação(1)<sup>5,6,7</sup>:

$$F_c = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (1)$$

Em que  $s_1$  é a estimativa do desvio padrão do conjunto 1 de resultados e  $s_2$  é a estimativa do desvio padrão para o conjunto 2. A maior variância é colocada no numerador e a menor no denominador, e a comparação de precisão é feita com base em valores tabelados de constantes F, dispostas de tal modo que, para um dado limite de confiança, podem ser estabelecidos  $F_t$ , de acordo com o número de amostragens.

O teste de t é usado para comparar um grupo de medidas com outro, a fim de decidir se são ou não diferentes. Para dois grupos de dados consistindo em  $n_1$  e  $n_2$  medidas, com médias  $\bar{X}_1$  e  $\bar{X}_2$ , calcula-se o valor de t utilizando a equação (2)<sup>5,6,7</sup>:

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{s \sqrt{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} \quad (2)$$

$$\text{onde } s^2 = \frac{[(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2]}{(n_1 + n_2 - 2)} \quad (3)$$

O valor calculado de t é comparado com o valor tabelado para  $n_1+n_2-2$  graus de liberdade. Geralmente determina-se o nível de probabilidade em 95%, portanto, se o valor obtido é menor que esta probabilidade, conclui-se que elas não são diferentes entre si. Para isso então, utilizamos para obtenção dos resultados o programa MINITAB.

O objetivo deste trabalho é comparar e validar a determinação de NKT por espectrometria na região do visível, utilizando equipamento HACH, método 8075, modelo DR/2500, aos obtidos pelo método de determinação de NKT tradicional.

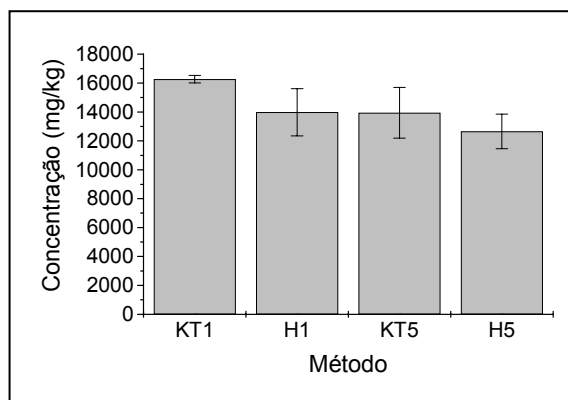
## Resultados e Discussão

O material de nosso estudo foi uma turfa coletada às margens do rio Mogi-Guaçu, no km 40 da rodovia SP-255, no município de Luís Antônio-SP.

No método 8075 do HACH<sup>8</sup>, refere-se ao NKT a combinação de amônia e nitrogênio orgânico, mas somente os compostos de nitrogênio orgânico que aparecem como nitrogênio ligado organicamente no estado trinegativo são analisados. Nitrogênio nesta forma é convertido em sais de amônio pela ação de ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio, amônia é então analisada pelo método Nessler modificado, a 460nm. No método tradicional a amostra é levada ao frasco digestor, adiciona-se 1,0g de solução digestora ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CuSO}_4$  e Se), 1,0g de ácido salicílico e 20mL de ácido sulfúrico concentrado pa. Aquece-se a mistura até 450°C, e leva-se ao sistema Kjeldahl. Em ambos os métodos foram feitas oito determinações, utilizando-se 0,1g e 0,5g da amostra.

Na figura 1 mostra-se a média e o desvio padrão das concentrações de NKT pelos métodos propostos, Kjeldahl tradicional com 0,1g (KT1) e 0,5g (KT5) da amostra, HACH com 0,1g (H1) e 0,5g (H5) da amostra, respectivamente. Nota-se através das descritivas acima (figura 1), que o método KT1 apresentou a maior concentração média de NKT e desvio padrão menor que os outros métodos. Isso se deve à pequena quantidade de íon amônio a ser titulado no método, em que o volume de ácido utilizado foi de 0,6mL (utilizando-se uma bureta de 25mL) em todas as medidas. Isso pode garantir um

erro sistemático, pode ter sido adicionada uma quantidade a mais do titulante. Deveríamos usar uma bureta de menor graduação, para evitarmos este tipo de erro. Obtivemos quase as mesmas concentrações no método H1, KT5 e H5. A tabela 1 apresenta os valores encontrados estatisticamente.



**Figura 1.** Concentrações NKT da amostra de turfa nos métodos propostos.

**Tabela 1.** Resultados estatísticos.

Método	Média	Desvio Padrão	Variância	IC(95%)
KT1	16272	266	70704	16051; 16494
H1	13981	1635	2673312	12616; 15345
KT5	13939	1757	3086953	12473; 15405
H5	12654	1196	1429282	11657; 13652

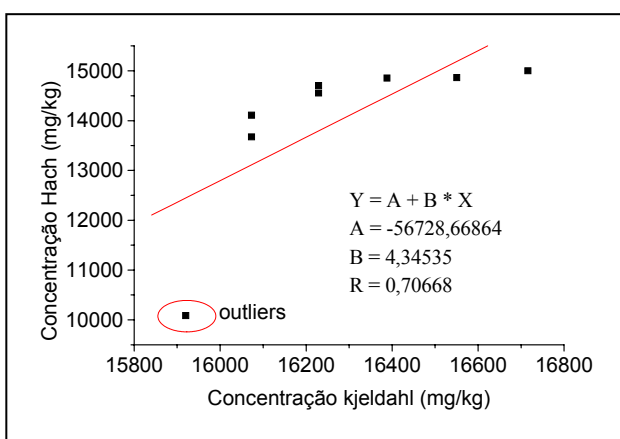
Uma nova metodologia analítica pode ser testada comparando seus resultados com aqueles obtidos usando uma segunda metodologia. Para o teste-F a hipótese nula adotada é que as populações de onde as amostras são tomadas são normais, e que as variâncias das populações são iguais. Se a hipótese nula é verdadeira, então a razão de variâncias deve ser muito perto de um. Já para o teste-t, têm-se duas médias amostrais; tomamos a hipótese nula, de que os dois métodos dão o mesmo resultado, testamos se a diferença entre as médias é significativamente diferente de zero ou não<sup>9</sup>. O teste-F serve para detectar erros aleatórios, já o teste-t, erros sistemáticos. A comparação das médias (teste-t) e a relação de variâncias (teste-F) entre os dois métodos (1 e 2), e se a mudança nas massas pesadas afetam o resultado (3 e 4), são mostradas na tabela 2.

**Tabela 2.** Valores calculados de F e T.

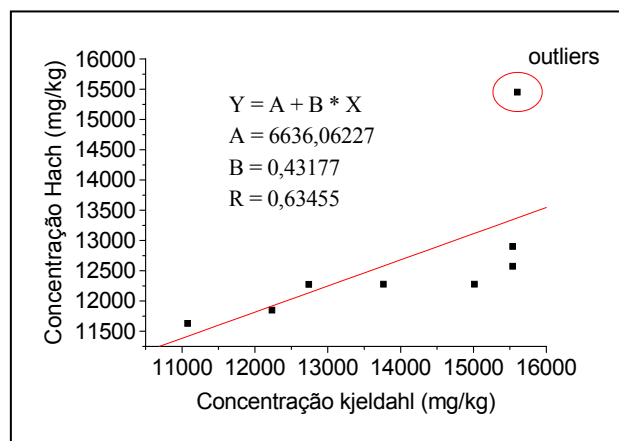
	Comparação	Teste F <sub>7,7</sub>	Teste t
1	KT1 com H1	0,026	3,913
2	KT5 com H5	2,160	1,709
3	KT1 com KT5	0,023	3,714
4	H1 com H5	1,870	1,852

O valor crítico tabelado de F ( $P= 0,05$ ) para 7 graus de liberdade é, nesse caso, 3,787. Como os valores calculados de F não excedem o valor crítico em todas as comparações, assim não há diferença significativa entre as duas variâncias dos métodos.

Já para o teste-t, o valor crítico tabelado de t ( $P= 0,05$ ) para 14 graus de liberdade é, nesse caso, 2,14. Como o valor experimental para a comparação 1 e 3 é maior que o valor crítico, a diferença entre os dois resultados é significativa no nível de cinco e a hipótese nula é rejeitada. E para a comparação 2 e 4, o valor experimental é menor que o valor crítico, a diferença entre os dois resultados não é significativa no nível de cinco e a hipótese nula é mantida, não há evidências de erro sistemático. Podemos notar pela comparação 3 e 4, uma melhor sensibilidade do método HACH. O erro sistemático devido à titulação no método KT1, pode ser bem visualizado pelo teste-t (comparação 1 e 3). As figuras 2 e 3 mostram os gráficos de regressão para comparar os dois métodos analíticos. Observam-se pontos fora da curva (Outliers) nos dois gráficos. Retirando os "Outliers", os valores dos coeficientes de correlação (R) para as retas aumentaram para 0,83409 para 0,1g e 0,90273 para 0,5g da amostra, respectivamente.



**Figura 2.** Gráfico de regressão na comparação dos dois métodos de análise de NKT, utilizando 0,1g da amostra.



**Figura 3.** Gráfico de regressão na comparação dos dois métodos de análise de NKT, utilizando 0,5g da amostra.

## Conclusões

Através dos resultados, podemos observar que a determinação de NKT pelo método Kjeldahl tradicional e HACH são precisos. Porém, tomando como base a exatidão, o método de Kjeldahl tradicional utilizando 0,1g de amostra apresentou um erro sistemático na titulação, fazendo com que não houvesse igualdade entre as médias amostrais dos dois métodos utilizados. A hipótese nula neste caso foi rejeitada, pois a diferença entre as médias é significativamente diferente de zero.

## Agradecimentos

A Capes e CNPq.

<sup>1</sup> Landigraf, M. D.; Messias R. A.; Rezende, M. O. O. A importância ambiental da vermicompostagem: vantagens e aplicações. São Carlos: Rima, 2005.

<sup>2</sup> Environmental Protection Agency - EPA. Disponível em: <<http://www.epa.gov.br>>. Acesso em: 01 setembro 2005.

<sup>3</sup> Grenn, J. M. A Practical guide to analytical method validation. Analytical Chemistry, v. 68, p. 305A-309A, 1996

<sup>4</sup> Chasin, A. A. Da M. E col. - Validação de métodos em análises toxicológicas: uma abordagem geral - Revista Brasileira de Toxicologia 11(1) 1-6, 1998

<sup>5</sup> Polito, W. L., Validação em Química Analítica - Texto para acompanhamento das aulas do Curso de Extensão "Validação em Química Analítica" - USP, 2002. 71p.

<sup>6</sup> Harris, D. C., Análise Química Quantitativa, 5ª edição, Ed. LTC - Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro, 2001

<sup>7</sup> Miller, J.C.; Miller, J.M. Statistics for analytical chemistry. 2<sup>nd</sup> ed., Chichester, Elis Horwood, 1988, 117 p.

<sup>8</sup> The Handbook Odyssey DR/2500 Spectrophotometer. 2.ed. Loveland, HACH, 2001. 1v.

<sup>9</sup> Machado, S. A. S. Métodos Estatístico para a química analítica- Texto para acompanhamento das aulas, USP, 2005. 164p.

## Ácidos húmicos de solos antropogênicos: estudo espectroscópico por RPE e RMN $^{13}\text{C}$

Tony Jarbas F. Cunha<sup>1\*</sup>(PQ), Ladislau Martin Neto<sup>2</sup>(PQ), Beata Eموke Madari<sup>3</sup>(PQ), Marcelo L. Simões<sup>2</sup>(PQ), Wilson T. L. Silva<sup>2</sup>(PQ), Debora M.B.P. Milori<sup>2</sup>(PQ), Vinicius M. Benites<sup>4</sup>(PQ), Luciano P. Canellas<sup>5</sup>(PQ), Etelvino H. Novotny<sup>3</sup>(PQ), Gabriel de Araujo Santos<sup>6</sup>(PQ)

1. Embrapa Semi-Árido; 2. Embrapa Instrumentação Agropecuária; 3. Embrapa Arroz e Feijão; 4. Embrapa Solos; 5. Universidade Estadual do Norte Fluminense; 6. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

\*e-mail: tony@cpatsa.embrapa.br

Palavras Chave: Grau de humificação, EPR, RMN.

### Introdução

Na Amazônia brasileira, ocorrem solos com horizontes superficiais de coloração escura e que apresentam elevados teores de nutrientes, denominados de horizonte A antrópico, e estes solos mesmos quando submetidos ao uso agrícola mantêm as suas características de fertilidade e altos conteúdos de matéria orgânica por muitos anos.

Este tipo de epipedon é encontrado em diversos tipos de solos de ocorrência na Amazônia brasileira, tais como latossolos, argissolos, cambissolos, plintossolos e nitossolos, ainda sob floresta ou submetidos a diversos tipos de exploração agrícola, com culturas de subsistência como o milho, feijão e mandioca, além de fruticultura, hortaliças e até mesmo produção de grama em larga escala.

Atualmente, estudos vêm sendo realizados com estes solos objetivando: analisar as razões para a alta sustentabilidade dos mesmos; obter informações sobre quais práticas de uso de terra, pelas colonizações indígenas anteriores, conduziu a tal enriquecimento duradouro e desenvolver pacotes tecnológicos visando reproduzir estes benefícios para os agricultores, atuais proprietários destas terras.

Vários trabalhos também foram realizados, principalmente em relação à gênese dos solos com horizonte A antrópico. Entretanto, muito pouco foi feito no que diz respeito a estudos sobre as características químicas, propriedades físico-químicas e espectroscópicas da sua matéria orgânica. Nada foi encontrado na literatura em relação ao estudo destas propriedades, em frações humificadas da matéria orgânica, quando estes solos são submetidos ao uso agrícola.

O objetivo deste trabalho foi estudar as características espectroscópicas e o grau de humificação de ácidos húmicos de solos com horizonte A antrópico, submetidos ao uso agrícola, de diversas regiões da Amazônia brasileira, através das técnicas de RPE e RMN.

### Material e Métodos

Foram selecionadas 18 áreas de ocorrência de solos antropogênicos nas regiões de Humaitá, Lábrea, Apuí, Novo Aripuanã, Manicoré e Manaus, no estado do Amazonas. Nestes solos foram realizadas amostragens do horizonte A Antrópico (Horizonte Au1), em função da separação morfológica realizada no campo [1]. A amostragem foi realizada na camada de 0-20 cm, coletando-se várias sub-amostras que foram misturadas e acondicionadas para as análises futuras.

As áreas de estudo, foram selecionadas em função dos diferentes sistemas de uso encontrados, abrangendo áreas sob mata e áreas cultivadas. Também foram selecionados quatro solos adjacentes a algumas manchas de solos antropogênicos sob mata. No total trabalhou-se com 22 amostras de solos, em função do uso e tipo de solo, que foram agrupadas conforme descrito a seguir: **SAF**: Solos antropogênicos sob floresta; **SAC**: Solos antropogênicos sob cultivo, e **SNAF**: Solos não antropogênicos sob floresta [2].

As medidas de radicais livres orgânicos foram realizadas usando espectrômetro de RPE da Bruker-EMX com cavidade retangular, da Embrapa Instrumentação Agropecuária, operando em banda X (aproximadamente 9,0 GHz) em temperatura ambiente. As amostras de AH (20 mg em média) foram colocadas em tubos de quartzo e compactadas até 5 mm de altura a partir da base do tubo, com duas repetições por amostra. A concentração de radicais livres orgânicos (spins  $\text{g}^{-1}$ ) foi obtida pela integração do sinal da primeira derivada do radical livre, comparado a um padrão de Strong pitch com concentração de spins conhecida ( $3 \times 10^{15}$  spins  $\text{cm}^{-1}$ ) fornecido pela Bruker, utilizando o rubi sintético como padrão secundário [3].

As quantidades de radicais livres foram determinadas normalizando-se pela massa (ou conteúdo de carbono). A largura da linha foi estimada pela separação pico a pico da primeira derivada de absorção do sinal [4]. As medidas de RPE foram realizadas em uma cavidade ressonante esférica, nas seguintes condições experimentais:



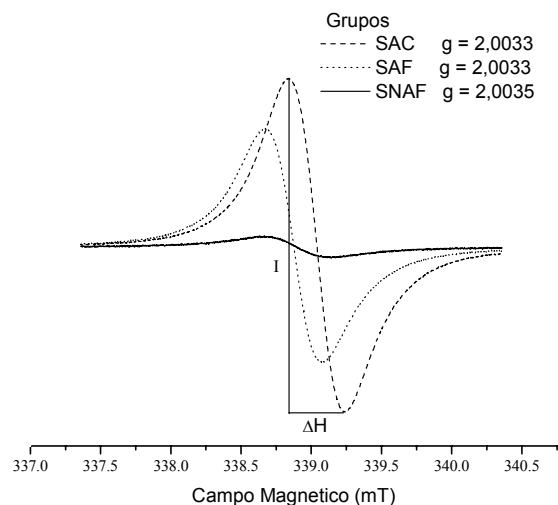
campo magnético ( $H_0$ ) = 3400 Gauss (G), frequência de modulação (FM) = 100 kHz, amplitude de modulação (AM) = 0,5 G e potência de microondas (P) = 0,2 mW. As condições experimentais para o rubi sintético foram  $H_0$  = 5400 G, FM = 100 kHz e P = 10 mW. O padrão de KCl foi analisado nas seguintes condições:  $H_0$  = 3400 G, FM = 100 kHz, AM = 0,5 G e P = 0,2 mW. As curvas de saturação de potência do sinal dos radicais livres orgânicos indicaram não haver saturação do sinal com a potência de microonda de 0,2 mW. Foram utilizadas 20 varreduras para as medidas de radicais livres. A curva de saturação de potência de microondas para o sinal de radical livre foi obtida com passo de 1 dB variando a potência de 0,02 a 200 mW num total de 40 medidas, campo central  $H_0$ =3458 G, largura de varredura  $\Delta H$ = 70 G, frequência  $\nu$ =9,44 GHz, temperatura ambiente e amplitude de modulação =1G.

Os experimentos de RMN  $^{13}\text{C}$  com polarização cruzada (CP) e rotação do ângulo mágico (MAS) com amplitude variável (VACP/MAS RMN  $^{13}\text{C}$ ) foram realizados em um espectrômetro Varian (modelo Unity Inova 400), da Embrapa Instrumentação Agropecuária, utilizando aproximadamente 600 mg de ácidos húmicos. As amostras foram acondicionadas em rotor cilíndrico de zircônia, com 5 mm de diâmetro (Doty Supersonic), girando a 6 kHz em um probe Doty Supersonic para amostras sólidas. Os espectros de VACP/MAS RMN  $^{13}\text{C}$  foram obtidos usando-se as seguintes condições experimentais: frequência de ressonância de 100.05 MHz para  $^{13}\text{C}$ , banda espectral para polarização cruzada de 20 KHz, pulso de preparação do próton de 3,8  $\mu\text{s}$ , tempo de contato de 1 ms, tempo de aquisição de 12,8 ms e tempo de espera para relaxação de 500 ms. Os valores de deslocamento químico foram referenciados ao Hexametil benzeno (HMB), que possui linha bem definida em 17,2 ppm.

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  VACP/MAS foram divididos em seis regiões de acordo com [5]: alquil C (0-45 ppm), C-metoxil (45-60 ppm), O-alquil C + di-O-alquil (60-110 ppm), C-aromático C + O-aromático C (110-160 ppm), carboxil (160-185 ppm) e carbonil C (185-245 ppm), integrando-se as áreas eletronicamente.

## Resultados e Discussão

Na Figura 1 pode-se observar espectros típicos de RPE dos diferentes grupos de ácidos húmicos estudados.



**Figura 1.** Espectros típicos de EPR de amostras de ácidos húmicos pertencentes aos grupos estudados (I = intensidade do sinal;  $\Delta H$  = largura da linha). Condições experimentais:  $H_0$  = 3400G,  $\Delta H$  = 100G,  $\nu$  = 9,44GHz, Temperatura ambiente, Amplitude de modulação = 0,5G.

Na Tabela 1 podem ser visualizados os valores para concentração de radicais livres orgânicos, largura de linha e valor g. Verifica-se que os maiores valores para a concentração de radicais livres orgânicos, são dos ácidos húmicos do grupo SAC, seguido dos ácidos húmicos do grupo SAF e por fim dos ácidos húmicos do grupo SNAF.

**Tabela 1.** Dados de EPR por grupos de ácidos húmicos.

Grupos	CRLO	Largura	valor-g
	Spin $\text{g}^{-1} \times 10^{17}$	Gauss	
SAF	4,07 b	4,27 a	2,0033 a
SAC	6,59 a	3,73 b	2,0033 a
SNAF	2,11 c	4,32 a	2,0034 a

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente a 5%.

Este comportamento pode ser explicado pelo fato de que os ácidos húmicos dos solos antropogênicos (principalmente sob cultivo) são os de maior grau de condensação (baixa razão H/C, dados não apresentados), portanto mais humificados, o que implica numa maior quantidade de radicais livres orgânicos [6]. Por outro lado, a diferença observada entre os grupos SAF e SAC deve-se ao efeito do cultivo que favoreceu a oxidação de compostos mais lábeis e a acumulação relativa de estruturas mais aromáticas.

Entre os ácidos húmicos extraídos de solos antropogênicos, os do grupo SAC foram os que apresentaram a menor largura de linha, que juntamente com os dados de CRLO indicam que

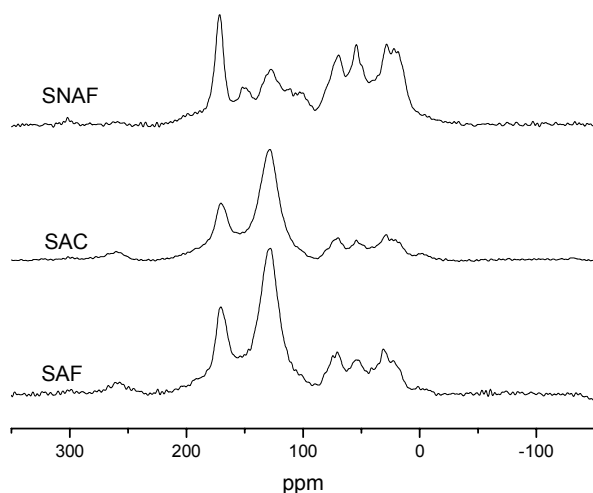


estes são os mais humificados. O valor de largura de linha está relacionado com o tempo em que o elétron excitado gasta para devolver ao ambiente a energia absorvida (tempo de relaxação) e também, com a interação do radical livre orgânico com o ambiente. Quanto mais condensadas as moléculas, menor a largura de linha, [4].

O maior valor para largura da linha foi observado para os ácidos húmicos do grupo SNAF indicando menor condensação e aromaticidade dos ácidos húmicos pertencentes a este grupo. O aumento da largura de linha observada nos ácidos húmicos do grupo SAF em relação aos do grupo SAC, sugere que os radicais livres no grupo SAF estão menos protegidos do que nos ácidos húmicos do grupo SAC (solos antropogênicos sob cultivo), tendo desta forma, a possibilidade de interagir com o meio e relaxar mais rapidamente [7].

Verificou-se uma concentração de radicais livres orgânicos, nos ácidos húmicos do grupo SAC três vezes maior do que a concentração obtida para os ácidos húmicos do grupo SNAF. Diferenças significativas também foram observadas na concentração de radicais livres orgânicos dos grupos SAF e SAC, sugerindo que os ácidos húmicos do grupo SAF são menos aromáticos do que os ácidos húmicos do grupo SAC. Os ácidos húmicos do grupo SNAF seriam os menos aromáticos de todos os ácidos húmicos estudados.

Na Figura 2 pode-se observar espectros de RMN dos diferentes grupos de ácidos húmicos estudados.



**Figura 2.** Espectros de  $^{13}\text{C}$  VACPMAS de amostras representativas de ácidos húmicos pertencente aos diferentes grupos estudados.

A distribuição do  $^{13}\text{C}$  obtida por integração das regiões dos espectros por grupos de ácidos húmicos pode ser observada na Tabela 2. Observa-se que entre os diferentes grupos, os ácidos húmicos pertencentes ao grupo SNAF (extraídos de solos não antropogênicos) são mais ricos em grupamentos alifáticos, metoxílicos e em estruturas

de polissacarídeos. As maiores concentrações de carbono aromático, incluindo também carbono fenólico, foram observadas nos ácidos húmicos provenientes dos solos antropogênicos (SAF e SAC), e entre estes, esta concentração é maior nos ácidos húmicos extraídos de solos sob cultivo (SAC).

**Tabela 2.** Distribuição relativa do deslocamento químico do  $^{13}\text{C}$  nos grupos de ácidos húmicos estudados.

Grupo	ppm	SAF	SAC	SNAF
		-----%-----		
alquil	0-45	20b	19b	29a
metoxil	45-60	10b	10b	12a
O-alq; di-O-alq	60-110	21b	22b	26a
aromático	110-160	29b	33a	22c
COOR	160-185	11a	11a	11a
C=O	185-245	9a	5b	2c
grau	Alifat.	64b	61c	75a
	Aromatic.	36b	39a	25c

Letras diferentes na mesma linha diferem significativamente a 5%. Alifat.: alifaticidade; Aromatic.: aromaticidade.

A natureza dos ácidos húmicos estudados foi mais alifática do que a observada em ácidos húmicos de regiões temperadas [8]. A maior alifaticidade dos ácidos húmicos em solos de regiões tropicais e subtropicais, provavelmente está relacionada, à maior estabilização de estruturas alifáticas em solos com predomínio de minerais de carga variável, devido à forte interação com a matriz mineral [9]. Estes resultados são consistentes com as variações observadas por [10] e [11], para ácidos húmicos de solos florestais.

Um importante parâmetro que pode ser calculado do espectro  $^{13}\text{C}$  RMN é o grau de aromaticidade (Tabela 2). Este é obtido por integração das áreas dos picos relacionados a carbonos aromáticos (110-160 ppm), e normalizado pela área total do espectro menos a área dos carbonos carboxílicos e carbonílicos [12]. Baseado neste parâmetro o grau de humificação dos ácidos húmicos pode ser avaliado.

Os resultados apresentados na Tabela 2 indicam que os ácidos húmicos extraídos dos solos antropogênicos, tem grau de aromaticidade mais elevado em relação aos dos solos não antropogênicos. Estes estão de acordo com valores médios observados para a maioria das substâncias húmicas, que é de aproximadamente 35% [13]. A diminuição do carbono aromático nos ácidos húmicos originados dos solos não antropogênicos foi acompanhada do aumento da percentagem do carbono alifático (C-alquil).

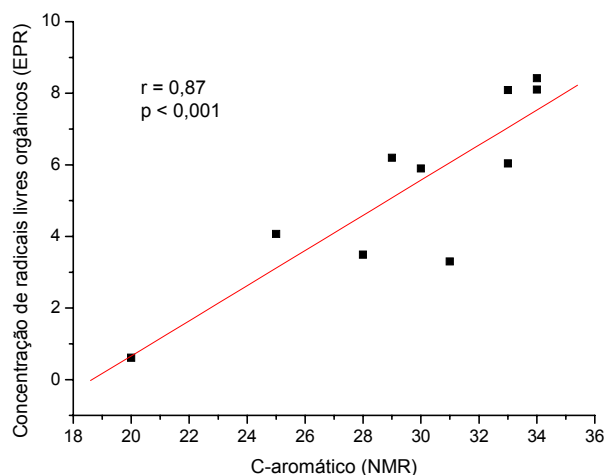
A região espectral de 110-160 ppm mostra uma quantidade relativa maior de C-aromático e C-olefínico nos ácidos húmicos extraídos dos solos antropogênicos em relação ao extraídos dos solos não antropogênicos. E entre os ácidos húmicos

originários dos solos antropogênicos, este tipo de carbono foi mais abundante nos ácidos húmicos do grupo SAC (Tabela 2). A posição central do sinal de C-aromático dos ácidos húmicos estudados em torno de 130 ppm indica que uma proporção de anéis aromáticos não está substituída por oxigênio ou nitrogênio [14], pois o grau de substituição de oxigênio em anéis aromáticos, diminui à medida que os polímeros fenólicos dos restos orgânicos são transformados em substâncias húmicas [15].

O C-carbônico (160-245 ppm) foi dominante em relação ao C-fenólico (140-160 ppm) em todos os ácidos húmicos estudados.

O conteúdo de radicais livres orgânicos determinados por EPR, e o conteúdo de C-aromático determinado por VACPMAS  $^{13}\text{C}$  RMN, mostraram uma relação estreita e direta (Figura 3). Este comportamento confirma os resultados obtidos por EPR, indicando que os ácidos húmicos mais evoluídos, portanto mais humificados, são os que apresentaram maior aromaticidade (ácidos húmicos extraídos de solos antropogênicos e entre estes os extraídos de solos sob cultivo).

Por outro lado, a relação estreita e direta entre o C-aromático, determinado por  $^{13}\text{C}$  RMN VACPMAS, e a concentração de radicais livres orgânicos (Figura 3), confirma, que com o avanço no grau de humificação dos ácidos húmicos, substâncias orgânicas menos complexas, pouco humificadas são seletivamente metabolizadas, enquanto que estruturas aromáticas mais complexas são seletivamente preservadas.



**Figura 3.** Relação entre o C-aromático e a concentração de radicais livres orgânicos dos ácidos húmicos estudados.

## Conclusões

Os AH dos solos antropogênicos são diferentes dos AH dos solos não antropogênicos. As principais diferenças entre os grupos dos solos antropogênicos sob floresta (SAF) e sob cultivo (SAC), em relação aos solos não antropogênicos (SNAF) foram no grau de humificação dos AH. Os AH pertencentes aos grupos SAF e SAC demonstraram estar num estágio mais avançado de humificação do que os do grupo SNAF. O maior grau de humificação dos AH dos solos antropogênicos foi devido à maior concentração de estruturas aromáticas e de radicais livres orgânicos.

## Agradecimentos

À Embrapa Solos, a Embrapa Instrumentação Agropecuária pelo apoio na realização das análises espectroscópicas

<sup>1</sup>Lemos, R.C.; Santos, R.D. 3.ed. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, **1996**. 84p.

<sup>2</sup>Cunha, T. J. F. Ácidos húmicos de solos escuros da Amazônia: Terra Preta de Índio. UFRRJ> (Tese de Doutorado), 144p. 2005.

<sup>3</sup>Martin-Neto, L.; Andriulo, A. E.; Ragheta, D. G. Soil Science, Baltimore, v. 157, 365-372, **1994**.

<sup>4</sup>Senesi, N.; Steelink, C. In: HAYES, M. H. B. et al. (Ed.). Humic substances II. In search for the structure. Chichester: John Wiley, **1989**. p. 373-408.

<sup>5</sup>Knicker, H.; Lu'demann, H.D. Organic Geochemistry 23, 329-341, **1995**.

<sup>6</sup>Senesi, N. Analytica Chimica Acta, Amsterdam, v. 232, p. 51-75, **1990b**.

<sup>7</sup>Saab, S.C. São Carlos: USP, 1999. 11p. Tese (doutorado em Ciências-Química analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, **1999**.

<sup>8</sup>Chen, Z.; Pawluk, S. Geoderma, Amsterdam, v. 65, p.173-193, **1995**.

<sup>9</sup>Parfitt, R.L. et al. Geoderma, Amsterdam, v. 75, n. 1/2, p. 1-12, **1997**.

<sup>10</sup>Ussiri, D.A.N.; Johnson, C. E.. Geoderma, Amsterdam, v. 111, p.123-149, **2003**.

<sup>11</sup>Mahieu, N.; Powlson, D.S. & Randall, E.W.. Soil Science Society of America Journal, Madison, v. 63, p. 307-319, **1999**.

<sup>12</sup>Pérez, M. G. et al. , Geoderma, Amsterdam, v. 118, p.181-190, **2004**.

<sup>13</sup>Malcolm, R. L. In: Hayes, M.H.B. et al. (Ed.). Humic substances II. In search of structure. New York: John Wiley & Sons, **1989**. p. 309-372.

<sup>14</sup>Olk, D.C.; Cassman, K.G.; Fan, T.W.M.. Geoderma, Amsterdam, v. 65, p.195-208, **1995**.

<sup>15</sup>Barancíková, G.; Senesi, N.; Brunetti, G. Geoderma, Amsterdam, v.78, p. 251-266, **1997**.

# Avaliação por termogravimetria e análise térmica diferencial da influência da extração alcalina nas características da matéria orgânica presente em solos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trabalho em publicação no periódico *Thermochemica Acta*

Suzan da Silva L. de Sá<sup>2</sup> (IC), André Henrique Rosa<sup>2</sup> (PQ)\*, Luciana Camargo de Oliveira<sup>3</sup> (PG), Iramaia Corrêa Bellin<sup>2,3</sup> (PG), Julio Cesar Rocha<sup>3</sup> (PQ)

<sup>2</sup>Departamento de Engenharia Ambiental, Universidade do Estadual Paulista (UNESP) 18087-180 Sorocaba-SP

<sup>3</sup>Departamento de Química Analítica, Instituto de Química (UNESP), 14800-900 Araraquara-SP

\*e-mail: [ahrosa@sorocaba.unesp.br](mailto:ahrosa@sorocaba.unesp.br)

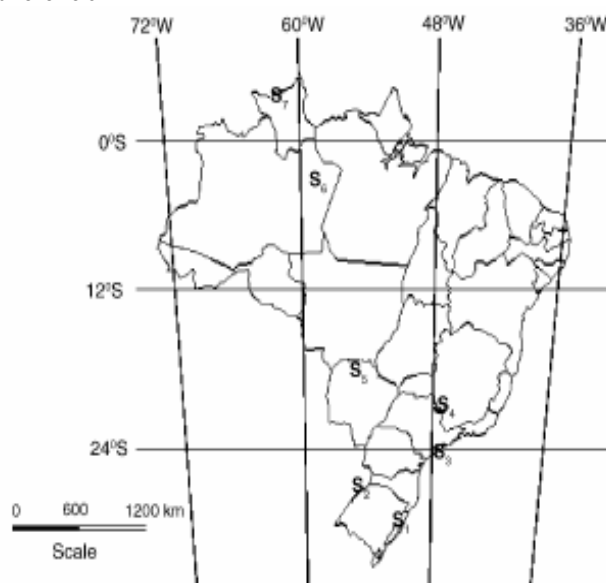
Palavras Chave: Extração, termogravimetria e análise térmica diferencial

## Introdução

A extração das Substâncias Húmicas (SH) presentes em solos é, dependendo do estudo, a primeira e fundamental etapa utilizada na caracterização de sua estrutura e comportamento no ambiente. Das condições/procedimentos utilizados na extração dependerão as interpretações futuras.

Há na literatura diferentes metodologias, as quais têm sido utilizadas para extração de SH de solos, empregando-se agentes complexantes, sais inorgânicos, solventes orgânicos e reagentes alcalinos. Estes, têm sido os mais empregados devido comprovadamente sua maior eficiência no processo extrator. Devido a esse fato, a International Humic Substances Society (IHSS), tem recomendado um procedimento baseado na extração com solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>, na razão 1:10 solo/extrator (g mL<sup>-1</sup>), durante 4 horas a temperatura ambiente e atmosfera de nitrogênio (ROCHA & ROSA, 2003).

Entretanto, há na literatura algumas críticas em relação a este procedimento, pois, algumas alterações estruturais das SH, envolvendo processos oxidativos e/ou condensações podem ocorrer. Neste trabalho, avaliaram-se a ocorrência de possíveis alterações na matéria orgânica natural presente em solos coletados em diferentes regiões (Figura 1), durante o processo de extração alcalina. Para isto, a matéria orgânica originalmente presente nos solos e em suas respectivas huminas/SH extraídas, foram caracterizadas utilizando-se termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA). O comportamento térmico da matéria orgânica antes e após a extração alcalina foi comparado quantitativamente pela perda de massa através da curva TG e, qualitativamente, através das curvas DTA.



**Figura 1** – Pontos de coleta das amostras de solo. S<sub>1</sub>: Santa Maria-RS, S<sub>2</sub>: Bento Gonçalves-RS, S<sub>3</sub>: Cananéia-SP, S<sub>4</sub>: Ribeirão Preto-SP, S<sub>5</sub>: Campo Grande-MS, S<sub>6</sub>: Manaus-AM e S<sub>7</sub>: Boa Vista-RR.

## Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta resultados de algumas características físico-químicas das amostras de solos, as quais foram escolhidas/coletadas de modo a obter amostras diferentes em relação às características/teor de matéria orgânica/inorgânica, bem como em relação às condições ambientais que levaram à formação das SH, tais como umidade, temperatura e pluviosidade.

**Tabela 1** – Algumas características físico-químicas das amostras coletadas.

Amostra	pH	K	Ca	Mg	CTC	C/N
S <sub>1</sub>	4,6	7,5	75	20	146	9,0
S <sub>2</sub>	6,5	5,5	354	30	401	15,8
S <sub>3</sub>	4,7	13,1	121	35	249	20,2
S <sub>4</sub>	4,1	1,5	56	14	251	14,1
S <sub>5</sub>	5,1	7,0	143	29	231	6,9
S <sub>6</sub>	4,0	0,7	6	1	55	5,5
S <sub>7</sub>	4,3	1,1	82	11	310	27,8

\*CTC: capacidade de troca catiônica; \*\*C/N: razão atômica de carbono e nitrogênio.

As curvas TG/DTA de solos, huminas e SH foram obtidas com cerca de 8 mg de cada amostra, previamente homogenizada através de trituração/peneiramento a 2 mm, e aquecimento até 1000 °C (10 °C min<sup>-1</sup>), sob fluxo de ar sintético (100 mL min<sup>-1</sup>) em cadinho de platina, utilizando-se equipamento da TA Instruments STA-2960 Simultaneous DTA-TGA Thermoanalyser (ROSA *et al.*, 2005).

A interpretação dos resultados obtidos nas curvas TG para as amostras de solo, humina e SH foi feita utilizando-se o tratamento matemático descrito a seguir:

- (1) Normalização dos resultados, considerando-se mesma massa utilizada na análise (8,7329 g) para todas as amostras;
- (2) Determinaram-se as perdas da matéria orgânica no intervalo de temperatura: 150 – 650 °C (LEINWEBER & SCHULTEN, 1992);
- (3) As perdas de matéria orgânica das frações humina e SH foram normalizadas, considerando-se as massas de SH/humina obtidas durante a extração alcalina;
- (4) A comparação quantitativa da presença da matéria orgânica no solo original e sua distribuição em suas respectivas SH/huminas, foi feita a partir dos dados termogravimétricos obtidos e utilizando-se a equação apresentada a seguir:

$$IE = \frac{[\%Hx + \%SHx]}{Sx}$$

Onde:

**IE:** indica a Influência da extração alcalina na perda de matéria orgânica originalmente presente na amostra de solo;

**Hx + SHx:**, soma da matéria orgânica perdida da humina e SH, levando-se em consideração suas porcentagens extraídas;

**Sx:** perda da matéria orgânica do solo.

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos através das curvas termogravimétricas de solos, SH e huminas, bem como os valores de IE obtidos para as diferentes amostras.

**Tabela 2** – Influência da extração (IE) e perda de matéria orgânica de solos, huminas e substâncias húmicas em função da temperatura.

Amostras	150-350 (°C)	350-500 (°C)	500-650 (°C)	Massa perdida (mg)	IE = $\frac{[\%H_x + \%HS_x]}{S_x}$
%H <sub>1</sub>	0,4106	0,2602	0,0037	0,6745	
%HS <sub>1</sub>	0,1318	0,1168	0,0367	0,2853	
%H <sub>1</sub> +%HS <sub>1</sub>	0,5424	0,3770	0,0404	0,9598	93,78
S <sub>1</sub>	0,6131	0,3411	0,0693	1,0235	
%H <sub>2</sub>	0,8868	1,0805	0,1733	2,1406	
%HS <sub>2</sub>	0,1075	0,1470	0,0553	0,3098	
%H <sub>2</sub> +%HS <sub>2</sub>	0,9943	1,2275	0,2286	2,4504	85,19
S <sub>2</sub>	1,5098	1,0806	0,286	2,8764	
%H <sub>3</sub>	0,5690	0,5756	0,0938	1,2384	
%HS <sub>3</sub>	0,1085	0,1252	0,0935	0,3272	
%H <sub>3</sub> +%HS <sub>3</sub>	0,6775	0,7008	0,1873	1,5656	75,01
S <sub>3</sub>	0,9959	0,9323	0,1590	2,0872	
%H <sub>4</sub>	0,2773	0,3214	0,0441	0,6428	
%HS <sub>4</sub>	0,3444	0,5904	0,1039	1,0387	
%H <sub>4</sub> +%HS <sub>4</sub>	0,6217	0,9118	0,1480	1,6815	98,94
S <sub>4</sub>	0,5562	0,9976	0,1457	1,6995	
%H <sub>5</sub>	0,2732	0,3212	0,0518	0,6462	
%HS <sub>5</sub>	0,0960	0,1403	0,0370	0,2733	
%H <sub>5</sub> +%HS <sub>5</sub>	0,3692	0,4615	0,0888	0,9195	82,34
S <sub>5</sub>	0,5163	0,4923	0,1081	1,1167	
%H <sub>6</sub>	0,0498	0,0695	0,0444	0,1637	
%HS <sub>6</sub>	0,1783	0,1807	0,0238	0,3828	
%H <sub>6</sub> +%HS <sub>6</sub>	0,2281	0,2502	0,0682	0,5465	76,87
S <sub>6</sub>	0,2020	0,3729	0,1360	0,7109	
%H <sub>7</sub>	0,7440	1,0859	0,2916	2,1215	
%HS <sub>7</sub>	0,1304	0,3833	0,2055	0,7192	
%H <sub>7</sub> +%HS <sub>7</sub>	0,8744	1,4692	0,4971	2,8407	129,58
S <sub>7</sub>	0,8838	1,1118	0,1966	2,1922	

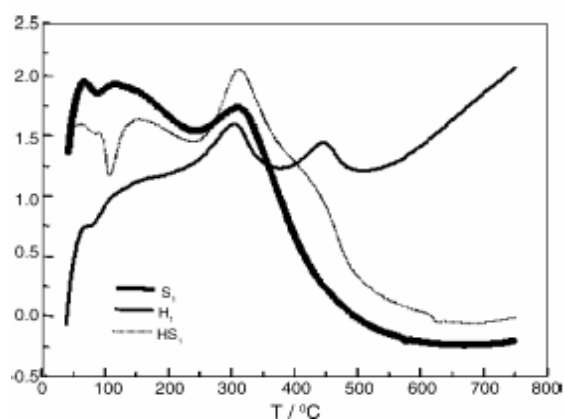
%H<sub>x</sub>, %HS<sub>x</sub> = massa perdida considerando as porcentagens de humina e substâncias húmicas extraídas; %S<sub>x</sub> = massa de solo perdido; %H<sub>x</sub>+%HS<sub>x</sub> = soma das massas de humina e substâncias húmicas perdidas considerando-se as porcentagens extraídas.

Os valores de IE fornecem estimativas do grau de alteração da matéria orgânica durante a extração alcalina. Valores próximos de 100 indicam baixa influência do processo de extração alcalina nas características da matéria orgânica e vice-versa. A partir dos resultados obtidos, observa-se que com exceção da amostra S<sub>4</sub> (IE = 98,94), as demais amostras dos diferentes solos estudados apresentaram significativa modificação após a extração alcalina. Com exceção da amostra S<sub>7</sub>, todas as amostras que sofreram alterações apresentaram valores abaixo de 100, indicando perda de matéria orgânica provavelmente associada a processos oxidativos e liberação de CO<sub>2</sub>.

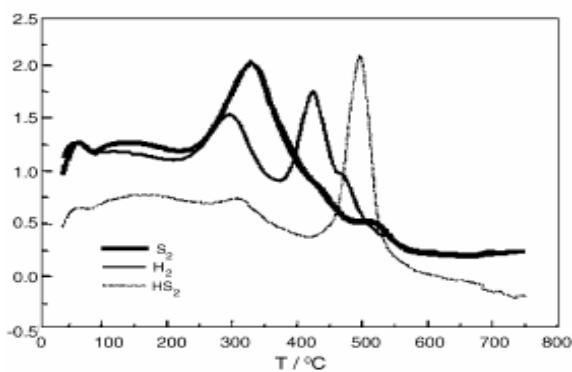
As Figuras 2-8 apresentam as curvas DTAs obtidas para solos e suas respectivas huminas/substâncias húmicas. Picos endotérmicos observados em torno de 100 °C estão associados à perda de água, enquanto que os picos exotérmicos largos observados de 150-650 °C, indicam a oxidação da matéria orgânica, a qual geralmente ocorre em mais de uma etapa, devido às diferentes estabilidades térmicas dos compostos orgânicos presentes. Em temperaturas até 350 °C observa-se a decomposição de carboidratos, enquanto, compostos fenólicos e ligninas monoméricas degradam-se à temperatura de 300 – 450 °C. Já alquil-aromáticos e dímeros de ligninas degradam-se de 500-650 °C (LEINWEBER & SCHULTEN, 1992).

Comparando-se as curvas DTA dos solos com de suas respectivas huminas/SH, pode-se observar

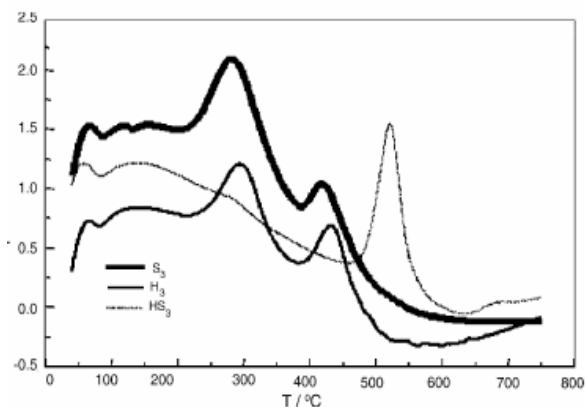
que dentre as sete amostras estudadas, em três delas ( $S_4$ : Ribeirão Preto,  $S_5$ : Campo Grande e  $S_6$ : Manaus), as frações humina e SH comportaram-se termicamente de maneira similar às amostras originais do solo. Já para as amostras,  $S_1$  (Santa Maria),  $S_2$  (Bento Gonçalves),  $S_3$  (Cananéia) e  $S_7$  (Boa Vista), as referidas frações apresentaram comportamento térmico distinto das respectivas amostras de solos. A partir desses resultados, pode-se inferir que em relação à estabilidade térmica da matéria orgânica, a extração alcalina pode influenciar diferentemente para cada amostra, dependendo do conteúdo e característica da matéria orgânica originalmente presente no solo.



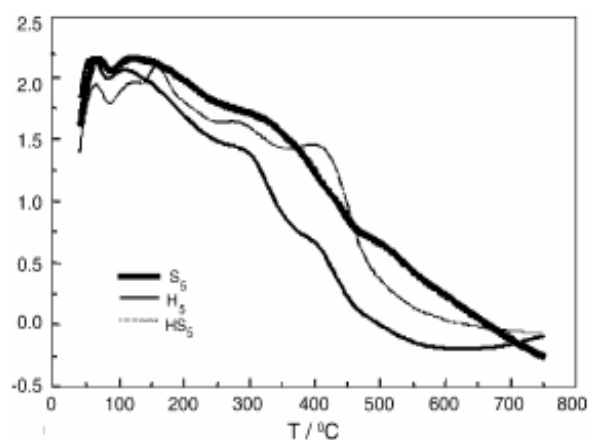
**Figura 2** - Curva DTA do solo, humina e substâncias húmicas de Santa Maria. Condições: massa da amostra 8,7329 mg, cadinho de platina, ar atmosférico sintético 100 mL min<sup>-1</sup>, variação de temperatura 40 – 750 °C constante de 10 °C min<sup>-1</sup>.



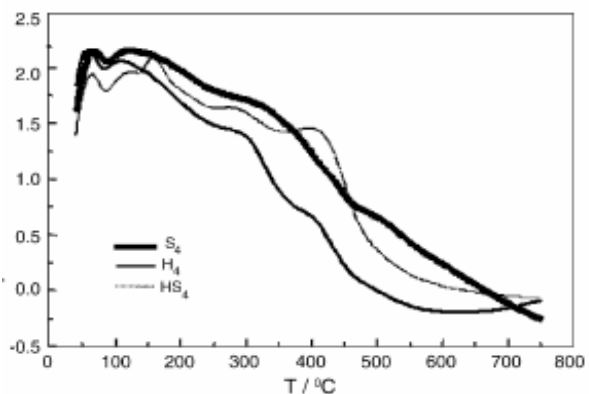
**Figura 3** - Curva da DTA do solo, humina e substâncias húmicas de Bento Gonçalves. Condições: massa da amostra 8,7329 mg, cadinho de platina, ar atmosférico sintético 100 mL min<sup>-1</sup>, variação de temperatura 40 – 750 °C constante de 10 °C min<sup>-1</sup>.



**Figura 4** - Curva da DTA do solo, humina e substâncias húmicas de Cananéia. Condições: massa da amostra 8,7329 mg, cadinho de platina, ar atmosférico sintético 100 mL min<sup>-1</sup>, variação de temperatura 40 – 750 °C constante de 10 °C min<sup>-1</sup>.

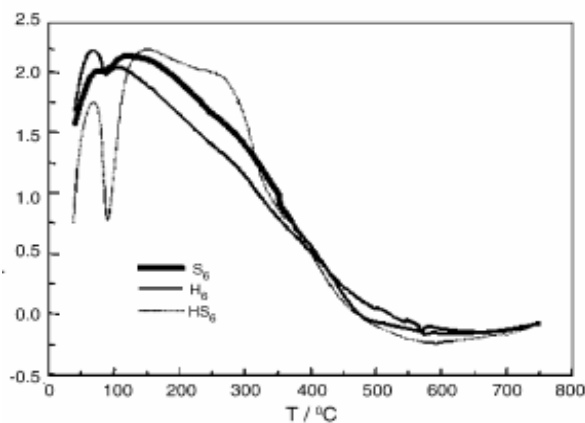


**Figura 5** - Curva da ATD do solo, Humina e SH de Ribeirão Preto. Condições: massa da amostra 8,7329 mg, cadinho de platina, ar atmosférico sintético 100 mL min<sup>-1</sup>, variação de temperatura 40 – 750 °C constante de 10 °C min<sup>-1</sup>.

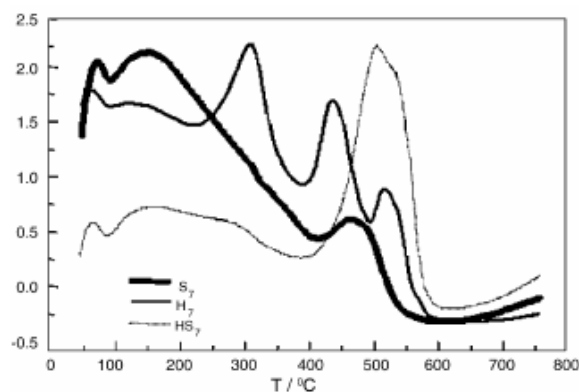


**Figura 6** - Curva da DTA do solo, humina e substâncias húmicas de Campo Grande. Condições: massa da amostra 8,7329 mg, cadinho de platina, ar atmosférico sintético 100 mL min<sup>-1</sup>, variação de temperatura 40 – 750 °C constante de 10 °C min<sup>-1</sup>.





**Figura 7** - Curva da DTA do solo humina e substâncias húmicas de Manaus. Condições: massa da amostra 8,7329 mg, cadinho de platina, ar atmosférico sintético 100 mL min<sup>-1</sup>, variação de temperatura 40 – 750 °C constante de 10 °C min<sup>-1</sup>.



**Figura 8** - Curva da DTA do solo humina e substâncias húmicas de Boa Vista. Condições: massa da amostra 8,7329 mg, cadinho de platina, ar atmosférico sintético 100 mL min<sup>-1</sup>, variação de temperatura 40 – 750 °C constante de 10 °C min<sup>-1</sup>.

## Conclusões

A análise térmica (TG/DTA) apresenta-se como uma técnica interessante para caracterização de solos e suas frações, pois, permite o estudo da matéria orgânica originalmente presente no solo sem qualquer tratamento químico da amostra.

Os resultados obtidos neste trabalho utilizando-se TG/DTA mostraram que a extração alcalina pode provocar alterações nas características da matéria orgânica presente em solos, e a magnitude dessas alterações depende fundamentalmente das características e do teor de matéria orgânica presente no solo. Desta forma, é importante a busca e o desenvolvimento de novos procedimentos/métodos analíticos, que permitam o estudo do comportamento da matéria orgânica no ambiente, com o menor número possível de etapas de preparação da amostra.

## Agradecimentos

FAPESP, CNPq, CAPES e FUNDUNESP

Rocha, J.C. & Rosa, A.H.; Substâncias húmicas aquáticas: interações com espécies metálicas. Editora da UNESP: São Paulo, 2003.

Leinweber, P. & Schulten, H.R.; *Thermochemica Acta*, 1992, 200, 151-167.

Rosa et al. *Thermochemica Acta*, 2005, 433, 77-82.

## Interação atrazina e ácidos húmicos por espectroscopia de infravermelho

Alessandro Costa da Silva<sup>1</sup> (PQ), Teresa Cristina R. dos Santos<sup>2</sup> (PQ)

<sup>1</sup> Departamento de Química e Biologia - Universidade Estadual do Maranhão

<sup>2</sup> Departamento de tecnologia Química – Universidade Federal do Maranhão

Palavras-Chave: Ácidos húmicos, Atrazina, infravermelho

### Introdução

A espectroscopia na região do infravermelho (IV) permite identificar estruturas químicas e interações de acordo com as características químicas dos átomos envolvidos (silverstein et al., 1994). Neste sentido, pretende-se obter espectros de infravermelho de suspensões contendo apenas ácidos húmicos (AH) e de suspensões contendo AH e diferentes concentrações de atrazina (AT).

As amostras de AH foram extraídas de um Vertissolo coletado no município de Vitória do Mearim – MA. A escolha deste solo decorreu-se ao fato desta localidade ser de baixada e por esta razão receber sedimentos advindos de outras regiões. O procedimento de extração e purificação foi realizado de acordo com as normas da IHSS, Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (SWIFT, 1996). Para isto, adicionou-se a 20 g de cada amostra, 200 mL de solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>, sob atmosfera de N<sub>2</sub>, para evitar oxidação dos AH. Após agitação branda por 24 h, o material foi centrifugado a 10.000 g (FCR<sub>média</sub>) por 20 min. O sobrenadante foi recolhido e imediatamente o pH reduzido para 2,0, por gotejamento de solução aquosa de HCl 20% (v/v). O resíduo foi novamente submetido à extração, da mesma forma, e o sobrenadante juntado ao anterior novamente, reduzindo-se o pH para 2,0. O extrato acidificado foi reservado para a precipitação dos AH. Após 18 h, o excesso de sobrenadante (fração ácido fúlvico) foi sifonado e descartado. O restante do material foi centrifugado a 5.000 g (FCR<sub>média</sub>) por 10 min, eliminando-se o sobrenadante, e ressolubilizado em 200 mL de solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>, sob atmosfera de N<sub>2</sub>, visando permitir a eliminação parcial de argilas e ácidos fúlvicos co-precipitados. Os AH precipitados foram lavados com solução HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup> e dialisados em água deionizada. A purificação foi realizada por meio de lavagens sucessivas com solução de HCl-HF a 0,5% por 24 h e centrifugado a 5.000 g (FCR<sub>média</sub>), repetindo-se o processo até a clarificação do sobrenadante. Posteriormente foram lavados com solução HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup> (SCHNITZER, 1982). Para o teste da presença de cloretos (Cl<sup>-</sup>) utilizou-se solução de AgNO<sub>3</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Após teste negativo os AH foram liofilizados e por fim, analisados.

O conteúdo de carbono, hidrogênio e nitrogênio nas amostras foi determinado via analisador de elementos CNHS (Perkin Elmer, PE-2400). O valor da razão entre as absorvâncias 465 e 665 nm (E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub>), comumente usada como indicativo do grau de humificação foi realizada segundo CHEN et al. (1977), já o teor de cinzas foi determinado por calcinação (PICCOLO, 1988).

Uma suspensão aquosa de AH foi preparada na concentração de 500 mg L<sup>-1</sup>, sendo o pH ajustando para 3,0 pela adição de NaOH e HCl, na mesma força iônica. A escolha destes parâmetros foi procedida conforme trabalhos como o de Martin-Neto et al. (1999). Já as soluções aquosas de AT foram preparadas para obtenção das curvas analíticas (1, 5, 10, 15, 20 e 25 mg L<sup>-1</sup>), pelo método da adição de padrão externo. A atrazina utilizada foi obtida comercialmente: Ehrenstorfer, Augusburg-Germany, com 99% de pureza.

O experimento de interação AH e AT foi realizado a temperatura ambiente (25 °C) e atmosfera aérea. A condição experimental foi conseguida após vários testes visando obter quantidade adequada de AH para interagir de forma eficiente com o herbicida (AT).

O procedimento analítico de interação AH e AT, consistiu da adição a 5 mL de suspensão de AH de 1 mL de soluções de AT nas concentrações de 20, 30 e 50 mg L<sup>-1</sup> e em pH 3,0 ajustados pela adição de NaOH e HCl, na mesma força iônica. Após a mistura cada suspensão foi homogeneizada, a 25 °C, por 24 horas através de agitador horizontal (Tecnow). A mistura foi protegida da luz para evitar foto-redução. No término da agitação a suspensão foi então centrifugada a 5100g e posteriormente filtrada à vácuo (sistema Milipore) em filtros de 0,2 µm de porosidade (Marca Gelman Sciences). Todo o procedimento foi protegido da luz para evitar fotoredução.

A partir da solução estoque de AT, foram preparadas as soluções aquosas. Sendo então, adicionadas as de AH e posteriormente agitadas (manual e mecânica). Os espectros das suspensões (misturas) contendo AH e AT foram obtidos adicionando 50 µL da mistura no espectrômetro de infravermelho Nicolet (nx400).

## Resultados e Discussão

O conteúdo de carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio nas amostras foi de 44,3; 3,47; 2,68 e 49,4%, respectivamente. A razão atômica H/C obtida (0,94) indica o grau de aromaticidade da matéria orgânica, quanto maior este valor menor a aromaticidade nas amostras.

Comparando com resultados da literatura (BRAVARD & RIGHI, 1991) pode-se inferir que o AH apresenta características aromáticas. Já a razão atômica O/C (0,83) permite estimar a abundância de grupos funcionais que contém oxigênio e portanto é um indicador do grau de oxidação.

O valor de 3,2 encontrado para a razão  $E_4/E_6$  está dentro da faixa para AH extraído de solos, que deve ser menor que 5,0 (STEVENSON, 1994). Baixos valores desta razão indicam maior grau de condensação da molécula e, menor proporção de estruturas alifáticas. Esta razão ( $E_4/E_6$ ) é governada principalmente pelo peso molecular médio e pelo tamanho das cadeias que constituem o AH (JAVARONI et al. 1999).

O teor de cinzas obtido (7%) foi considerado alto quando comparados com valores (5,0) médios encontrados na literatura (STEVENSON, 1994), explicado pelo uso processo de purificação moderado.

A Tabela 1 apresenta a descrição do experimento de interação AH e AT, bem como a concentração de AT resultante após parte ter sido adsorvida pelas moléculas de AH. No que tange às principais regiões de bandas de absorção encontradas nos espectros de IV para os extratos de AH, percebe-se que é a presença destas bandas, característica de grupos funcionais, que permite (examinando o espectro e consultando tabelas) fazer a identificação de estruturas (SILVERSTEIN et al., 1994).

**Tabela 1.** Procedimento experimental a pH 3,0. Volumes de Atrazina (AT) e de Ácidos Húmicos (AH) respectivamente, 1e 5 mL.

Concentração de AT	Tipo de interação AH e AT (Agitação)	Concentração de Atrazina adsorvida	Exp.
20 mg L <sup>-1</sup>	manual	5 mg L <sup>-1</sup>	1 A
	mecânica	3 mg L <sup>-1</sup>	2 A
30 mg L <sup>-1</sup>	manual	19 mg L <sup>-1</sup>	1 B
	mecânica	8 mg L <sup>-1</sup>	2 B
40 mg L <sup>-1</sup>	manual	40 mg L <sup>-1</sup>	1 C
	mecânica	22 mg L <sup>-1</sup>	2 C

Os espectros obtidos pro meio de testes preliminares revelaram bandas largas, com as regiões de absorção de cada grupo funcional indefinidas, comuns nos espectros de IV de AH, que pode ser atribuído à extensiva sobreposição de absorções individuais.

Como presenciado por MacCarthy & Rice (1985) a forma geral dos espectros de AH e AH + AT é

bastante similar na faixa de 4000 a 1100 cm<sup>-1</sup>, praticamente não ocorrendo variações nas proporções entre os sinais, apenas pequenos deslocamentos na frequência de absorção.

Embora existam várias atribuições para um número vasto de regiões de absorção no IV ainda não foi possível explicar com precisão qual deformação ou estiramento ocorre na faixa de 1030-1000 cm<sup>-1</sup>. Mas como pode-se observar pelos dados de Silverstein et al (1994), na faixa de 1000 cm<sup>-1</sup> existe uma deformação angular de OH em caulinita e gibsitita. Possivelmente estes minerais podem ser seqüelas do processo de extração/purificação.

De acordo com Martin-Neto et al (1994) o pKa d AT de 1,68 tende a limitar a protonação a valores de pH na faixa de 3,0 e a acidez dos AH podem prover prótons para catalizar a formação de OH-AT.

Pesquisadores como Silverstein et al. (1994), ressaltam que um aumento na complexidade da estrutura (como é o caso do AH e da AT) corresponderá a um aumento da complexidade e alargamento das bandas espectrais. Tal comportamento dificultou, por meio desta técnica, a identificação precisa das possíveis ligações formadas durante a interação entre AH e AT. Por esta razão outras técnicas devem ser usadas visando uma melhor compreensão deste processo de interação.

As Figuras 1 (a e b) e 2 (a e b) apresentam os espectros de AH 500 mg L<sup>-1</sup> e da interação AH + AT em diferentes concentrações (20, 30 e 50 mg), respectivamente, e diferentes formas de agitação (a) manual e (b) mecânica.

Os espectros revelaram bandas largas, com as regiões de absorção de cada grupo funcional indefinidas, comuns nos espectros de IV de AH, que pode ser atribuído à extensiva sobreposição de absorções individuais.

Como presenciado por MacCarthy & Rice (1985) a forma geral dos espectros de AH e AH + AT é bastante similar na faixa de 4000 a 1100 cm<sup>-1</sup>, praticamente não ocorrendo variações nas proporções entre os sinais, apenas pequenos deslocamentos na frequência de absorção.

Observando as figuras 1 e 2 percebe-se alguns desses deslocamentos: a) nos espectros de AH e AH + AT, com agitação manual, na faixa de 2800 a 2900 cm<sup>-1</sup> devido a deformações axiais (simétrica e assimétrica) nas ligações entre C-H; e b) nos espectros de AH + AT, tanto com agitação manual quanto mecânica, na faixa de 1500 cm<sup>-1</sup>, devido a deformação axial de duplas ligações entre C aromáticos.

Diferente das figuras 1(a e b) e 2 (a e b) cuja presença de AH gerou o aparecimento de um pico a 1020 cm<sup>-1</sup>, Ferreira (1993), também estudando a interação AH e AT, percebeu um aparecimento de um pico na faixa de 1040 cm<sup>-1</sup>. De acordo com a autora (Ferreira, 1993) o aparecimento de um

“ombro” em  $1040\text{ cm}^{-1}$  pode ser característica de um sal de ácido carboxílico.

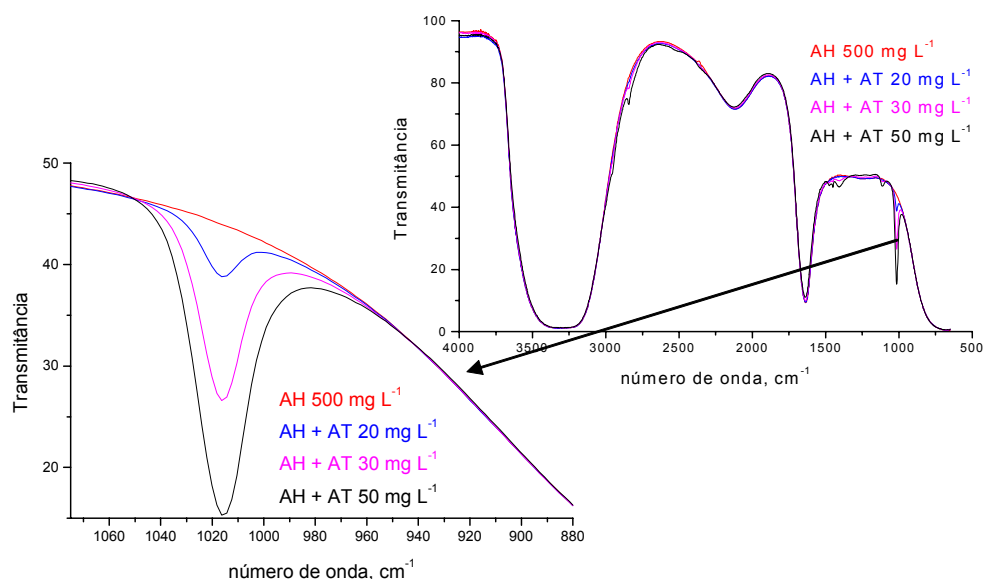
Embora não seja possível observar claramente, pelas Figuras 1 (a e b) e 2 (a e b), existe um leve aumento na intensidade do pico na faixa de  $1600\text{ cm}^{-1}$ . Segundo Martin-Neto et al (1994) este deslocamento é atribuído ao grupo carboxilato.

De acordo com informações da literatura pode-se inferir que grupos carboxílicos parecem estar envolvidos nos processos de ligação entre AH e AT, embora a técnica utilizada não seja suficiente para confirmar tal afirmativa, sendo necessário o emprego associado de outras análises espectroscópicas.

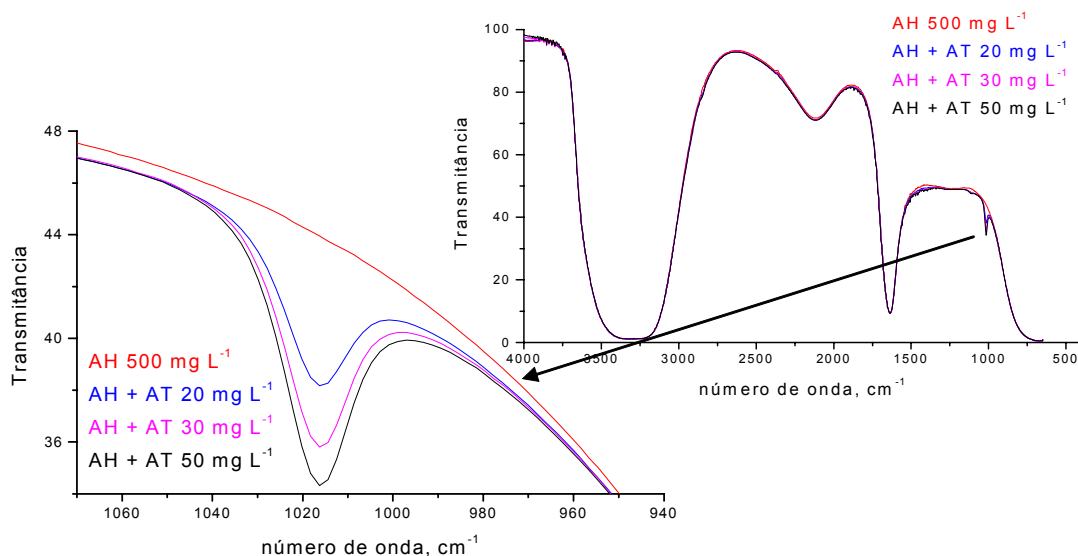
## Conclusões

Medidas espectroscópicas no IV foram realizadas visando determinar diferenças nas feições espectrais entre AH e AT em diferentes condições experimentais. Foi possível obter informações que constatarem diferenças entre as matrizes, tanto entre AH isolados e AH na presença de diferentes concentrações de AT quanto na forma de agitação das misturas.

- Bravard, S. & Righi, D. *Geoderma.*, **1991** 48,151.  
 Chen, Y., Senesi, N., Schnitzer, M. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **1977** 41,352.  
 Ferreira, J. A. *Tese de Mestrado*, **1993**, São Carlos.  
 Javaroni, R. C., Landgraf, M. D., Rezende, M. O. *Quím. Nova*, **1999**, 22,1:65.  
 Martin-Neto, L., Ferreira, J.A Nascimento, O R., Tragheta, D. G., Vaz, C. M. P. Simões, M. L. *3º Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas*, **1999**, Santa Maria.  
 Piccolo, A. *Soil Sci.*, **1988**, 146;6:418.  
 Schnitzer, M. *Methods of soil analysis*. **1982**, 581.  
 Silverstein, R. M., Blasser, G. C., Morrill, T. C. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. **1994**, 5ª ed.  
 Stevenson J. *Humus Chemistry*, **1994**.



**Figura 1.** Espectro de TFIR da interação AH e AT com agitação manual por 30s (a); Espectro de TFIR ampliado na região entre  $1070$  e  $880\text{ cm}^{-1}$  (b).



**Figura 2.** Espectro de TFIR da interação AH e AT com agitação mecânica por 24h (a); Espectro de TFIR ampliado na região entre  $1070$  e  $880\text{ cm}^{-1}$  (b).



## Efeito das substâncias húmicas na redução eletroquímica do p-nitrofenol

Wilson Tadeu Lopes da Silva<sup>1</sup> (PQ)<sup>\*</sup>, Fábio Ruiz Simões<sup>1,2</sup> (PG), Marcelo Luiz Simões<sup>1</sup> (PQ), Ladislau Martin-Neto<sup>1</sup> (PQ), Carlos Manoel Pedro Vaz<sup>1</sup> (PQ)

1-Embrapa Instrumentação Agropecuária – R. XV de Novembro, 1452 – 13560-970 - São Carlos/SP

2-Pós-graduação Interunidades em Ciência e Engenharia de Materiais - Universidade de São Paulo – Av. Trabalhador São Carlense – 13560-970 – São Carlos/SP).

\*e-mail: wilson@cnpdia.embrapa.br

Palavras Chave: Substâncias Húmicas, p-nitrofenol, eletroanálise.

### Introdução

Um dos principais produtos da degradação química do paration, um dos inseticidas fosforados mais utilizados no mundo, é o p-nitrophenol (1,4 nitrofenol), resultante da hidrólise do inseticida em condições naturais. Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US-EPA), os efeitos na saúde humana devido à exposição crônica ao p-nitrofenol por longos períodos ainda não são bem compreendidos<sup>1,2</sup>.

As substâncias húmicas (SH), devido à sua característica de possuir sítios hidrofílicos, em função da presença de grupamentos oxigenados como carboxilas, álcoois e fenóis, e hidrofóbicos em regiões alifáticas e anéis aromáticos condensados, possuem uma grande capacidade de interagir com uma grande quantidade de substâncias orgânicas contaminantes ou não. Através destas interações, as SH podem modificar a atividade química, a eficiência, a estabilidade e a mobilidade destes compostos orgânicos tanto no solo quanto em águas<sup>3</sup>.

Uma possibilidade dos estudos de interação entre SH e metais ou pesticidas, está no uso de técnicas voltamétricas (polarografia e voltametria). Esta metodologia permite a observação dos potenciais de oxidoredução do analito, sendo as mudanças observadas características do ambiente eletrônico do sítio redox, devido a um efeito de ligante no caso de metais, ou efeitos eletrocatalíticos, onde a presença de um composto favorece a reação eletroquímica que está sendo observada<sup>3-6</sup>.

Substâncias derivadas de nitrocompostos aromáticos como o paration e o p-nitrofenol podem ser analisados eletroquimicamente, devido à facilidade da redução do grupo nitróxido sobre o mercúrio<sup>7-13</sup> e também em outras superfícies como pasta de carbono<sup>14</sup> e eletrodo de boro dopado com diamante<sup>15</sup>.

A redução eletroquímica do grupo nitro envolve, além da incorporação do elétron, a adição de H<sup>+</sup>, fazendo com que o potencial de redução seja influenciado pela concentração hidrogeniônica do meio. Subprodutos da eletrólise de nitrocompostos aromáticos geralmente não são estáveis e são

facilmente transformados em outros compostos. Segundo a literatura<sup>11</sup>, em valores de pH ≤ 6, a concentração hidrogeniônica possibilita a formação de hidroxilamina, a qual pode ser oxidada para quinonas ou azo-derivados.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito das substâncias húmicas na redução eletroquímica do p-nitrofenol com a finalidade de compreender sua capacidade eletrocatalítica. Para isso, amostras contendo substâncias húmicas (ácidos húmicos e fúlvicos) e p-nitrofenol em meio aquoso foram analisadas por técnica de voltametria de pulso diferencial utilizando eletrodo pendente de mercúrio como eletrodo de trabalho. Variações nos potenciais de redução do grupo nitro foram analisadas. Para avaliar um possível mecanismo, foi utilizada a técnica de espectrometria absorção na região do Ultravioleta e Visível.

### Resultados e Discussão

Foram utilizados neste estudo, ácido húmico (AH) e ácido fúlvico (AF) “Suwanee River”, adquiridos da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS). As amostras foram caracterizadas por espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) para determinação da quantidade de radicais livres orgânicos, indicativo do grau de humificação das amostras, conforme metodologia descrita em trabalhos anteriores<sup>16</sup>. Acidez total e carboxílica das amostras foram determinadas pela IHSS por potenciometria<sup>17,18</sup>.

Soluções de p-nitrofenol (5 mg L<sup>-1</sup>) foram preparadas após diluição de uma solução estoque (2000 mg L<sup>-1</sup> em etanol) em eletrólito contendo 50 mg L<sup>-1</sup> de SH e 0,01 mol L<sup>-1</sup> de acetato de sódio. Voltamogramas de pulso diferencial (VPD) foram obtidos imediatamente após a adição do pesticida à solução que continha a SH (AH ou AF) e 24 horas após a adição (neste caso a solução foi mantida sob agitação e protegida da luz). Também foram obtidos voltamogramas de solução contendo somente SH.

Os voltamogramas foram obtidos utilizando eletrodo pendente de mercúrio como eletrodo de trabalho, um fio de platina como eletrodo auxiliar e eletrodo de Ag/AgCl como referência. Foi utilizada velocidade de varredura de 20 mV s<sup>-1</sup> e largura de



pulso de 50 mV. As soluções foram borbulhadas com N<sub>2</sub> durante 10 min para eliminação de O<sub>2</sub> dissolvido. Todas as determinações foram feitas em triplicata.

As interações do p-nitrofenol com as SH foram também avaliadas através de espectroscopia de UV/Vis em solução de acetato de sódio 0,01 mol L<sup>-1</sup>, variando o pH 6,5 para 2,5. As medidas de UV/Vis, similarmente ao feito para VPD, foram obtidas imediatamente 24 h após a adição do p-nitrofenol às soluções de SH.

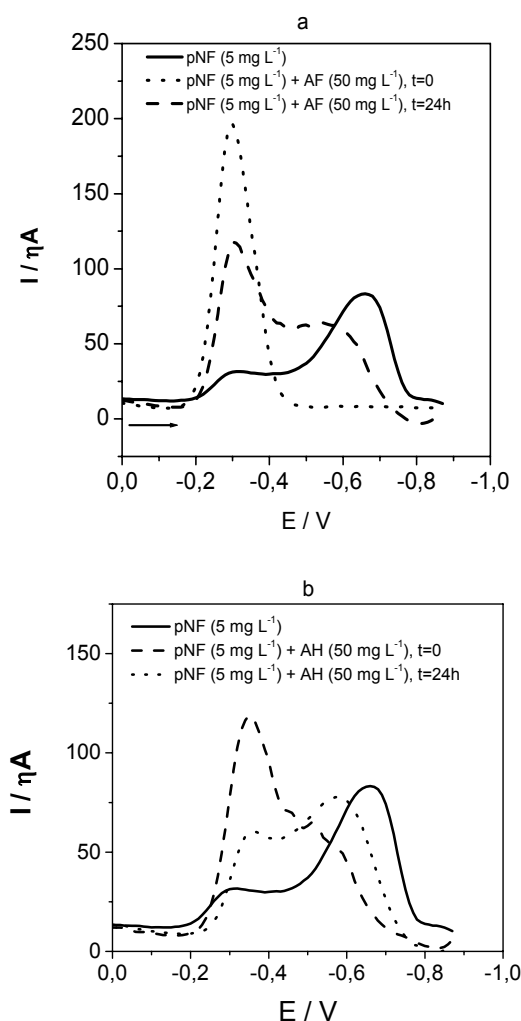
A amostra de AF apresentou maior solubilidade, comparada com o ácido húmico. Os valores de acidez total (COOH e Ar-OH) de ambos AH e AF são similares entretanto, o AF apresentou uma acidez carboxílica maior, conforme o observado na tabela 1. As quantidades de Radicais Livres Orgânicos (RLO) obtidos por RPE indicam o grau de humificação e sua hidrofobicidade, necessário para compreender as interações entre as SH e outros compostos orgânicos. Pode-se observar que o AF possui uma concentração menor de RLO e provavelmente menor hidrofobicidade<sup>3,16</sup>.

**Tabela 1.** Acidez e quantidade de radicais livres orgânicos para as amostras de SH utilizadas neste trabalho.

	AH	AF
COOH (mol kg <sup>-1</sup> )	8,43	10,44
AR-OH (mol kg <sup>-1</sup> )	3,79	2,69
RLO (spin g <sup>-1</sup> × 10 <sup>17</sup> )	4,66	2,69

Voltamogramas de pulso diferencial do p-nitrofenol em presença de substâncias húmicas são apresentados na figura 2. O voltamograma do p-nitrofenol mostrou que este se reduz em duas etapas, representados por um pico e um ombro com máximos em -0,67 e -0,31 V (Ag/AgCl) respectivamente, valores estes próximos aos observados na literatura<sup>14</sup>. Tanto o AH quanto o AF não apresentaram picos de redução significativos na concentração de trabalho (50 mg L<sup>-1</sup>).

Mudanças foram observadas após a adição das SH nas soluções que continham p-nitrofenol. Imediatamente após a adição do AF (figura 2a) ou AH (figura 2b), foram observados aumentos na intensidade do pico de redução em -0,31 V e uma drástica diminuição no pico centrado em -0,66 V, sendo este comportamento muito mais acentuado e homogêneo para a amostra de AF. Após 24 horas de interação, o pico em -0,31 V volta a reduzir de intensidade em comparação com o outro, entretanto, o pico mais catódico desloca-se para valor menos negativo (-0,55 V). Este comportamento pode ser atribuído a mudanças conformacionais da SH devido a interações com o p-nitrofenol o qual muda a distribuição eletrônica e de cargas do ambiente ao redor onde se encontra a molécula eletroativa<sup>21</sup>.



**Figura 2.** Voltamogramas de pulso diferencial do p-nitrofenol (pNF) em solução sem SH ou em solução contendo AF (a) ou AH (b) imediatamente após a mistura (t=0) e 24 h após a mistura (t=24). Eletrólito: solução tampão acetato 0,05 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,5).  $v = 20$  mV s<sup>-1</sup>.

Mudanças nos potenciais de pico para valores menos catódicos indicam que um fenômeno de eletrocatalise está ocorrendo, fato este que indica uma degradação do pesticida catalisada pela interação deste com a substância húmica. Diminuição na intensidade da corrente de pico após 24 h de contato entre a SH e o p-nitrofenol pode ser um indicativo da degradação deste ou a uma forte interação entre os compostos.

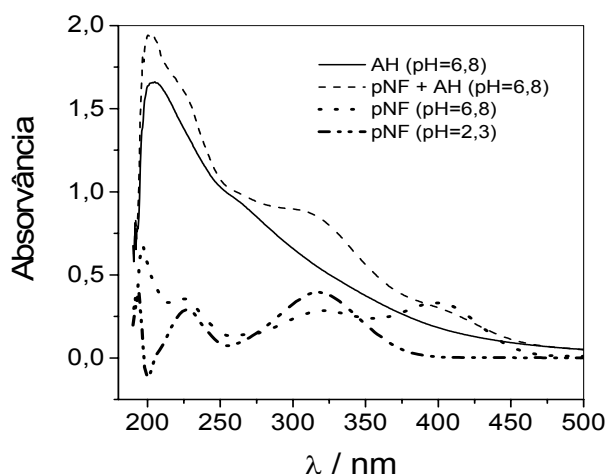
A primeira etapa da redução eletroquímica do p-nitrofenol (-0,31 V) é favorecida após a adição da SH em comparação com o segundo pico (-0,66 V), mostrando uma alteração do ambiente eletrônico da substância eletroativa.

O mecanismo de redução do p-nitrofenol envolve a adição de H<sup>·</sup> (H<sup>+</sup> + e) no grupo nitro na molécula, podendo gerar -NH<sub>2</sub> ou os intermediários -NO e -NHOH, além de água<sup>7,12</sup>. Portanto, outra possibilidade de modificação dos potenciais de

redução estaria no fato da SH poder atuar como doadora de prótons, favorecendo a redução via deslocamento de equilíbrio. Determinações do pH da solução, feitas imediatamente antes a cada determinação voltamétrica, não mostraram variação significativa de pH entre os períodos de 0 e 24 h.

Resultados apresentados na figura 2 também mostraram que o efeito do AF nas variações dos picos de redução é mais intenso quando comparado com o AH, devido provavelmente ao fato do último possuir menor acidez e maior massa molar média.

As interações do p-nitrofenol com AF e AH foram também analisadas através de espectroscopia de UV/Vis. A figura 3 mostra os espectros do AH, AH+pNF e pNF (este em dois valores de pH: 6,8 e 2,3).



**Figura 3.** Espectros de UV/Vis do p-nitrofenol (pNF) ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) + AF ( $50 \text{ mg L}^{-1}$ ) em pH = 6,8 (- - -); AF ( $50 \text{ mg L}^{-1}$ ) em pH = 6,8 (—); pNF ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) em pH = 6,8 (.....) e pNF ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) em pH = 2,3 (-.-.).

O p-nitrofenol apresentou duas bandas com absorvância máxima em aproximadamente 320 nm e 400 nm e o AF uma intensidade máxima em 210 nm e um decaimento em comprimentos de onda maiores, característico da composição complexa das SH. Quando as SH são adicionadas à solução de p-nitrofenol, o espectro apresenta bandas características à soma dos espectros da SH e do p-nitrofenol em meio ácido. De acordo com Fourage *et al.*<sup>20</sup>, absorvâncias em 320 e 400 nm correspondem às formas nitrofenol e nitrofenolato, respectivamente. Estes resultados confirmam que o p-nitrofenol, quando em presença da SH, comporta-se como em meio ácido, mesmo que o pH da solução esteja próximo de valores neutros, demonstrando a capacidade doadora de prótons das SH.

## Conclusões

Métodos eletroanalíticos e ópticos apresentaram resultados interessantes na avaliação da interação entre as substâncias húmicas e o p-nitrofenol. Potenciais de redução do p-nitrofenol são dependentes da concentração de  $\text{H}^+$ . Tanto o AH quanto o AF são capazes de doar prótons, catalisando a degradação do composto nitroaromático por rota de redução eletroquímica. Diferenças nas interações entre o p-nitrofenol com AH e AF, verificados por técnica eletroquímica, mostraram que a intensidade da interação é dependente das características da SH, principalmente sua acidez. No ambiente, condições redutoras são encontradas no fundo de lagos e sedimentos e as SH que são encontradas naturalmente nestes ambientes, podem atuar efetivamente na degradação destes compostos antropogênicos. Resultados não apresentados neste resumo mostram que outras substâncias nitroaromáticas, como o inseticida paration, apresentaram comportamento similar ao observado para o p-nitrofenol.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Embrapa pela estrutura e à CAPES, ao CNPq e à FAPESP pelo apoio financeiro.

<sup>1</sup> Manzanilla-Cano, J.A.; Barcelo-Quintal, M.H.; Reyes-Salas, E.O. *J. Environ. Sci. Health, Part B*, **2004**, 39, 577.

<sup>2</sup> US Environmental Protection Agency (EPA). Obtido on-line: [www.epa.gov/pesticides/factsheets/chemicals/mpfactsheet.htm](http://www.epa.gov/pesticides/factsheets/chemicals/mpfactsheet.htm) (acessado em 18 de Janeiro de 2005).

<sup>3</sup> Martin-Neto, L.; Milori, M.B.P.; da Silva, W.T.L. (Eds.). *Humic substances and Soil and Water Environment*. **2004**, Embrapa, São Carlos. 703 p.

<sup>4</sup> Ninfanteva, T. J.; Kinev, V. M.; Spivakov, B. *Talanta*, **1999**, 48, 257.

<sup>5</sup> da Silva, W.T.L.; Thobie-Gautier, C.; Rezende, M. O. O.; El Murr, N. *Electroanalysis*. **2002**, 14, 71.

<sup>6</sup> Crespilho, F. N.; da Silva, W. T. L.; Rezende, M. O. O. *Anais Assoc. Bras. Quím.* **2003**, 52, 58.

<sup>7</sup> Castanho, G. M.; Vaz, C. M. P.; Machado, S. A. S. *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, 14, 594.

<sup>8</sup> Smyth, M. R.; Osteryoung, J. G. *Anal. Chim. Acta*. **1978**, 96, 335.

<sup>9</sup> Khan, M. S.; *Pakistan J. Sci. Ind. Res.* **1988**, 31, 20.

<sup>10</sup> Mandal A. K.; Adhikari, M. J. *Indian Chem. Soc.* **1997**, 74, 114.

<sup>11</sup> Manzanilla-Cano, J. A.; Reyes-Salas, E. O.; Barcelo-Quintal, M. H. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1999**, 75, 387.

<sup>12</sup> Zen, J.-M.; Jou, J.-J.; Kumar, A. S. *Anal. Chim. Acta* **1999**, 396, 39.

<sup>13</sup> Manzanilla-Cano, J.Á., Barcelo-Quintal, M.H.; Reyes-Salas, E.O.; Flores-Rodriguez, J. *Internat. J. Environ. Anal. Chem.* **2001**, 80, 115.

<sup>14</sup> Hernández, L.; Hernández, P.; Vicente J. *Fres. J. Anal. Chem.* **1993**, 345, 712.

<sup>15</sup> Pedrosa, V.A.; Codognoto, L.; Machado, S.A.S.; Avaca. L.A. *J. Electroanal. Chem.* **2004**, 573, 11.

<sup>16</sup> Martin-Neto, L.; Rosell, R.; Sposito, G. *Geoderma*, **1998**, 81, 305.

<sup>17</sup> Prado, A.G.S.; da Silva, W.T.L.; Souza, S.M.; Rezende, M.O.O. *Química Nova*. **1999**, 22, 894.

<sup>18</sup> Acessível online: [www.ihss.gatech.edu](http://www.ihss.gatech.edu)

<sup>19</sup> Brett, C.M.A., Brett, A.M.O. *Electrochemistry: Principles, Methods, and Application*. **1994**, Oxford University Press, Oxford. 426 p.

<sup>20</sup> Fourage, L.; Helbert, M.; Nicolet, P.; Colas, B. *Anal. Biochem.* **1999**, 270, 184.

<sup>21</sup> Conte, P.; Piccolo, A. *Environ. Sci. Technol.* **1999**, 33, 1682.

## Quantificação de substâncias húmicas em Latossolo submetido à aplicação continuada de lodo de esgoto

Bruno de Oliveira Dias<sup>1\*</sup>(PG), Carlos Alberto Silva<sup>1</sup>(PQ), Emanuelle Mercês Barros Soares<sup>2</sup>(PG), Wagner Bettiol<sup>3</sup>(PQ), Máisa Honório Belizário<sup>1</sup>(IC)

<sup>1</sup> UFLA, Departamento de Ciência do Solo, 37.200-000, Cx. Postal 3037, Lavras, MG.

<sup>2</sup> UFV, Departamento de Solos, CEP: 36570-000, Viçosa, MG.

<sup>3</sup> Embrapa Meio Ambiente, CEP: 13.820-000, Jaguariúna, SP.

\*e-mail: b2dias@yahoo.com.br

Palavras Chave: Matéria orgânica, ácido húmico, ácido fúlvico.

### Introdução

Dentre as diversas alternativas de disposição do lodo, o uso agrícola tem se destacado por reduzir a pressão de exploração sobre os recursos naturais e viabilizar a ciclagem de nutrientes, por promover a melhoria das condições químicas, físicas e biológicas dos solos (Oliveira, 2002; Simonete, 2001), e por introduzir e aumentar o teor de matéria orgânica no solo (Rocha et al., 2004).

O lodo é constituído por diferentes grupos orgânicos, entre eles, as substâncias húmicas, que são consideradas o estágio final da evolução dos compostos de carbono (C) no solo (Stevenson, 1994), sendo, portanto, um grupo de substâncias mais estáveis e de difícil degradação do ponto de vista químico. Por ser um material humificado, o lodo de esgoto pode contribuir para o aumento dos teores e proporções de substâncias húmicas presente no solo, principalmente de ácido fúlvico (Sastre et al. 1996). De acordo com Albiach et al. (2001), o acréscimo no teor de C-substâncias húmicas em solo depende da dose e da composição química do lodo de esgoto aplicado.

As diferentes frações de C orgânico humificado do solo apresentam características químicas, físicas e morfológicas diferenciadas entre si e a distribuição dessas frações no solo pode indicar a qualidade da matéria orgânica (Canellas et al., 2003).

Este estudo teve como objetivo avaliar as possíveis alterações na distribuição das frações húmicas da matéria orgânica de Latossolo Vermelho distroférico cultivado com milho e submetido a aplicações sucessivas de doses crescentes de lodo de esgoto.

### Material e Métodos

O experimento foi instalado em 1999, no Campo Experimental da Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna (SP), em área de Latossolo Vermelho distroférico de textura argilosa sendo os dados obtidos após a sexta aplicação de lodo oriundo da Estação de Tratamento de Esgoto de Barueri, SP.

O experimento foi constituído por seis tratamentos distribuídos num delineamento em

blocos casualizados com três repetições, sendo utilizadas parcelas experimentais de 20 x 10 m, perfazendo uma área de 200 m<sup>2</sup> cultivadas com milho.

Foram utilizadas nas diferentes parcelas experimentais as seguintes doses acumuladas de lodo de esgoto (base seca): 0, 30, 60, 120 e 240 Mg ha<sup>-1</sup>, que deram origem aos seguintes tratamentos estudados: (L0) testemunha sem adição de lodo; NPK, adubação mineral recomendada para a cultura; aplicação de lodo de esgoto visando fornecer uma (L1), duas (L2), quatro (L4) e oito (L8) vezes o N requerido pelo milho.

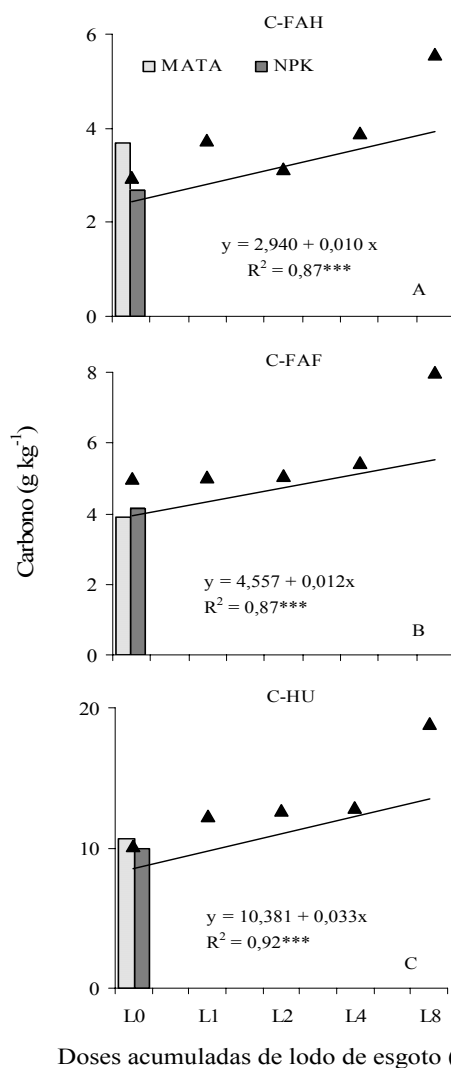
O lodo de esgoto foi distribuído a lanço em área total das parcelas experimentais e incorporado ao solo a uma profundidade de 20 cm com o auxílio de enxada rotativa e arado de disco. Para fins das determinações laboratoriais, as amostras de solo foram coletadas 60 dias após a sexta aplicação de lodo, nas profundidades de solo de 0-10 cm.

Para avaliar a qualidade da matéria orgânica, utilizou-se o método de extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas descrito por Benites et al. (2003). Baseando-se na solubilidade diferenciada das substâncias húmicas em meios alcalino e ácido, foram determinados os teores de carbono associado à humina (C-HU), à fração ácido húmico (C-FAH) e à fração ácido fúlvico (C-FAF).

Os dados obtidos foram avaliados estatisticamente por meio da análise de variância e de regressão, utilizando as três repetições de campo, com o nível de significância de 1% de probabilidade, sendo utilizado nessa etapa o programa estatístico SISVAR.

### Resultados e Discussão

Os teores de C nas frações ácido húmico (C-FAH), ácido fúlvico (C-FAF) e humina (C-HU), determinados em amostras de solo de 0-10 cm de profundidade são apresentados na Figura 1. A aplicação de doses crescentes de lodo de esgoto promoveu modificações nos teores das frações humificadas da matéria orgânica, ocorrendo aumentos significativos nos teores de C das três frações analisadas.



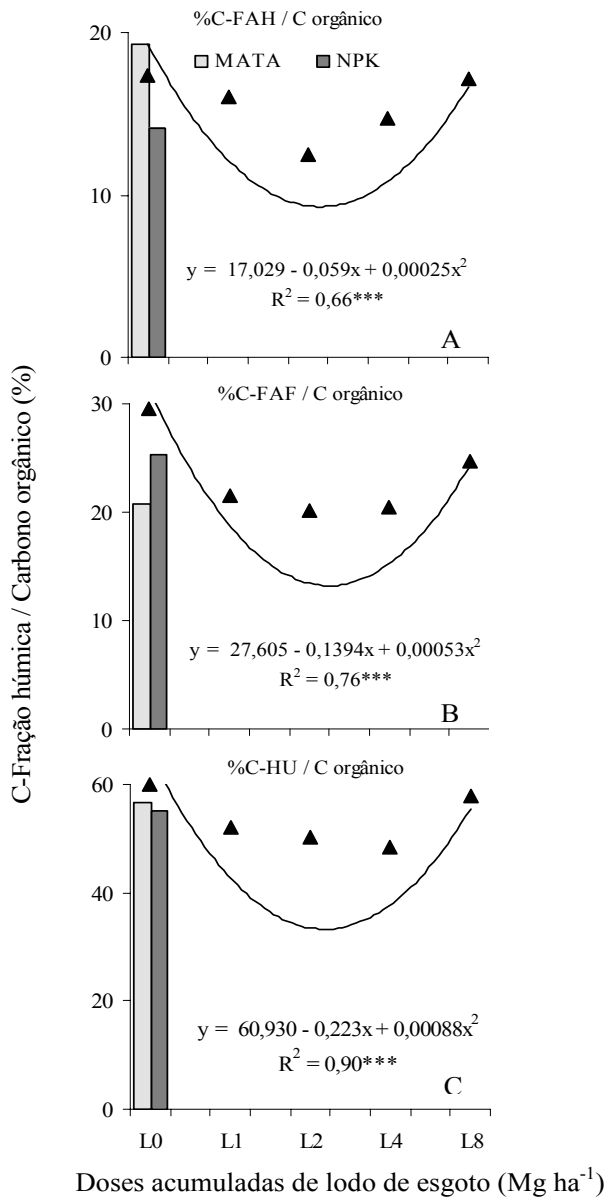
**Figura 1.** Teores de C frações ácido húmico (C-FAH), ácido fúlvico (C-FAF) e humina (C-HU) em Latossolo sob efeito de doses crescentes de lodo: L0= testemunha; L1= 30 Mg ha<sup>-1</sup>, L2= 60 Mg ha<sup>-1</sup>, L4= 120 Mg ha<sup>-1</sup> e L8= 240 Mg ha<sup>-1</sup>.

Na Figura 1A, são apresentados os teores de C-FAH, que aumentaram com o acréscimo das doses de lodo aplicadas, já que o teor médio de C-FAH é igual a 2,94 g kg<sup>-1</sup> na testemunha (0 Mg ha<sup>-1</sup>) e, com o aumento das doses de lodo de esgoto aplicadas, há um incremento do teor de C-FAH, chegando a atingir uma média de 5,58 g kg<sup>-1</sup> no tratamento em que a dose acumulada de lodo de esgoto aplicada foi de 240 Mg ha<sup>-1</sup>. Esse aumento no teor de C associado às substâncias húmicas no latossolo estudado reflete o maior aporte de húmus ao solo com a adição de lodo de esgoto, uma vez que esse resíduo é rico em C humificado (Iakimenko et al, 1996). As doses de lodo de esgoto utilizadas também exerceram influência sobre os teores de C-FAF (Figura 1B), onde a dose acumulada de 240 Mg ha<sup>-1</sup> (base seca) foi a que proporcionou maior aumento em relação à testemunha, com incremento de 61% do C-FAF.

De modo similar aos teores de C-FAH e C-FAF, foi verificado um acréscimo nos teores de C na fração húmica (C-HU) com o aumento das doses de lodo de esgoto aplicadas (Figura 1C). Em comparação com o tratamento testemunha os aumentos no C-HU corresponderam a 20,7%, 24,3%, 27% e 86%, respectivamente, para 1, 2, 4 e 8 vezes a dose de lodo recomendada. Em comparação com as demais frações, o teor de C-HU foi maior, sendo essa maior presença de C-humina no solo possivelmente relacionada à estabilidade da ligação que existe entre esse componente e a fase mineral do solo, como também devido a uma maior resistência à decomposição dessa fração húmica (Stevenson, 1994). A aplicação continuada de lodo de esgoto proporcionou um aumento no solo de C associado às substâncias húmicas, onde a maior dose de lodo promoveu incrementos de 90%; 61% e 86% para os teores de C nas frações ácido húmico, ácido fúlvico e humina, respectivamente, em comparação com o tratamento que não recebeu aplicação do resíduo.

Na Figura 2 são apresentados os resultados da porcentagem de carbono em relação ao C orgânico, para fração ácido húmico (%C-FAH/C), fração ácido fúlvico (%C-FAF/C) e humina (%C-HU/C) em cada tratamento estudado. Em relação à %C-FAH/C (Figura 2A), a aplicação crescente de doses de lodo promoveu uma redução de 29% do carbono associado a essa fração até a dose de lodo equivalente a 60 Mg ha<sup>-1</sup>; com o incremento das doses, a contribuição do C-FAH para o C orgânico aumentou, com tendência a superar o tratamento testemunha.

Para o atributo %C-FAF/C (Figura 2B), as doses de lodo aplicadas reduziram essa relação, até a dose 60 Mg ha<sup>-1</sup>, em torno de 32% em comparação com a dose testemunha. A partir da dose 120 Mg ha<sup>-1</sup>, houve um aumento na proporção de carbono associado à fração ácido fúlvico. O ácido fúlvico é solúvel tanto em meio ácido como em meio alcalino e pode migrar para camadas inferiores do solo (Souza & Melo, 2003), o que pode causar um enriquecimento relativo de ácido húmico na camada superficial. Entretanto, comparando os valores obtidos para %C-FAF/C orgânico e %C-FAH/C orgânico nos primeiros 10 cm do solo (Figuras 2A e 2B), verifica-se um maior acúmulo de fração ácido fúlvico nessa camada, sendo uma possível explicação a predominância de ácido fúlvico sobre o ácido húmico no lodo de esgoto aplicado no solo.



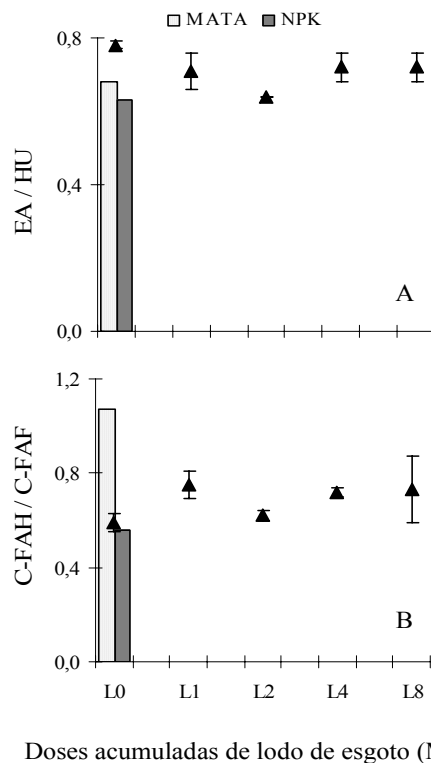
**Figura 2.** Porcentagem de C nas frações ácido húmico (C-FAH), ácido fúlvico (C-FAF) e humina (C-HU) em Latossolo sob efeito de doses crescentes de lodo: L0= testemunha; L1= 30  $Mg\ ha^{-1}$ , L2= 60  $Mg\ ha^{-1}$ , L4= 120  $Mg\ ha^{-1}$  e L8= 240  $Mg\ ha^{-1}$ .

É possível observar que, para o parâmetro %C-HU/C orgânico (Figura 2C), a dose acumulada de 60  $Mg\ ha^{-1}$  de lodo promoveu uma redução da ordem de 20,5%, comparando com testemunha. A partir da dose 120  $Mg\ ha^{-1}$ , houve tendência de o C-HU contribuir mais para o C orgânico, em relação ao tratamento sem adição de lodo. Dentre todas as frações humificadas, a humina (%C-HU) foi a que mais contribuiu para o C orgânico, correspondendo o C-HU, em média, de 50 a 66% do C, o que está de acordo com os valores encontrados por outros autores (Souza & Mello, 2003), que determinaram em solo teores de C-humina representando de 50 a 78% do C orgânico.

Em geral, analisando os dados da Figura 2 (%C-FAF/C; %C-FAH/C e %C-HU/C), observa-se que o

aumento nas proporções das substâncias húmicas ocorreu devido ao incremento da humina e do ácido fúlvico. Segundo Canellas et al. (2001), a transformação da matéria orgânica pode não estar favorecendo a formação de ácido húmico e possivelmente está havendo a estabilização direta, via interação com a fração mineral, e sua dissociação em moléculas menos condensadas.

As relações entre as frações das substâncias húmicas são apresentadas na Figura 3. A relação EA/HU (Figura 3A) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. Esse índice indica a iluviação da matéria orgânica. Em geral, em horizontes superficiais, as relações EA/HU são menores que 1,0. (Benittes et al., 2003).



**Figura 3.** Relação entre extrato alcalino (C-FAH + C-FAF) e humina (C-HU) e os teores de C na forma de fração ácido húmico e fração ácido fúlvico em Latossolo sob efeito de doses crescentes de lodo: L0= testemunha; L1= 30  $Mg\ ha^{-1}$ , L2= 60  $Mg\ ha^{-1}$ , L4= 120  $Mg\ ha^{-1}$  e L8= 240  $Mg\ ha^{-1}$ .

A relação entre os teores de carbono na forma de ácidos húmicos e ácidos fúlvicos (Figura 3B) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. Entretanto, observa-se que os dados são inferiores a 1,0, demonstrando um predomínio de ácido fúlvico na fração humificada. Segundo Canellas (1999), o ácido fúlvico é a fração mais reativa, porém com reduzida estabilidade indicando uma característica desfavorável, pois pode facilitar o fenômeno de lixiviação de cátions e iluviação de argilas humificadas. Em solos tropicais, a intensa mineralização da matéria orgânica e as restrições edáficas à atividade biológica tornam os valores da relação AH/AF reduzidos (Benittes et al., 2003).



## Conclusões

A aplicação continuada de lodo de esgoto resulta em maior acúmulo no solo de carbono associado às substâncias húmicas, não alterando significativamente as proporções de carbono entre os diferentes compartimentos humificados da matéria orgânica.

<sup>1</sup>Albiach, R.; Canet, R.; Pomares, F. & Ingelmo, F. *Bio. Tec.* **2001**, 77,109.

<sup>2</sup>Benites, V. M.; Mádari, B. & Machado, P.L.O.A. *Embrapa - Comunicado Técnico* 16, **2003**, 7.

<sup>3</sup>Canellas, L.P.; Velosso, A.C.X.; Marciano, C.R.; Ramalho, J.F.G.P.; Rumjanek, V.M.; Rezende, P.B.C. & Santos, G.A. *R. Bras. Ci. Solo.* **2003**, 27, 935.

<sup>4</sup>Canellas, L.P.; Santos, G. de A.; Rumjanek, A.A.M. & Guridio, F. *Pesq. Agropec. Bras.* **2001**, 36, 1529.

<sup>5</sup>Canellas, L.P. UFRRJ – Tese de Doutorado. **1999**, 163

<sup>6</sup>Iakimenko, O.; Otabbong, E.; Sadovnikova, L.; Persson, J.; Nilsson, I.; Orlov, D. & Ammosova, Y. *Agri. Eco. Env.* **1996**, 58, 121.

<sup>7</sup>Oliveira, F.C.; Mattiazzi, M.E.; Marciano, C.R. & Rosseto, R. *Rev. Bras. Ci. Solo.* **2002**, 26, 505.

<sup>8</sup>Rocha, G.N.; Gonçalves, J.L.M. & Moura, I.M. *Rev. Bras. Ci. Solo.* **2004**, 28, 623.

<sup>9</sup>Sastre, I.; Vicente, M.A. & Lobo, M.C. *Bio. Tec.* **1996**, 57, 19.

<sup>10</sup>Simonete, M.A. ESALQ – Tese de Doutorado. **2001**, 89.

<sup>11</sup>Souza, W.J.O. & Melo, W.J. *R. Bras. Ci. Solo.* **2003**, 27, 1113.

<sup>12</sup>Stevenson, F.J. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions.* **1994**. 496.

## Huminas de horizonte A de quatro Latossolos brasileiros sob vegetação nativa: quantificação e caracterização

Deborah Pinheiro Dick<sup>(1)</sup> (PQ)\*, Leticia Gomes de Ávila<sup>(1)</sup> (IC), Heike Knicker<sup>(2)</sup> (PQ)

(1) Instituto de Química, UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9500, 91501-940, Porto Alegre; (2) Instituto de Ciência do Solo, Universidade Técnica de Munique. Alemanha. e-mail: dpdick@iq.ufrgs.br

Palavras Chave: substâncias húmicas, complexos organo-minerais, RMN <sup>13</sup>C CPMAS, FTIR

### Introdução

As huminas (HU) são definidas como a fração das substâncias húmicas de solo insolúvel em meio básico e meio ácido. A fração HU, por ser insolúvel, tem sido menos estudada do que os ácidos húmicos e fúlvicos. A insolubilidade desta fração é atribuída tanto à formação de complexos organo-minerais estáveis de ácidos húmicos ou fúlvicos, impedindo sua extração, como também à ocorrência de compostos recalcitrantes e hidrofóbicos.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a fração HU de horizonte A de quatro Latossolos brasileiros sob vegetação nativa e relacionar os resultados com as características mineralógicas e texturais dos solos.

Foram selecionados três Latossolos do Rio Grande do Sul (Latosolo Bruno de Vacaria (LB-VA), Latossolo Vermelho de Passo Fundo (LV-PF) e Latossolo Vermelho de Santo Ângelo (LV-SA)) e um Latossolo Amarelo de Brasília, DF (LA-BS) (Tabela 1). Os solos do RS encontravam-se sob campo nativo e o solo de DF sob cerrado.

Para obtenção da fração HU, 3g de solo foram tratadas com 30 ml de NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> sob agitação durante 3h<sup>1</sup>. O sobrenadante, contendo ácidos húmicos e fúlvicos, foi separado por centrifugação (15min a 2500rpm) e reservado. A extração foi repetida até o sobrenadante ficar claro, sendo os extratos acondicionados num frasco coletor. O teor de carbono no sobrenadante (C<sub>SH</sub>) foi quantificado pela medida da absorbância a 580nm<sup>1</sup>, após reação com solução ácida de dicromato de potássio 0,625 mol L<sup>-1</sup> durante 4 horas a 60°C empregando-se uma curva padrão de D-glucose anidra de 0 a 200mol C.L<sup>-1</sup>. O carbono contido na forma de HU foi estimado por diferença entre C do solo e C<sub>SH</sub>. A seguir, o resíduo foi lavado com água destilada (três vezes) e tratado com solução de HF 10%<sup>2</sup> para remover a fração mineral associada às huminas.

As huminas secas em estufa a vácuo foram caracterizadas por espectroscopia de infra-vermelho (FTIR) (Shimadzu), na região de 4000 a 400nm (resolução 4 cm<sup>-1</sup>), empregando-se 1 mg de HU e 200 mg de KBr. As atribuições das bandas de

absorção foram baseadas em Silverstein et al. (1994)<sup>3</sup> e Dick et al. (2003)<sup>2</sup>.

**Tabela 1.** Características químicas e mineralógicas dos horizontes A dos Latossolos (dados de Dick et al., 2005<sup>4</sup>)

Solo	LV-SA	LB-VA	LA-BS	LV-PF
Prof. (cm)	0-23	0-30	0-19	0-33
Argila (%)	62,5	52,4	63,3	36,7
C <sub>sol</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	22,5	35,1	26,2	19,6
N <sub>sol</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	1,78	2,78	1,63	1,48
C/N <sub>sol</sub>	12,7	12,6	16,1	13,3
Fed (g kg <sup>-1</sup> )	120,4	87,3	46,3	34,0
Fe <sub>o</sub> /Fe <sub>d</sub> , %	1,8	3,0	2,5	5,6
Mineralogia	Kt, Hm, Gt	Kt, Gt, Hm	Kt, Gb, Gt	Kt, Hm, Gt
Gt / Gt+Hm	0,12	1,00	1,00	0,33
C <sub>HU</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	18,7	23,5	23,3	12,2
C <sub>HU</sub> / C <sub>sol</sub>	0,72	0,63	0,78	0,49

Obs: mineralogia e razão Gt/(Gt+Hm) determinados na fração argila.

A espectroscopia de RMN de <sup>13</sup>C no estado sólido (CPMAS) foi realizada em espectrômetro Bruker DSX200 (50.3 MHz) seguindo recomendações de Dick et al. (2005)<sup>4</sup>. As atribuições das regiões do espectro foram feitas segundo Knicker e Ludeman (1995)<sup>5</sup>: 0-45 ppm, C alquil; 45-90 ppm, C O-alquil; 90-110 ppm, C anomérico; 110-140 ppm, C aromático; 140-160 ppm, C fenólico; 160-185 ppm, C carboxila; 185-220 ppm, C carbonila. A proporção dos grupos funcionais foi obtida pela integração das respectivas áreas empregando software do aparelho. A razão [C alquil/ C O-alquil] (A/A-O) foi calculada segundo Baldock et al. (1992)<sup>6</sup> relacionando-se as áreas: A(45-110 ppm)/A(0-45 ppm).

A composição elementar foi determinada em analisador Perkin Elmer 2400 e o teor de cinzas foi determinado gravimetricamente, após calcinação a 750°C durante 4 horas.

## Resultados e Discussão

A proporção de huminas em relação ao teor de carbono orgânico total ( $C_{HU}/COT$ ) variou de 0,49 a 0,78 (Tabela 1) e se correlacionou diretamente com o teor de argila do solo ( $r= 0,984$ ). Provavelmente a forte associação de matéria orgânica em complexos organo-minerais impediu sua solubilização em meio alcalino.

As amostras de HU apresentaram o mesmo padrão de espectro de FTIR (Figura 1), onde os principais grupos funcionais identificados e suas respectivas regiões de absorção foram: estiramento de -OH em ponte em  $3420\text{ cm}^{-1}$ ; deformação simétrica de N-H em ligação de hidrogênio em  $3240\text{ cm}^{-1}$ ; estiramento de C-H de alifáticos em  $2920$  e  $2850\text{ cm}^{-1}$ ; estiramento de C=O de grupos -COOH em  $1712\text{ cm}^{-1}$ ; estiramento C=C de grupos aromáticos em  $1640\text{ cm}^{-1}$ ; deformação de C-H de alifáticos em  $1414\text{ cm}^{-1}$ ; absorção de Si-O e outras ligações em fases inorgânicas na região de  $1083\text{ cm}^{-1}$ . Na amostra de LV-PF são visíveis bandas em torno  $1900$  a  $1750\text{ cm}^{-1}$ , devido à presença de grupamentos do tipo Al-OH e outros<sup>2</sup>, que não foram completamente eliminados com o tratamento com HF. Uma possível contribuição de grupos inorgânicos na região de  $1650\text{ cm}^{-1}$  deve ser também considerada<sup>2</sup>.

O elevado teor de cinzas de 59 a 65% obtido nas amostras corrobora estas hipóteses e indica que o tratamento com HF após separação de ácidos húmicos e fúlvicos com solução NaOH foi relativamente pouco eficiente.

A razão C/N das huminas variou de 16 a 19 e foi levemente superior aos valores verificados nos respectivos solos. Estes resultados indicam que os compostos nitrogenados tendem a se concentrar nas outras frações húmicas, porém, todavia, estão presentes nas huminas.

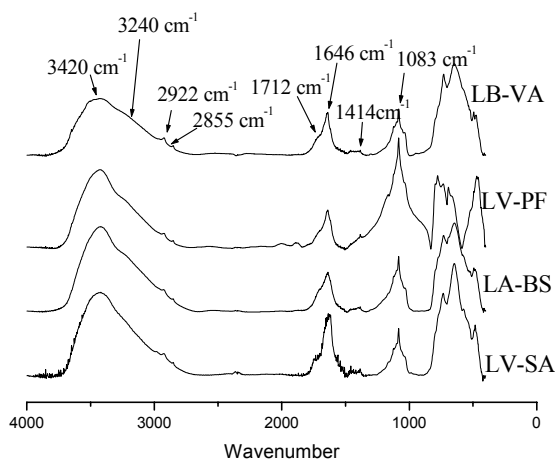


Figura 1. Espectros de FTIR das huminas

A distribuição dos grupos funcionais, determinada por  $^{13}\text{C}$  RMN CPMAS (Figura 2) foi semelhante

entre as amostras (Tabela 2): predominância de grupos C alquil (30 a 40%), seguidos de C O-alquil + C anomérico (26 a 33%), C aromáticos (21 a 26%) e C carbonila (7,5 a 13,4). O teor de grupos C O-alquil, ainda que seja inferior a 46-49%, proporção observada para a matéria orgânica inteira destes solos<sup>4</sup>, mostra que a fração humina contém todavia uma considerável proporção de estruturas lábeis, como polissacarídeos.

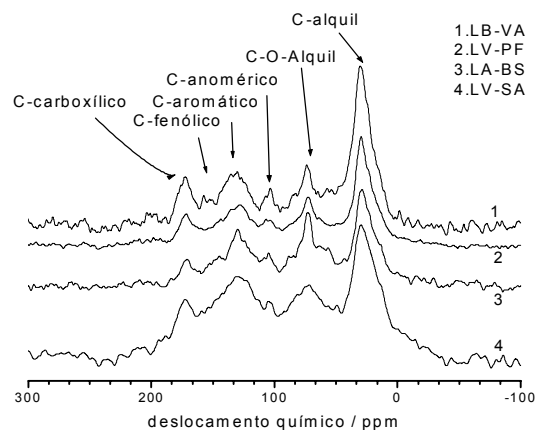


Figura 2. Espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN CPMAS das huminas

Tabela 2. Deslocamento químico, atribuições e proporções dos grupos funcionais de carbono dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  das huminas de quatro Latossolos Brasileiros,

Grupo funcional, deslocamento/ppm	Huminas			
	LV-SA	LB-VA	LA-BS	LV-PF
C alquil / 0-45	40,0	30,1	33,7	37,0
C O-alquil / 45-90	20,2	21,6	26,0	21,6
C anomérico / 90-110	5,8	7,5	6,6	6,7
C arom. / 110-140	14,5	17,6	18,2	16,4
C fenólico / 140-160	6,9	8,8	7,0	7,0
C carboxílico / 160-185	9,2	9,1	6,1	8,3
C cetônico / 185-220	3,6	4,3	1,4	3,0
A/A-O	1,54	1,03	1,03	1,31

A razão A/A-O informa sobre o grau de decomposição do material orgânico e variou nas huminas de 1 a 1,5. Para a matéria orgânica inteira do solo este índice variou de 0,52 a 0,62<sup>4</sup>. Esta razão se correlacionou inversamente com a razão Gt/Gt+Hm:  $r= - 0,9798$ . Nos solos goethíticos o grau de decomposição foi, portanto, inferior ao observado nos hematíticos.

## Conclusões

De 50 a 80 % do carbono orgânico do horizonte A dos latossolos analisados encontra-se na forma de humina. Esta fração é menos hidrofílica do que a matéria orgânica total do solo, porém apresenta 38 a 42 % de grupos funcionais alifáticos contendo oxigênio. Em comparação às outras frações húmicas, a humina é mais pobre em nitrogênio, entretanto a razão C/N indica a ocorrência de compostos nitrogenados nesta fração.

A fração humina destes latossolo parece ser formada em grande parte por complexos organo-minerais, onde ocorre a proteção de grupos funcionais de fácil decomposição. Aparentemente este efeito protetor é exercido mais efetivamente pela goethita do que pela hematita.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a CNPq, DAAD e CAPES pelo apoio financeiro ao projeto.

---

<sup>1</sup> Dick, D.P.; Gomes, J.; Rosinha, P.B. *Rev. Bras. Ci. Solo* **1998**, *22*, 603.

<sup>2</sup> Dick, D.P.; Santos, J.H.Z.; Ferranti, E.M. *Rev. Bras. Ci. Solo* **2003**, *27*, 29.

<sup>3</sup> Silverstein, R.M.; Bassler, G.C.; Morrill, T.C. *Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos*. **1994**. Ed. Guanabara Koogan, AS. 5 Edição. RJ.

<sup>4</sup> Dick, D.P.; Gonçalves, C.; Dalmolin, R.S.D.; Knicker, H.; Klamt, E.; Koegel-Knabner, I.; Simões, M.L.; Martin-Neto, L. *Geoderma*, **2005**, *124*, 319.

<sup>5</sup> Knicker, K.; Ludeman, H.D. *Org. Geochem.* **1995**, *23*, 329.

<sup>6</sup> Baldock, J.A.; Oades, J.M.; Waters, A.G.; Peng, X.; Vassallo, A.M.; Wilson, M.A. *Biogeochemistry*, **1992**, *16*, 1.

## Sistemas de manejo de um Latossolo de Cerrado e formas de C orgânico avaliadas por espectroscopia de RMN CP-MAS $^{13}\text{C}$

Jeferson Dieckow<sup>1\*</sup> (PQ), Paulo C. Conceição<sup>2</sup> (PG), Madalena Boeni<sup>2</sup> (PG), Ladislau Martin-Neto<sup>1</sup> (PQ), Cimélio Bayer<sup>2</sup> (PQ), Rafael Anzanello<sup>2</sup> (IC), João Mielniczuk<sup>2</sup> (PQ), Manuel C. M. Macedo<sup>3</sup> (PQ)

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária, C.P. 741, 13.560-970, São Carlos SP.

<sup>2</sup> Departamento de Solos da UFRGS, Porto Alegre RS

<sup>3</sup> Embrapa Gado de Corte, Campo Grande MS

\*e-mail: jeferson@cnpdia.embrapa.br

Palavras Chave: cerrado, sistemas de manejo, espectroscopia.

### Introdução

Apesar do Cerrado Brasileiro ser uma importante fronteira agrícola do País, com uma área potencialmente cultivável de 70 milhões de hectares<sup>1</sup>, o conhecimento relacionado aos impactos das atividades agrícolas sobre a qualidade da matéria orgânica nos solos dessa região ainda é relativamente escasso.

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear, com polarização cruzada e ângulo mágico de giro, do isótopo  $^{13}\text{C}$  (RMN CP-MAS  $^{13}\text{C}$ ) é uma ferramenta utilizada para a caracterização de substâncias húmicas extraídas de amostras de solo, porém possui limitações quanto à análise da matéria orgânica de amostras integrais de solo que possuem óxidos de ferro em sua constituição. O íon paramagnético  $\text{Fe}^{+3}$  dos óxidos interfere no tempo de relaxação de alguns spins nucleares de  $^{13}\text{C}$  e conseqüentemente na intensidade do sinal dos mesmos, prejudicando a quantificação dos diferentes tipos de carbono. Uma forma de viabilizar a análise espectroscópica de amostras integrais de solos é o tratamento dessas amostras com solução de ácido fluorídrico<sup>2</sup>, que além de remover o íon  $\text{Fe}^{+3}$ , também concentra o carbono na amostra através da dissolução dos silicatos.

O sistema convencional de preparo do solo, com arações e gradagens, tende a aumentar a concentração de radicais livres semi-quinona na fração ácido húmico do solo, em comparação ao sistema plantio direto (sem preparo), segundo resultados obtidos através de espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR)<sup>3</sup>. Concordante, através da técnica de fluorescência induzida por laser (FIL) aplicada sobre amostras integrais de solo, Milori et al.<sup>4</sup> observaram maior intensidade de sinal, significando, portanto, maior concentração de estruturas de sistemas conjugados (fluoróforos), em solo sob preparo convencional em relação ao sob plantio direto. Os resultados de ambas as técnicas demonstraram um aumento na concentração de compostos orgânicos mais recalcitrantes, principalmente de natureza aromática, em solos sob preparo convencional,

sendo isso decorrente da decomposição acelerada de estruturas orgânicas menos lábeis, como carboidratos e peptídios, promovida pelo intenso revolvimento do solo neste sistema de manejo.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a matéria orgânica de um Latossolo de Cerrado, submetido a diferentes sistemas de preparo do solo e de pastagem, através da técnica RMN CP-MAS  $^{13}\text{C}$ .

O estudo foi baseado num experimento de longa duração (11 anos), instalado na Unidade da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande (MS). A área foi mantida sob vegetação de Cerrado até 1973, quando foi implantada uma pastagem de braquiária posteriormente conduzida até o estabelecimento do experimento, em 1993. O solo é classificado como Latossolo Vermelho, de textura argilo-arenosa (360 g argila  $\text{kg}^{-1}$ ), e o clima como Tropical, com chuvas concentradas no verão (Aw). O solo da camada de 0-5 cm dos tratamentos (i) preparo convencional, com soja no verão e pousio no inverno, (ii) plantio direto, com soja no verão e milho no inverno, (iii) integração lavoura-pecuária, com um ano soja e três anos pastagem de braquiária brizanta (*Brachiaria brizantha*) e (iv) pastagem permanente de braquiária decumbens (*B. decumbens*) mais leguminosas foi amostrado em abril de 2004, em três repetições. O solo da vegetação nativa de Cerrado também foi amostrado para representar a condição ambiental original.

Após a secagem e moagem (0,5 mm) de cada amostra de solo, uma alíquota de aproximadamente 5 g foi submetida ao tratamento ácido em 200 mL de ácido fluorídrico 10% (HF), sob agitação "end-over-end", por um período de 5 a 7 dias. Posteriormente, a suspensão foi centrifugada (2000  $\times g$  por 30 minutos) e o material no fundo do tubo lavado por cinco vezes com água destilada antes de ser secado a 40 °C. Outra alíquota da amostra de solo foi utilizada para a determinação da concentração de carbono orgânico total (COT), através de combustão seca.

Os espectros de RMN CP-MAS  $^{13}\text{C}$  das três repetições de campo das amostras tratadas com HF foram adquiridos num espectrômetro Varian,



modelo Unity Nova 400 MHz, operando com frequência de 100.6 MHz, tempo de contato de 1 ms, tempo de espera de 0,400 s e giro do rotor de 8,1 kHz. Após a transformação de Fourier, um alargamento de linha de 100 Hz foi empregado nos espectros. Cada tipo de carbono foi quantificado através da integração dos sinais em suas correspondentes bandas espectrais: C alquil (-10 a 45 ppm), C O-alquil (45 a 110 ppm), C aromático (110 a 160 ppm) e C carbonil (160 a 220 ppm).

## Resultados e Discussão

A concentração de COT foi menor no solo submetido ao preparo convencional (17,6 g C kg<sup>-1</sup>) em relação aos solos sob cerrado nativo (29,6 g C kg<sup>-1</sup>), plantio direto (22,8 g C kg<sup>-1</sup>), integração lavoura-pecuária (23,4 g C kg<sup>-1</sup>) e pastagem (25,8 g C kg<sup>-1</sup>) (Tabela 1). Isso reflete as maiores perdas de C por mineralização e conseqüentemente as maiores emissões de CO<sub>2</sub> para a atmosfera no solo sob preparo convencional. Enquanto no sistema convencional o revolvimento do solo aumenta a disponibilidade de oxigênio e reduz a proteção física da matéria orgânica no interior dos agregados, aumentando assim a taxa de mineralização, nos sistemas sem preparo a preservação dos agregados aumenta a proteção física da matéria orgânica e a diminui a taxa de difusão de oxigênio no interior do solo<sup>5</sup>, reduzindo assim a taxa de mineralização.

**Tabela 1.** Concentração de carbono orgânico total (COT) na camada de 0-5 cm.

Tratamento	Teor de COT (g kg <sup>-1</sup> )
Cerrado	29,6 a <sup>(1)</sup>
Preparo convencional	17,6 b
Plantio direto	22,8 ab
Integração – 1S/3BB <sup>(2)</sup>	23,4 ab
Pastagem – BD+Leg <sup>(3)</sup>	25,8 ab

<sup>(1)</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, de acordo com Teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

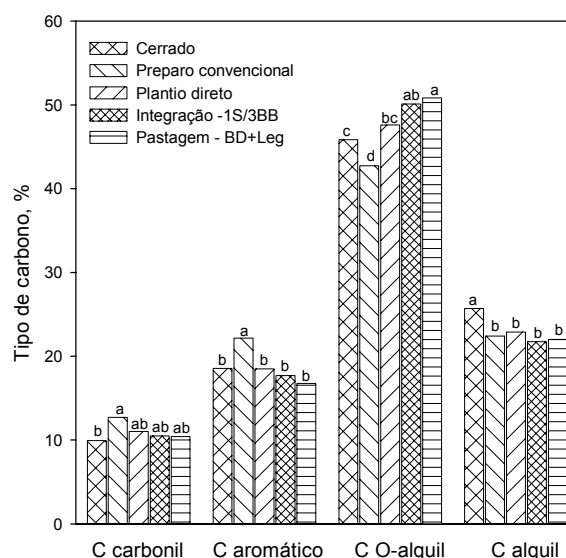
<sup>(2)</sup> 1S/3BB = 1 ano soja e 3 anos braquiária brizanta.

<sup>(3)</sup> BD+Leg = braquiária decumbens mais leguminosa.

Entre os solos sem preparo, apesar das diferenças não serem significativas, houve tendência da concentração de COT aumentar na ordem plantio direto < integração lavoura-pecuária < pastagem < cerrado (Tabela 1). A tendência de menor concentração de COT no plantio direto, integração lavoura-pecuária e pastagem em relação ao Cerrado pode estar associada a perdas de C ocorridas antes da instalação do experimento, de 1973 a 1993. Enquanto isso, a tendência de aumento da concentração de COT na ordem plantio direto < integração lavoura-pecuária < pastagem

pode estar relacionada com um respectivo incremento na adição de resíduos culturais ao solo.

Com relação aos resultados das análises espectroscópicas de RMN CP-MAS <sup>13</sup>C, o solo sob preparo convencional apresentou maior proporção de C carbonil e C aromático e menor de C O-alquil em relação aos solos não preparados (Figura 1). Isso é coerente com o fato do solo sob preparo convencional apresentar maior taxa de mineralização da matéria orgânica, de modo que estruturas orgânicas mais lábeis, como polissacarídeos (celulose, hemicelulose, peptidoglicanos, etc.) representadas por C O-alquil, sejam preferencialmente decompostas, resultando conseqüentemente num aumento da proporção de estruturas orgânicas mais recalcitrantes, como as aromáticas e carbonílicas (carboxilas, aldeídos e cetonas). Conclui-se, portanto, que a matéria orgânica do solo preparado convencionalmente possui um maior grau de humificação em relação aos não preparados. Esses resultados concordam com outros obtidos através de espectroscopia EPR, que indicam maior concentração de radicais livres semi-quinona, e portanto de estruturas aromáticas, em solos preparados convencionalmente em relação aos sem preparo<sup>3</sup>. Também concordam com resultados prévios obtidos através de FIL, que indicam maior grau de humificação em solos sob preparo convencional<sup>4</sup>.



**Figura 1.** Proporção dos diferentes tipos de C na matéria orgânica do solo da camada de 0-5 cm. Resultados de RMN CP-MAS <sup>13</sup>C. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente, de acordo com Teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Entre os sistemas sem preparo, a proporção de C O-alquil aumentou de 47,6 % no sistema plantio direto para 50,1 % no sistema integração lavoura-pecuária e para 50,8 % no sistema pastagem (Figura 1). Junto com esse aumento, houve uma

tendência, embora não significativa, de decréscimo na proporção dos demais tipos de C (carbonil, aromático e alquil) nos solos sob integração lavoura-pecuária e pastagem em relação ao sob plantio direto, cujo sistema de culturas era constituído de soja no verão e milho no inverno. Tais resultados estão possivelmente relacionados com uma maior adição de fitomassa no sistema pastagem, aumentando assim a proporção de formas mais lábeis de C (C O alquil).

### Conclusões

O sistema de preparo do solo e a adoção de sistemas de integração lavoura-pecuária ou pastagem permanente alteram a composição da matéria orgânica do Latossolo de Cerrado investigado neste estudo.

A decomposição acelerada da matéria orgânica no solo preparado convencionalmente diminui a proporção de estruturas mais lábeis (C O-alquil), aumentando conseqüentemente a de estruturas mais recalcitrantes (C carbonil e C aromático). Portanto, com o preparo convencional do solo o

grau de humificação da matéria orgânica é aumentado.

Sistemas com pastagem apresentam maior proporção de estruturas orgânicas mais lábeis (C O-alquil), possivelmente em função da maior adição de resíduos vegetais.

### Agradecimentos

Ao CNPq, pelas respectivas bolsas concedidas a J. Dieckow, L. Martin-Neto, Cimélio Bayer e M.C.M. Macedo.

Aos doutores Wilson L. da Silva e Marcelo Simões (Embrapa Instrumentação) pela assessoria nas análises de RMN.

<sup>1</sup> Goedert, W. J. *Pesq. Agrop. Bras.* **1989**, *24*, 1.

<sup>2</sup> Gonçalves, C. N.; Dalmolin, R. S. D.; Dick, D. P.; Knicker, H.; Klamt, E. e Kögel-Knabner, I. *Geoderma* **2003**, *116*, 373.

<sup>3</sup> Bayer, C.; Martin-Neto, L.; Mielniczuk, J.; Saab, S. C.; Milori, D. M. B. P. e Bagnato, V. S. *Geoderma* **2002**, *105*, 81.

<sup>4</sup> Milori, D. M. B. P.; Bayer, C.; Bagnato, V. S.; Mielniczuk, J. e Martin-Neto, L. *Soil Sci.* **2002**, *167*, 739.

<sup>5</sup> Balesdent, J.; Chenu, C. e Balabane, M. *Soil Till. Res.* **2000**, *53*, 215.

## Caracterização espectroscópica de subprodutos da industrialização do xisto betuminoso

Jeniffer Vanelle dos Santos<sup>1\*</sup> (IC), Betânia Fraga Pereira<sup>2</sup> (PQ), Antonio S. Mangrich<sup>1</sup> (PQ), Iara Messerschmidt<sup>1</sup> (PQ), Clenio N. Pillon<sup>2</sup> (PQ), Carlos A. P. Silveira<sup>2</sup> (PQ), Sandro Giacomini<sup>2</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR.

<sup>2</sup>EMBRAPA Clima Temperado, BR 392, Km 78, Pelotas – RS.

\*e-mail: je\_santos@btrturbo.com.br

Palavras Chave: xisto, PLS, FTIR.

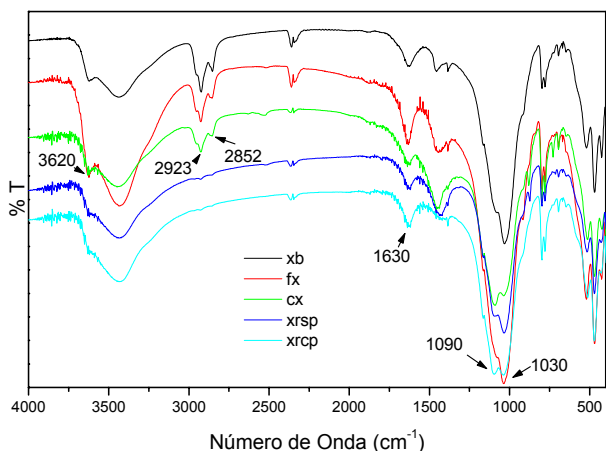
### Introdução

O termo “xisto”, embora geologicamente impróprio, tem sido utilizado para designar rochas sedimentares com elevado teor de matéria orgânica em sua matriz mineral. Reservas de xisto ocorrem em diversos Estados brasileiros, sendo que a Formação Irati começa no Estado de São Paulo e vai até a fronteira Brasil-Uruguai. Nesta Formação, um afloramento expressivo ocorre na região de São Mateus do Sul (PR), onde está instalada a Superintendência da Industrialização do Xisto (PETROBRAS/SIX). O xisto retornado resulta do processo de extração, por pirólise, do óleo e gás do xisto bruto. Ao xisto bruto, que vai para o processo de retortagem na unidade protótipo da SIX, adiciona-se pneu com a finalidade de dar destino a este passivo ambiental. Devido à grande quantidade dos resíduos gerados na extração do óleo e gases do xisto bruto, estuda-se a sua possível utilização na agricultura. As amostras aqui estudadas são: xisto bruto (XB), finos de xisto (FX), calxisto (CX), xisto retornado sem adição de pneu (XRSP), xisto retornado com adição de pneu (XRCP) e xisto retornado sem adição de pneu com maior tempo de exposição na pilha (XRSPI). Amostras de XRSP foram extraídas em seqüência com soluções de  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 + \text{NaOH}$ ; uréia +  $\text{NaOH}$ ;  $\text{DMSO} + \text{HCl}$  e  $\text{HCl} + \text{HF}$ . A metodologia de extração foi adaptada de Picollo et al.<sup>1</sup> e Hayes et al.<sup>2</sup>. As amostras foram analisadas por Espectrometria de Emissão Atômica (do inglês Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry - ICP-AES), espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR), infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e Difração de Raio-X (XRD). O método dos mínimos quadrados parciais (do inglês “PLS”) foi aplicado na avaliação das correlações entre os espectros de FTIR (matriz X - amostras XB, FX, CX, XRSP, XRCP) com os dados de ICP-AES (matriz Y – Al, Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, P, Si e V)<sup>3</sup>. Para a construção do modelo PLS, utilizou-se os espectros em  $\log 1/R$  ( $R = \text{Reflectância}$ ), centrados na média, alisados com 15 pontos e a correção do sinal ortogonal (CSO) (matriz X) e centrados na média os dados da matriz Y. A CSO é útil para remover variâncias de X que não são correlacionadas a Y<sup>4</sup>.

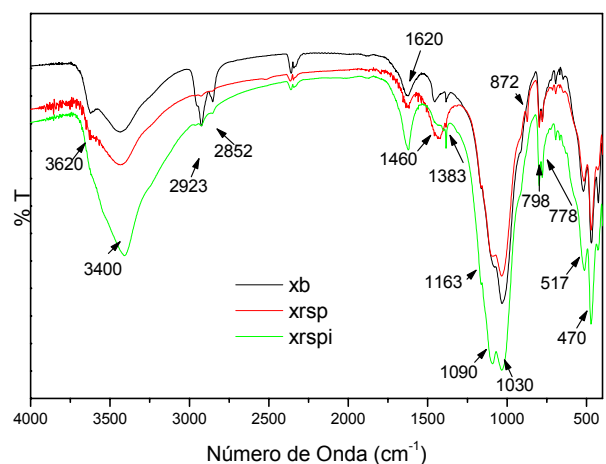
### Resultados e Discussão

Nos espectros de FTIR das amostras estudadas observam-se bandas na região de: (a)  $3620 \text{ cm}^{-1}$   $\nu$  AIO-H de caulinita; (b)  $3400 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1458 \text{ cm}^{-1}$  e  $873 \text{ cm}^{-1}$  referente ao mineral carbonato-apatita; (c)  $2930$  e  $2850 \text{ cm}^{-1}$  referente à vibração  $\nu$  C-H ( $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$ ); (d)  $1660 - 1620 \text{ cm}^{-1}$  referente à  $\nu$  C=O ( $\text{COO}^-$ , amida I),  $\delta$  H-O-H ( $\text{H}_2\text{O}$ ),  $\nu$  C=C (anel aromático ou de alifático insaturado),  $\nu$  C=N, sendo que a banda em  $1660 \text{ cm}^{-1}$  aparece apenas na amostra de humina extraída com uréia +  $\text{NaOH}$ ; (e)  $1380 \text{ cm}^{-1}$  referente à  $\delta$  H-C-H ( $\text{CH}_3$ ),  $\nu$  C=O ( $\text{COO}^-$ ); (f) bandas em  $1168 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1090 \text{ cm}^{-1}$  (vibração  $\nu$  Si-O),  $798 \text{ cm}^{-1}$ ,  $778 \text{ cm}^{-1}$  e  $697 \text{ cm}^{-1}$  referentes a quartzo; (g)  $1030 \text{ cm}^{-1}$ ,  $790 \text{ cm}^{-1}$ ,  $723 \text{ cm}^{-1}$  e  $430 \text{ cm}^{-1}$  referente à vibração Si-O-Al e, ou, Si-O-Fe<sup>5, 7, 8, 9, 10</sup>, sendo que na amostra de humina extraída com  $\text{HCl} + \text{HF}$  a banda em  $1030 \text{ cm}^{-1}$  não é mais observada. Nas Figuras 1 e 2 observam-se diferenças de relações de intensidade entre as bandas em  $1090$  e  $1030 \text{ cm}^{-1}$ . Observa-se também que as bandas em  $2923$  e  $2852 \text{ cm}^{-1}$  referentes a  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$  não aparecem nas amostras xisto retornado sem pneu (XRSP) e xisto retornado com pneu (XRCP), sugerindo que os mesmos são extraídos no processo de pirólise do xisto bruto (Figura 1). Na Figura 2, onde se tem o comparativo entre o xisto bruto, xisto retornado sem pneu (XRSP) e xisto retornado sem pneu com maior tempo de exposição na pilha (XRSPI) observa-se que com o maior tempo de exposição ao ar há aumento da intensidade da banda em  $1620 \text{ cm}^{-1}$  (grupos  $\text{COO}^-$ ) sugerindo processo de oxidação de estruturas orgânicas. O ácido húmico (AH) extraído com  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 + \text{NaOH}$  apresenta banda intensa em  $1620 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{COO}^-$ ) e  $1400 \text{ cm}^{-1}$  ( $\delta$  CH ( $\text{CH}_3$ )) e, ou,  $\nu$  C=O ( $\text{COO}^-$ ), respectivamente, quando comparado ao XRSP de onde este foi extraído. A Figura 3 mostra os espectros de FTIR das huminas (material insolúvel) extraídas seqüencialmente como já citadas. Aqui também se observam diferenças de relações de intensidade entre as bandas em  $1090$  e  $1030 \text{ cm}^{-1}$ , sendo que no XB a banda em  $1030 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu$  Si-O-Al e, ou,  $\nu$  Si-O-Fe) é bem mais intensa que em  $1090 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu$  Si-O) e esta relação vai mudando no decorrer das extrações sendo que na última

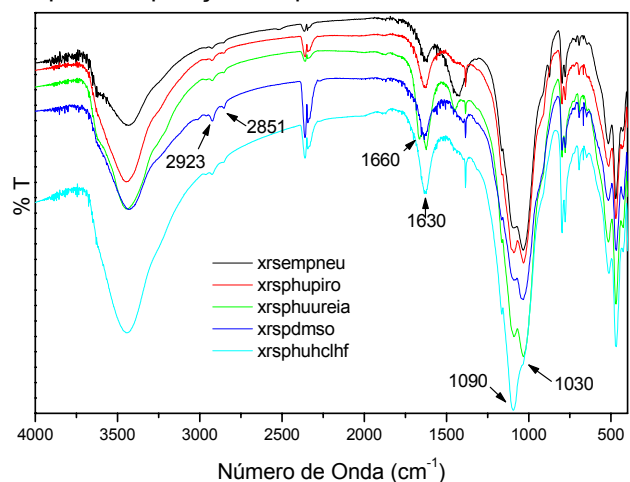
extração, com HCl + HF a banda em  $1090\text{ cm}^{-1}$  é bem mais intensa e quase não existindo mais banda em  $1030\text{ cm}^{-1}$ . Sugere-se que o processo sequencial de extração está liberando íons  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Al}^{3+}$ , para a solução.



**Figura 1.** FTIR do xisto bruto, finos de xisto, calxisto, xisto retortado sem pneu e xisto retortado com pneu, respectivamente.

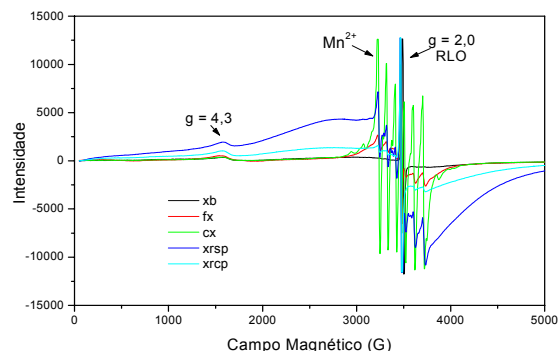


**Figura 2.** FTIR do xisto bruto, xisto retortado sem pneu e do xisto retortado sem pneu com maior tempo de exposição, respectivamente.

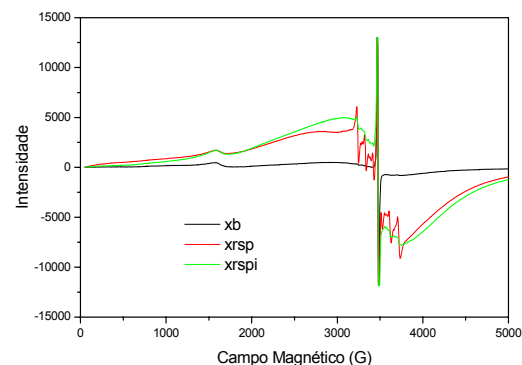


**Figura 3.** FTIR do xisto retortado sem pneu e huminas (HU) extraídas do xisto retortado sem pneu com  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 + \text{NaOH}$ , uréia +  $\text{NaOH}$ , DMSO + HCl e HCl + HF, respectivamente.

Nos espectros de EPR, à temperatura ambiente, da amostra de XB e seus subprodutos, observam-se: (a) linha de absorção de baixa intensidade em  $g \sim 4,3$  indicando a presença de íons  $\text{Fe}^{3+}$  (ligados à matéria orgânica) de spin alto em sítios octaédricos e, ou, tetraédricos com alta distorção rômica. Esta região do espectro é dita também de domínios diluídos de íons  $\text{Fe}^{3+}$ ; (b) linha larga de absorção em  $g \sim 2,0$  atribuída a íons  $\text{Fe}^{3+}$  em domínios concentrados; (c) sexteto de linhas referente a complexos de  $\text{Mn}^{2+}$  em estruturas de esfera externa com interação hiperfina,  $A = 86\text{G}$ , com sinal intenso no calxisto e; (d) linha de absorção de radical livre orgânico (RLO) em  $g \sim 2,0$  (Figura 4). No comparativo entre o xisto bruto, xisto retortado sem pneu (XRSP) e xisto retortado sem pneu com maior tempo de exposição na pilha (XRSPI) observa-se que, com o maior tempo de exposição na pilha, o sinal de  $\text{Mn}^{2+}$  diminui do XRSP para o XRSPI e há aumento na intensidade do sinal referente a  $\text{Fe}^{3+}$  (Figura 5). Sugere-se que ocorram processos de oxidação na amostra XRSPI. Há aumento dos valores de número de spin  $g^{-1}$  do XB para o XRSP e para o XRSPI, sendo os mesmos  $3,60 \times 10^{17}$ ,  $4,22 \times 10^{17}$  e  $5,41 \times 10^{17}$ , respectivamente. Como pode ser observado na Figura 6, referente as huminas, com o decorrer das extrações há diminuição na intensidade das linhas de  $\text{Fe}^{3+}$  sendo que na última extração, com HCl + HF, observa-se apenas sinal intenso de RLO, sugerindo que esta seqüência de extrações foi eficiente em retirar íons  $\text{Fe}^{3+}$  ligado a material inorgânico e possivelmente, servindo de conexão entre estruturas orgânicas e inorgânicas.

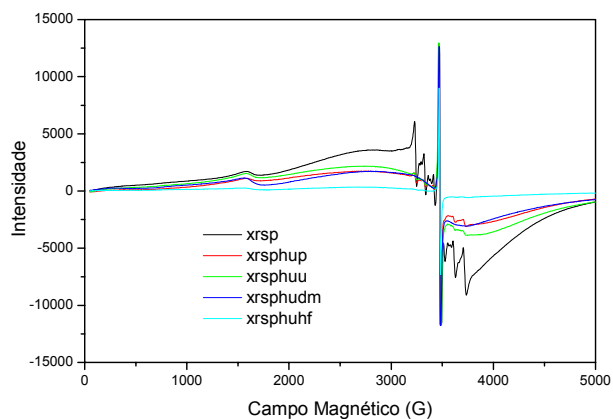


**Figura 4.** EPR do xisto bruto, finos de xisto, calxisto, xisto retortado sem pneu e xisto retortado com pneu, respectivamente.



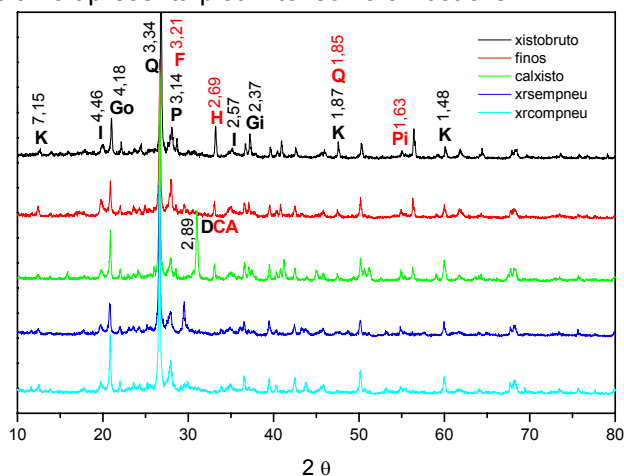
**Figura 5.** EPR do xisto bruto, xisto retortado sem pneu e do xisto retortado sem pneu com maior tempo de exposição, respectivamente.





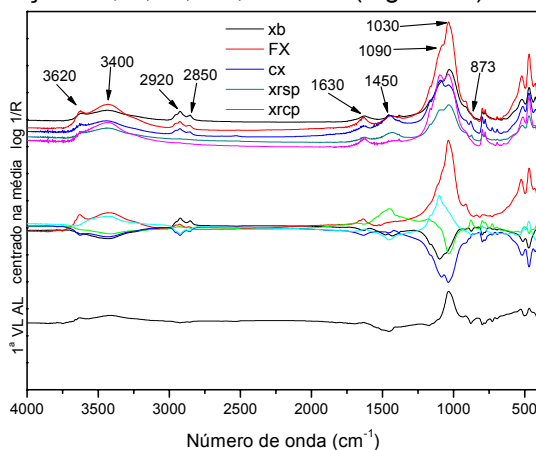
**Figura 6.** EPR do xisto retornado sem pneu e huminas (HU) extraídas do xisto retornado sem pneu com  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 + \text{NaOH}$ , uréia +  $\text{NaOH}$ ,  $\text{DMSO} + \text{HCl}$  e  $\text{HCl} + \text{HF}$ , respectivamente.

Na Figura 7, para XB e seus subprodutos, observam-se os difratogramas de Raios-X indicando a presença dos seguintes minerais: (a) caulinita (K), que aparece em todas as amostras, em função das reflexões em 7,15Å; 4,46Å e 2,57 Å e do mineral illita com reflexões em 4,46Å e 2,57Å. A presença desses minerais também é confirmada pela banda em 3620  $\text{cm}^{-1}$  por FTIR; (b) carbonato-apatita (CA), com pico intenso na amostra CX, conforme observado em FTIR (3400  $\text{cm}^{-1}$ , 1458  $\text{cm}^{-1}$  e 873  $\text{cm}^{-1}$ ); (c) quartzo (Q), indicado pelas reflexões a 3,34Å e 1,85Å, com pico bastante intenso em todas as amostras, conferindo com as bandas na região de 1000  $\text{cm}^{-1}$  no FTIR; (d) feldspato (F), caracterizada pela reflexão em 3,21Å, aparecendo em todas as amostras, mas com menor intensidade na amostra CX e conferindo com as bandas na região de 800 a 700  $\text{cm}^{-1}$ ; (e) todos os difratogramas mostram a presença de gibsita (Gi); (f) hematita, com picos somente nas amostras XB, FX e CX; e (g) pirita (Pi), também aparecendo somente nas amostras XB, FX e CX. Também foram identificados os minerais illita (I), pirolusita (P), goetita (Go) e dolomita (D), com reflexão a 2,89Å, sendo que este último apresenta pico intenso na amostra CX<sup>5,7,8,9,10</sup>.

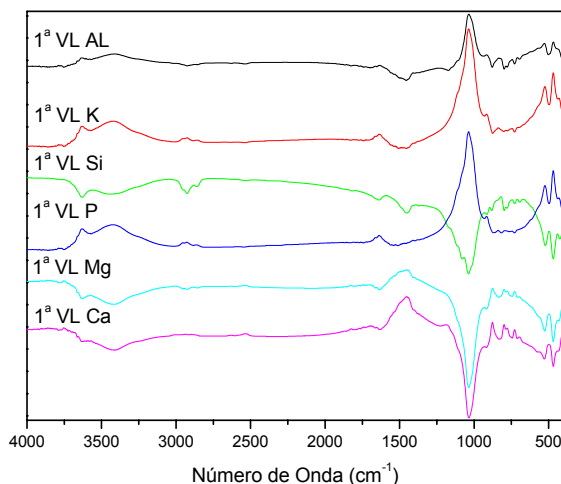


**Figura 7.** Difratograma de raios-X das amostras xisto bruto, finos de xisto, calxisto, xisto retornado com pneu e xisto retornado com pneu.

O método PLS gera vetores “loadings” que, neste caso, se correlacionam positivamente ou negativamente com os dados espectrais (FTIR) e as concentrações obtidas por ICP-AES<sup>3, 11</sup>. A Figura 8 mostra os espectros de FTIR em absorvância (A) do xisto bruto, finos de xisto, calxisto, xisto retornado sem pneu e xisto retornado com pneu, seus respectivos espectros centrados na média e o “loading” da 1ª variável latente (VL), para o modelo PLS, do elemento Al e dos espectros de FTIR das amostras do xisto bruto e seus subprodutos acima citados. Picos positivos nos primeiros pesos espectrais indicam correlação positiva entre a banda de vibração no infravermelho com a concentração dos elementos estudados<sup>11</sup>. As Figuras 9 e 10 mostram os “loadings” da primeira variável latente (VL), utilizando os espectros de FTIR e os dados de ICP-AES para os elementos representativos Al, K, Si, P, Mg e Ca (Figura 9) e de transição Co, V, Ni, Mn, Fe e Cu (Figura 10).

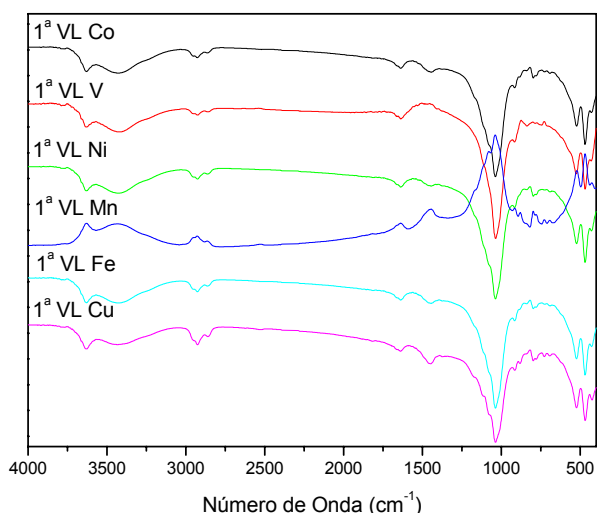


**Figura 8.** FTIR em A do xisto bruto, finos de xisto, calxisto, xisto retornado sem pneu e xisto retornado com pneu, seus respectivos espectros centrados na média e o “loading” da 1ª variável latente (VL), para o modelo PLS, de Al e dos espectros de FTIR das amostras de xisto bruto e seus subprodutos.



**Figura 9.** “Loadings” da 1ª variável latente (VL), para o modelo PLS, dos dados de ICP-AES (Al, K, Si, P, Mg e Ca) e dos espectros de FTIR do xisto bruto e seus subprodutos.





**Figura 10.** “Loadings” da 1ª variável latente (VL), para o modelo PLS, dos dados de ICP-AES (Co, V, Ni, Mn, Fe e Cu) e dos espectros de FTIR do xisto bruto e seus subprodutos.

As regiões importantes que se correlacionam mais intensamente com estes elementos são as atribuídas a vibrações O-H, carbonatos e Si-O de estruturas minerais com exceção de estruturas orgânicas de CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub> e de carboxilatos. Há correlações positivas entre os elementos Al, K e P com as bandas referentes às estruturas de argilas (3630 cm<sup>-1</sup>, AIO-H) e 1030 cm<sup>-1</sup> (ν Si-O) e correlação negativa entre os elementos Ca, Mg e Si com estas bandas (Figura 8). Ca e Mg correlacionam-se positivamente com a banda atribuída a carbonatos (1450 cm<sup>-1</sup>) (Figura 8). Na Figura 9 observam-se correlações positivas entre as referidas bandas com o Mn e negativa com os elementos Co, V, Ni, Mn, Fe e Cu. Isto indica a ligação do Mn com estruturas de argilas e dos demais elementos de transição com outras estruturas do material, possivelmente de carboxilatos e fenolatos das estruturas orgânicas do xisto.

## Conclusões

Comparando os espectros de FTIR e EPR do xisto com o xisto retornado e com o xisto retornado com maior tempo de exposição na pilha, sugere-se que, ocorram processos de oxidação das estruturas orgânicas presentes no mesmo em função da maior intensidade da banda em 1620 cm<sup>-1</sup> referente a grupos COO<sup>-</sup> e em função do aumento na intensidade do sinal referente a Fe<sup>3+</sup> em domínios concentrados nos espectros de EPR. Pelos espectros de FTIR das huminas sugere-se que o

processo de extração sequencial está liberando ions Fe<sup>3+</sup> e Al<sup>3+</sup>, para a solução em função das diferenças de intensidade das bandas em 1090 e 1030 cm<sup>-1</sup> e por EPR sugere-se que esta seqüência de extrações foi eficiente em retirar ions Fe<sup>3+</sup> ligado a material inorgânico e possivelmente, servindo de conexão entre estruturas orgânicas e inorgânicas. Através do método PLS, utilizando espectros de FTIR (matriz X) e teores de elementos químicos (matriz Y), observou-se correlação positiva entre Al, K, P e Mn com estruturas de argilas, Ca e Mg com carbonatos e os elementos Co, V, Ni, Fe e Cu com outros componentes, possivelmente grupos carboxilatos e, ou, fenolatos das estruturas orgânicas dos materiais estudados.

## Agradecimentos

CNPq, UFPR, TERMO DE COOPERAÇÃO TECNOLÓGICA PETROBRAS/EMBRAPA, FAPEG.

<sup>1</sup> Piccolo, A., Celano, G. e Conte, P. Methods of isolation and characterization of humic substances to study their interactions with pesticides. In: Pesticides/Soil Interactions, Some current research methods. Cornejo, J. e Jamet, P., INRA, **2000**, 103-116.

<sup>2</sup> Hayes, M. H. B. Extraction of humic substances from soil. In: Humic Substances in soil, sediment and water. Geochemistry, Isolation and Characterization. Aiken, G. R., Mcknight, D. M., Wershaw, R. L., MacCarthy, P. Wiley, New York, **1985**, 147-180.

<sup>3</sup> Pereira, B. F. Novas abordagens no preparo e na caracterização de substâncias húmicas. Tese, Doutorado em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, **2004**, 224.

<sup>4</sup> Wold, S., Trygg, J., Berglund, A. e Antti, H. Some recent developments in PLS modeling. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, **58**, 2, **2001**, 131-150.

<sup>5</sup> Russel, J. D. e Fraser, A. R. Infrared Methods. In: Clay Mineralogy: Spectroscopy and Chemical Determinative Methods. Wilson, M. J., **1994**, 18-61.

<sup>6</sup> Mangrich, A. S. Ressonância paramagnética eletrônica no estudo da interação de ions metálicos com ligantes macromoleculares do ambiente. Tese apresentada para concurso de Professor Titular, Curitiba, **1993**.

<sup>7</sup> Costa Neto, C., Nakayama, H. T., Scofield, A. L. e Alencastro, R. B. Perfil de distribuição de elementos químicos e de minerais ao longo de uma coluna estratigráfica da Formação Irati. Publicação nº 6 do Projeto Xistoquímica, UFRJ/BNDE, **1976**.

<sup>8</sup> Naidja, A., Huang, P. M., Anderson, D. W., Kessel, C. Fourier transform infrared, UV-visible, and x-ray diffraction analyses of organic matter in humin, humic acid, and fulvic acid fractions in soil exposed to elevated CO<sub>2</sub> and N fertilization. Applied Spectroscopy, **2002**, **56**, 318.

<sup>9</sup> Fonseca, M. C., Cunha, T. P., Fonseca, M. V. A., Santos, P. S. Estudos comparativos preliminares de caracterização química e mineralógica de amostras de xistos original e pirolisado do Processo Petrosix. Publicação nº 38 do Projeto Xistoquímica, IQ/UF RJ, Cerâmica, **1984**, **30**, 174.

<sup>10</sup> Fonseca, M. C., Cunha, T. P., Fonseca, M. V. A., Santos, P. S. Estudo das propriedades após a queima, em atmosfera oxidante, do xisto pirolisado do Processo Petrosix. Publicação nº 38 do Projeto Xistoquímica, IQ/UF RJ, Cerâmica, **1984**, **30**, 175.

<sup>11</sup> Janik, L. J., Skjemstad, J. O. Characterization and analysis of soils using mid-infrared partial least-squares. II. Correlations with some laboratory data. Aus. J. Soil Res. **1995**, 637-621.

# Caracterização espectroscópica por Ressonância Magnética Nuclear (NMR) e Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) de ácidos húmicos extraídos de solos submetidos à adição de biossólidos

Larissa Macedo dos Santos<sup>1,2</sup> (PG)\*, Wilson Tadeu Lopes da Silva<sup>1</sup> (PQ), Marcelo Luis Simões<sup>1</sup> (PQ) Débora M. B. P. Milori<sup>1</sup> (PQ), Wanderley José de Melo<sup>3</sup> (PQ), Ladislau Martin-Neto<sup>1</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, C.P. 741, CEP 13560-970 São Carlos-SP.; <sup>2</sup>Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos; <sup>3</sup>Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal-SP, Departamento de Tecnologia. \*e-mail: larissa@cnpdia.embrapa.br

Palavras Chave: Ácido Húmico, Lodo de Esgoto (Biossólido), Espectroscopia de NMR e FTIR.

## Introdução

Em regiões agrícolas próximas dos grandes centros urbanos e onde há o uso intensivo de recursos naturais, em especial do solo, a reciclagem para fins agrícolas de lodos de esgotos (biossólidos) aparece como alternativa promissora e recomendável<sup>1</sup>, pois o biossólido contém teores elevados de matéria orgânica (MO) e nutrientes (macro e micronutrientes, a exceção do potássio), os quais são de fundamental importância na produção agrícola e na manutenção da fertilidade do solo<sup>2-3</sup>. Neste sentido há vários trabalhos na literatura destacam os benefícios<sup>4</sup>.

A matéria orgânica do solo (MOS) tem sido por muito tempo objetivo de investigação na área da ciência do solo e ambiental. Atribui-se, atualmente, reconhecido papel em processos físicos, químicos e biológicos, fundamentais para a manutenção da produtividade agrícola, sustentabilidade de ecossistemas naturais ou manejados e equilíbrio global do ciclo do carbono. A busca por alternativas adequadas de manejo da MOS em cenários sociais e edafoclimáticos variáveis constitui um novo foco de atenção para os cientistas<sup>5</sup>.

A MOS é constituída por restos vegetais e animais em vários estágios de decomposição e biossíntese, podendo ser dividida em substâncias húmicas (SHs) (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e huminas) e substâncias não-húmicas (proteínas, aminoácidos, polissacarídeos, ácidos orgânicos de baixa massa molar, ceras e outros).

As SHs são os maiores constituintes da fração orgânica dos solos, sedimentos e águas, ocorrendo praticamente em todos os sistemas terrestres e aquáticos. Surgem da degradação de resíduos de plantas e animais e da atividade sintética de microrganismos<sup>6</sup>. As SHs são compostos orgânicos macromoleculares<sup>7</sup> ou estruturas supramoleculares, com massa molar aparente variando de poucas centenas a diversos milhares de unidades de massa atômica<sup>8-9</sup>.

Diversos métodos químicos e físicos têm sido intensamente empregados na caracterização dos

ácidos húmicos (AHs), dentre estes destaca-se neste trabalho, as técnicas espectroscópicas de <sup>13</sup>C NMR e de FTIR.

A partir da espectroscopia de <sup>13</sup>C NMR é observado um sinal de absorção de energia, quando o isótopo <sup>13</sup>C é colocado na presença de um campo magnético e uma fonte de radio frequência. A frequência de absorção do núcleo de <sup>13</sup>C é dependente do ambiente químico em torno do núcleo (como ambiente químico se entende os diferentes grupamentos funcionais presentes na MOS) e a intensidade é proporcional à quantidade do grupamento funcional analisado.

Por meio da espectroscopia FTIR é possível observar as oscilações do eixo (estiramentos) e do ângulo (deformações) das ligações entre os átomos de um determinado grupo funcional que apresente momento dipolo (diferença de polaridade entre os átomos de uma molécula), sendo útil na caracterização de grupamentos funcionais da MO.

O uso de técnicas espectroscópicas em conjunto fornecem grandes avanços na identificação de estruturas moleculares da MOS<sup>11-12</sup>.

Com o objetivo de contribuir para o estudo das SHs, este trabalho visou caracterizar, através das técnicas espectroscópicas de <sup>13</sup>C NMR e FTIR os aspectos estruturais dos AHs extraídos de dois solos submetidos à adição de biossólidos em experimentos de campo de longa duração.

## Resultados e Discussão

Os resultados obtidos são procedentes das análises de amostras de AHs extraídos de solos e biossólido, conforme a metodologia sugerida pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS). Os solos analisados foram coletados no 7º ano de um experimento em campo instalado em 1997 em áreas de monocultura de milho sob sistema de cultivo mínimo e adição de biossólido na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP em Jaboticabal-SP. Os biossólidos, provenientes da Estação de Tratamento de Esgoto da SABESP, em Barueri-SP, foram adicionados nas doses de 2,5 t/há base seca, nos anos de 1997/98 a

1999/2000 e 20,0 t/há biossólido, base seca, nos demais anos agrícolas, perfazendo uma dose acumulada de 87,5 t/há. As amostras foram coletadas nas camadas de 0-10; 10-20; 20-40 e 40-60 cm. Os solos analisados são classificados conforme o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (Embrapa, 1999), como Latossolo Vermelho eutroférico (LVe) e Latossolo Vermelho distrófico (LVd), solos de grande ocorrência no Estado de São Paulo.

As análises de NMR em estado sólido foram realizadas no espectrômetro Varian (Unity 400) pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos-SP. Os espectros foram obtidos, utilizando a técnica de polarização cruzada, amplitude variável e rotação no ângulo mágico ( $^{13}\text{C}$  VACP/MAS NMR).

**Tabela 1:** Áreas relativas (% da área total) das bandas nos espectros de  $^{13}\text{C}$  VACP/MAS NMR de amostras sólidas de AH extraídas dos solos (LVe e LVd) e do biossólido.

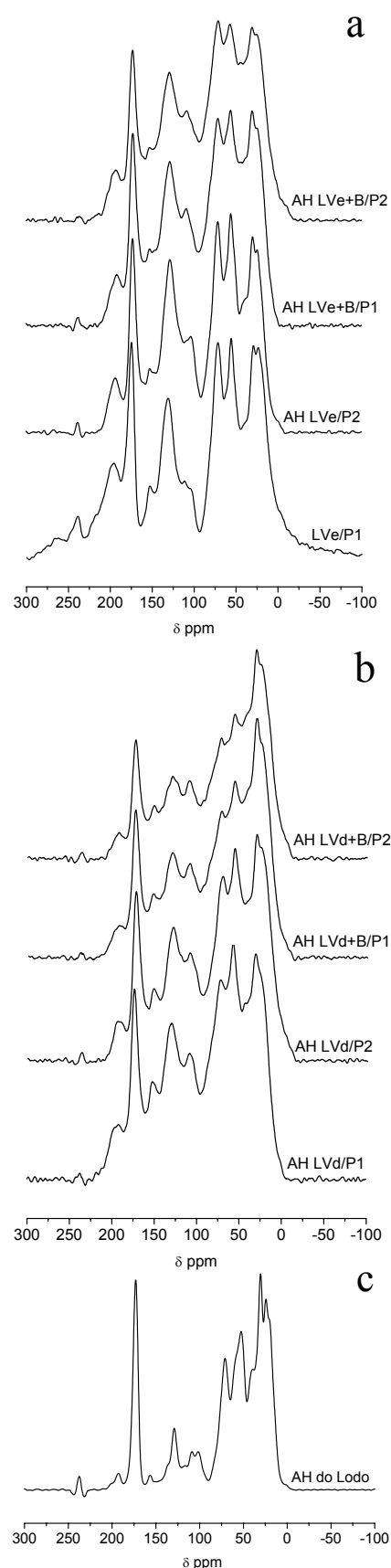
Amostras <sup>1</sup>	0-45	110-160	160-185	185-230
LVe/ P1	26,5	19,1	11,0	11,0
LVe/ P2	23,9	23,0	11,1	4,1
LVe/ P3	21,1	21,5	12,4	3,9
LVe/ P4	26,3	19,0	12,2	3,3
LVe+B/ P1	25,0	22,1	10,5	3,3
LVe+B/ P2	25,9	21,6	9,9	3,8
LVe+B/ P3	25,0	21,8	10,5	3,7
LVe+B/ P4	22,3	20,7	11,5	3,9
LVd/ P1	24,8	21,6	10,3	4,2
LVd/ P2	30,0	19,7	9,8	2,6
LVd/ P3	30,9	18,2	9,9	2,7
LVd/ P4	23,2	22,3	10,3	1,9
LVd+B/ P1	32,6	18,2	9,5	2,7
LVd+B/ P2	35,4	17,3	9,1	2,1
LVd+B/ P3	29,2	19,9	10,3	2,9
LVd+B/ P4	25,2	21,8	10,8	3,8
Biossólido	38,8	9,0	13,1	1,4

<sup>1</sup>LVe → Latossolo Vermelho eutroférico (testemunha);  
LVd → Latossolo Vermelho distrófico (testemunha), e +B refere-se aos mesmos solos tratados com biossólido. As profundidades variam de 0-60 cm onde: 0-10 cm → P1; 10-20 cm → P2, 20-40 cm → P3 e 40-60 cm → P4

A interpretação dos espectros de  $^{13}\text{C}$  NMR foram baseadas no conhecimento acumulado pela espectroscopia de  $^{13}\text{C}$  NMR em solos e AHs<sup>13-19</sup>.

A tabela 1 apresenta as áreas relativas das bandas nos espectros de  $^{13}\text{C}$  NMR das amostras de AH extraídas dos solos LVe e LVd, com ou sem à adição de biossólidos, em diferentes profundidades e do AH extraído do biossólido.

De modo geral, foram observados na região de C alifáticos (-CH<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>), entre 0-45 ppm, valores mais acentuados para o LVd em comparação com o LVe. Com isso, os maiores valores encontrados correspondem ao LVd+B/ P1 (32,6%) e LVd+B/ P2 (35,4%), amostras estas procedentes de solos de superfície (P1 → 0-10 e P2 → 10-20 cm), submetidas à adição de biossólidos.



**Figura 1:** Espectros de  $^{13}\text{C}$  NMR das amostras de AHs provenientes dos solos, LVe (a) e LVd (b), submetidos ou não à adição de biossólidos, nas profundidades de 0-10 cm → P1 e 10-20 cm → P2 e do AH extraído do biossólido (c).

Este aumento de C alifático durante a humificação pode ser explicado pelo enriquecimento de lipídeos extraíveis ou derivados biopoliméricos de plantas e biomacromoléculas alifáticas não saponificáveis da planta e origem microbiana, encontrados em maior concentração na superfície do solo.

Na região de aromáticos, entre 110-160 ppm, foram observados valores mais intensos para os AHs extraídos das amostras de solo, se comparados aos extraído do biossólido, conforme os valores da tabela 1. Foi observada diferença de até 50% para algumas amostras, o que explica a variação pouco significativa destes grupos aromáticos após a adição de biossólidos.

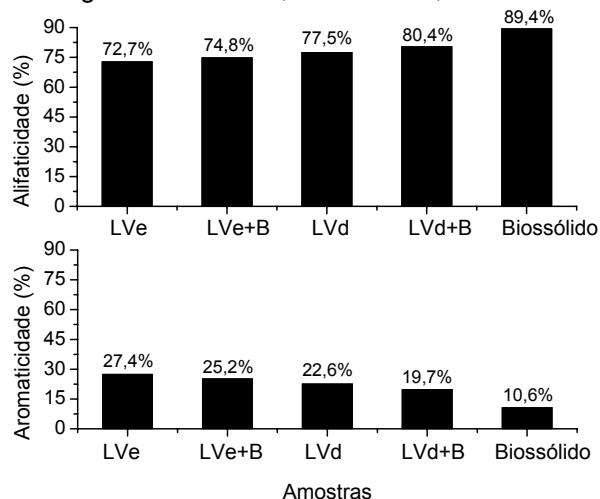
Observando a região entre 160-185 ppm, região esta que representa basicamente a ressonância do C carboxílico, detecta-se um pico bastante evidenciado na estrutura do AH extraído do biossólido, porém este se mantém constante, quando se analisam os AHs extraídos do solo.

As porcentagens de alifaticidade e aromaticidade (figura 2) foram calculadas a partir das áreas dos espectros, segundo a literatura<sup>13</sup>:

$$\text{Alifaticidade (\%)} = \frac{\text{Área do } ^{13}\text{C } 0-110 \text{ ppm}}{\text{Área total } 0-160 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\text{Aromaticidade (\%)} = \frac{\text{Área do } ^{13}\text{C } 110-160 \text{ ppm}}{\text{Área total } 0-160 \text{ ppm}} \times 100\%$$

Concordando com dados da literatura<sup>20</sup>, foi observado uma variação de 19,7 a 27,4% no grau de aromaticidade para os AHs extraídos dos solos. Entretanto, este é menos acentuado (10,6%) para o AH extraído do biossólido. Isto mostra que o AH do biossólido é menos humificado se comparado aos AHs dos solos, evidenciando, assim, a alta porcentagem de alifáticos, cerca de 89,4%.



**Figura 2:** Gráfico da Alifaticidade e Aromaticidade das amostras de AHs provenientes dos solos LVe e LVd submetidas ou não à adição de biossólidos, nas profundidades de 10-20 cm e do AH extraído do biossólido.

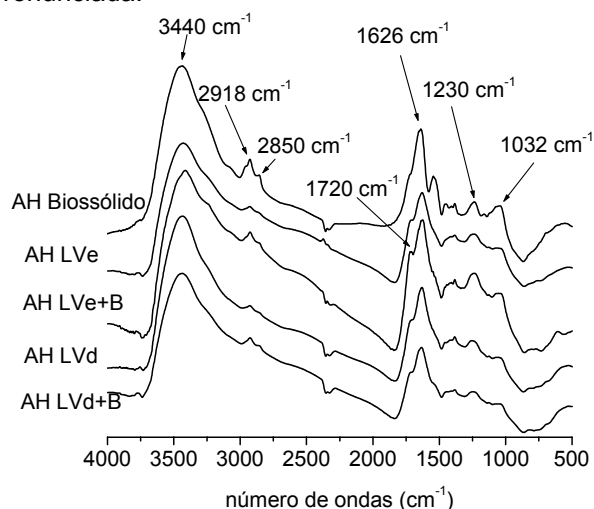
As medidas por FTIR foram realizadas segundo a literatura<sup>14</sup>, no espectrômetro de FTIR da Perkin-Elmer, modelo Spectrum 1000, pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos-SP. As pastilhas foram preparadas na proporção de 1:100, ou seja, 1 mg de amostra (AH) para cada 100 mg de KBr. Os espectros foram obtidos utilizando 64 varreduras no intervalo de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  com resolução espectral de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

A interpretação dos espectros de FTIR foram realizadas de acordo com trabalhos encontrados na literatura.<sup>1,21-25</sup>

Os espectros na região do infravermelho para os AHs isolados do biossólido e dos solos LVe e LVd, submetidos ou não à adição de biossólidos nas profundidades de 0-10 cm estão mostrados na figura 3.

Comparando as bandas apresentadas pelos AHs extraídos dos solos com as extraídas do biossólido, foi constatada a mesma tendência, porém algumas regiões são diversas para estes materiais.

Observando os espectros nota-se uma banda intensa e larga na região de alta frequência, entre 3600 a 3070  $\text{cm}^{-1}$ , atribuída a vibrações de estiramento O-H de H ligado a grupos OH e, possivelmente, estiramento N-H<sup>21</sup>, comprovando a presença abundante de grupos OH nos AHs, sendo que, no biossólido, esta apresenta-se mais pronunciada.



**Figura 3:** Espectros de FTIR das amostras de AHs provenientes dos solos, LVe e LVd, submetidos ou não à adição de biossólidos, na profundidade de 0-10 cm, e do AH extraído do biossólido.

A presença de uma banda de absorção característica de vibrações assimétricas de grupos metileno e metil na região de 2918 a 2925  $\text{cm}^{-1}$ , indica a presença de cadeias alifáticas em AHs, e comprova o baixo grau de humificação do AH extraído do biossólido<sup>1</sup>. Nota-se que esta banda é mais intensa no AH do biossólido e nos AHs extraídos dos solos tratados com biossólido se comparada às bandas dos AHs extraídos dos solos sem à adição. Isto indica um alto grau de

alifaticidade do AH extraído do biossólido. Estes resultados estão de acordo com o que foi observado por meio da espectroscopia de  $^{13}\text{C}$  NMR, onde o AH extraído do biossólido apresentou maior grau de alifaticidade (Figura 2). A presença de grupos C-H ( $\text{CH}_3$ ) pode ainda ser confirmada pela absorção em  $1456\text{ cm}^{-1}$  (deformação C-H dos  $-\text{CH}_2$  e  $-\text{CH}_3$ ). Na amostra do AH extraído do biossólido, é observada uma absorção adicional em  $2850\text{ cm}^{-1}$ . Essa absorção também é atribuída a C-H alifático, só que característico de grupos  $\text{CH}_2$ .

Também se observa uma banda de absorção em torno de  $1646$  a  $1635\text{ cm}^{-1}$ , que pode ser atribuída à presença do íon carboxilato (deformação axial assimétrica)<sup>1</sup>.

As absorções próximas de  $1700\text{ cm}^{-1}$  correspondem a vibrações de C=O de cetonas, quinonas e grupos  $\text{COOH}$ <sup>24</sup>. A conversão de  $\text{COOH}$  para  $\text{COO}^-$  leva à perda de absorção em  $1720\text{ cm}^{-1}$  (C=O de  $\text{COOH}$ ) e  $1230\text{ cm}^{-1}$  (estiramento C-O e deformação OH de  $\text{COOH}$ ). Isso ocorre de duas maneiras: quando se neutraliza o composto e (ou) se complexa com metal<sup>22</sup>. Provavelmente, no AH a complexação com metal é a mais provável, visto que estes são provenientes de latossolos, solos que apresentam alta concentração de  $\text{Fe}^{3+}$  e ainda de solos que receberam à adição de biossólidos. Esta perda da absorção foi evidenciada quando se analisa o espectro do AH extraído do biossólido, que apresenta uma concentração de metais acentuada, se comparada aos demais AHs extraídos dos solos que não receberam à adição de biossólido<sup>22</sup>.

Também está presente em todos os espectros um sinal de absorção na região de  $1030$  a  $1035\text{ cm}^{-1}$ , que pode ser atribuído à presença de carboidratos ou Si-O de impurezas silicatadas nos AHs. Os sinais mais intensos nas amostras de AH extraídas do LVd se encontram naquelas que receberam à adição de biossólido.

A absorção compreendida na região de  $500\text{ cm}^{-1}$  geralmente é atribuída à presença de impurezas minerais nas SH<sup>23</sup>.

## Conclusões

As técnicas espectroscópicas de  $^{13}\text{C}$  NMR e FTIR fornecem resultados significativos para o estudo das variações de grupamentos funcionais da MO devido à adição de biossólido aos solos LVe e LVd, porém estas diferenças são mais acentuadas nas amostras de 0-10 e 10-20 cm, visto que a aplicação e a incorporação do resíduo ocorreu na superfície do solo.

A partir da espectroscopia de  $^{13}\text{C}$  NMR, observou-se que à adição de biossólidos ao solo promove um

decréscimo na quantidade de C aromáticos e, conseqüentemente, diminuição do grau de aromaticidade e aumento do grau de alifaticidade. Esta diminuição do grau de aromaticidade pode ser atribuída à incorporação de compostos menos humificados procedentes dos biossólidos.

Através da espectroscopia de FTIR, observou-se no AH extraído do biossólido, banda intensiva na região de grupos metileno e metil, indicando o alto grau de alifaticidade do AH, de acordo com os resultados observados a partir da espectroscopia de  $^{13}\text{C}$  NMR.

## Agradecimentos

EMBRAPA-Instrumentação Agropecuária/ São Carlos-SP

USP-Instituto de Química de São Carlos-SP

UNESP-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ Jaboticabal-SP

<sup>1</sup> Canellas, L. P.; Santos, G. A.; Rumjanek, V. M.; Moraes, A. A.; Guridi, F. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **2001**, *36*, *12*, 1529-1538.

<sup>2</sup> Tsutya, M. T. In: Bettiol, W.; Camargo, O. A., eds. *Impacto Ambiental so Uso Agrícola do Lodo de Esgoto. Embrapa-Meio Ambiente*. **2000**, *69-105*.

<sup>3</sup> Melo, W. J.; Marques, M. O. In: Bettiol, W.; Camargo, O. A., eds. *Impacto Ambiental so Uso Agrícola do Lodo de Esgoto. Embrapa-Meio Ambiente*. **2000**, *109-141*.

<sup>4</sup> Silva, W. T. L.; Novaes, A. P.; Martin-Neto, L.; Milori, D. M. B. P.; Simões, M. L.; Haneda, R. N.; Fialho, L. L.; Leonelli, F. C. Comunicado Técnico-Embrapa, Dezembro **2004**, ISSN 15-18-7179 13.

<sup>5</sup> Andrade, C. A. *Tese (Doutorado), ESALQ-USP*. **2004**.

<sup>6</sup> Schnitzer, M.; Khan, S. U. *Soil Organic Matter. Amsterdam, Elsevier*. **1978**.

<sup>7</sup> Schulten, H. R.; Schnitzer, M. *Naturwissenschaften*. **1993**, *80*, 29-30.

<sup>8</sup> Piccolo, A.; Nardi, S.; Concheri, G. *1996. Europe Journal Soil Science*. **1996**, *47*, 319-328.

<sup>9</sup> Piccolo, A.; Nardi, S.; Concheri, G. *Chemosphere*. **1996**, *33*, 595-602.

<sup>10</sup> Piccolo, A. *Soil Science*. **2001**, *166*, 810-832.

<sup>11</sup> Bayer, C.; Martin-Neto, L.; Saab, S. C.; Mielniczuk, J. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*. **2000**, *24*, p.11-17.

<sup>12</sup> Canellas, L. P.; Santos, G. A.; Moraes, A. A.; Rumjanek, V. M.; Olivares, F. L. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, **2000**, *24*, 741-750.

<sup>13</sup> Preston, C. M. *Soil Science*. **1996**, *161*, 44-165.

<sup>14</sup> Stevenson, F. J. *Humus chemistry: genesis, composition, reaction*. **1994**, Wiley, New York: John. 496p.

<sup>15</sup> Knicker, H. *Journal Environmental Qual*. **2000**, *29*, 715-723.

<sup>16</sup> Wilson, M. A. *Journal of Soil Science*, **1984**, *35*, p.209-215.

<sup>17</sup> Schnitzer, M.; Preston, C. M. *Soil Science Society of America Journal*, **1996**, *50*, p.326-331.

<sup>18</sup> Köbel-Knaber, I. *Geoderma*, **1997**, *80*, p.243-270.

<sup>19</sup> Schulten, H. R.; Schnitzer, M. *Soil Science*. **1997**, *162*, *2*, p.115-130.

<sup>20</sup> Gonzáles-Pérez, M.; Martin-Neto, L.; Saab, S. C.; Novotny, E. H.; Milori, D. M. B. P.; Bagnato, V. S.; Colnago, L. A.; Melo, W. J.; Knicker, H. *Geoderma*. **2004**, *118*, 181-190.

<sup>21</sup> Nakanishi, K. Tokyo: Nankondo, **1962**, 233p.

<sup>22</sup> Piccolo, A.; Stevenson, F. J. *Geoderma*. **1982**, *27*, p. 195-208.

<sup>23</sup> Bloom, P. R.; Leenheer, J. A. II. In search of structure. New York: J: Wiley, **1989**, p.410-446.

<sup>24</sup> Silverstein, R. M.; Bassler, G.; Morrill, T. C. Guanabara-Koogan, **1994**, 387p.

<sup>25</sup> Polak, J.; Sulkowski, W. W.; Bartoszek, M.; Papiez, W. *Journal of Molecular Structure*, **2005**, *P*. 983-989.



## Avaliação do processo de compostagem de resíduos orgânicos por fluorescência

Lucimar L. Fialho<sup>1,2</sup> (PG)\*, Débora M. B. P. Milori<sup>1</sup> (PQ), Wilson T. L. Silva<sup>1</sup> (PQ), Mariana L. de Calais<sup>1,3</sup> (IC), Ladislau M. Neto<sup>1</sup> (PQ)

1 Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos – SP,

2 Instituto de Química de São Carlos – USP, São Carlos – SP (Bolsista Fapesp)

3 Universidade Federal de São Carlos - UFSCar, São Carlos – SP.

\*e-mail: lucimar@cnpdia.embrapa.br

Palavras Chave: Compostagem, Resíduos Orgânicos, Fluorescência

### Introdução

As atividades agrícola e industrial são responsáveis pela geração de grandes quantidades de resíduos orgânicos. Uma forma considerada eficiente para o tratamento desses resíduos é a compostagem<sup>1</sup>. Este é um processo de oxidação aeróbia e exotérmica da matéria orgânica, onde há liberação de CO<sub>2</sub> e minerais com a formação de matéria orgânica estável (substâncias húmicas).

É fundamental que se acompanhe este processo de humificação identificando o período a partir do qual o composto pode ser considerado humificado, pois de outra forma se aplicado “imaturado” ao solo pode gerar alta concentração de CO<sub>2</sub> e baixos níveis de O<sub>2</sub> levando à condições anaeróbias e redutoras no solo. A intensa atividade microbiana também pode promover a degradação da matéria orgânica inerente ao solo. Outro problema é que o N inorgânico pode ser incorporado às células microbianas tornando-se temporariamente indisponível para as plantas<sup>2,3</sup>.

Há muitos métodos propostos para avaliar a maturidade e estabilidade de um composto<sup>4</sup>, mas ainda não existe um consenso sobre um método que possa ser empregado. Esta dificuldade está baseada na grande variedade de resíduos e na diversidade de condições do processo de compostagem. Vários autores têm concluído que usar apenas um parâmetro como índice de maturidade não é suficiente e que o cruzamento de várias técnicas é necessário para compreensão deste processo<sup>5</sup>.

O objetivo deste trabalho é determinar um índice de estabilização de compostos baseado na emissão de fluorescência no modo de varredura sincronizada.

Para validar a metodologia estão sendo avaliados compostos obtidos de mistura de diferentes resíduos orgânicos, com amostras coletadas em diferentes tempos de compostagem. Para efeito de comparação outros parâmetros como, temperatura no interior das leiras, pH e relação C/N estão sendo avaliados.

Os resultados obtidos mostram uma boa relação entre os parâmetros avaliados até o momento.

### Resultados e Discussão

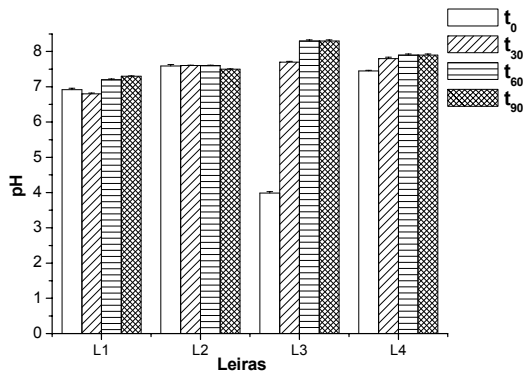
Foram montadas 4 Leiras (L), de aproximadamente 3,6 m<sup>3</sup> com diferentes resíduos. L1 apenas Poda de Árvore, L2 mistura de Poda de Árvore e Esterco Bovino Fresco, L3 mistura de Poda de Árvore e Bagaço de Laranja e L4 mistura de Poda de Árvore e Torta de Filtro (resíduo de usina de cana de açúcar). As proporções dos resíduos nas misturas foram feitas objetivando iniciar a compostagem com relação C/N, aproximadamente, 35:1 e a umidade foi mantida na faixa de 50 a 65%. A caracterização dos resíduos é apresentada na Tabela 1. Foi feito monitoramento diário da temperatura e as Leiras foram revolvidas no intervalo de 5 a 7 dias durante a fase termofílica.

Tabela 1. Caracterização dos resíduos

Resíduos	Umidade (%) a 65° C	pH	C (%)	N (%)	C/N
Poda de Árvore	63	6,9	40,36	0,42	112
Esterco Bovino Fresco	74	8,0	42,40	1,31	38
Bagaço de Laranja	79	3,7	46,30	1,06	51
Torta de Filtro	72	6,7	40,40	2,18	22

A temperatura no interior da Leira 1 ficou em torno de 35 °C durante todo o processo, enquanto que nas Leiras 2, 3 e 4, na fase termofílica, alcançaram a faixa de 60, 55 e 60 °C, respectivamente, e retornaram à fase mesofílica após, cerca de, 95 dias de compostagem.

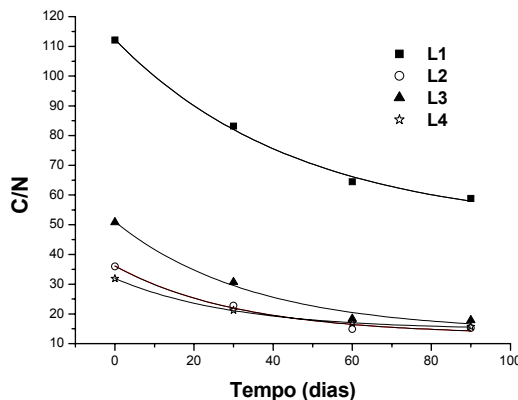
A mistura dos resíduos na Leira 3 apresentou pH =4 no início do processo, mas a partir de 60 dias de compostagem todos os compostos apresentaram pH acima de 7,0 (Figura 1), como é esperado em material humificado<sup>6</sup>.



**Figura 1.** Variação do pH (em  $\text{CaCl}_2$ ) nas Leiras em função do tempo de compostagem.

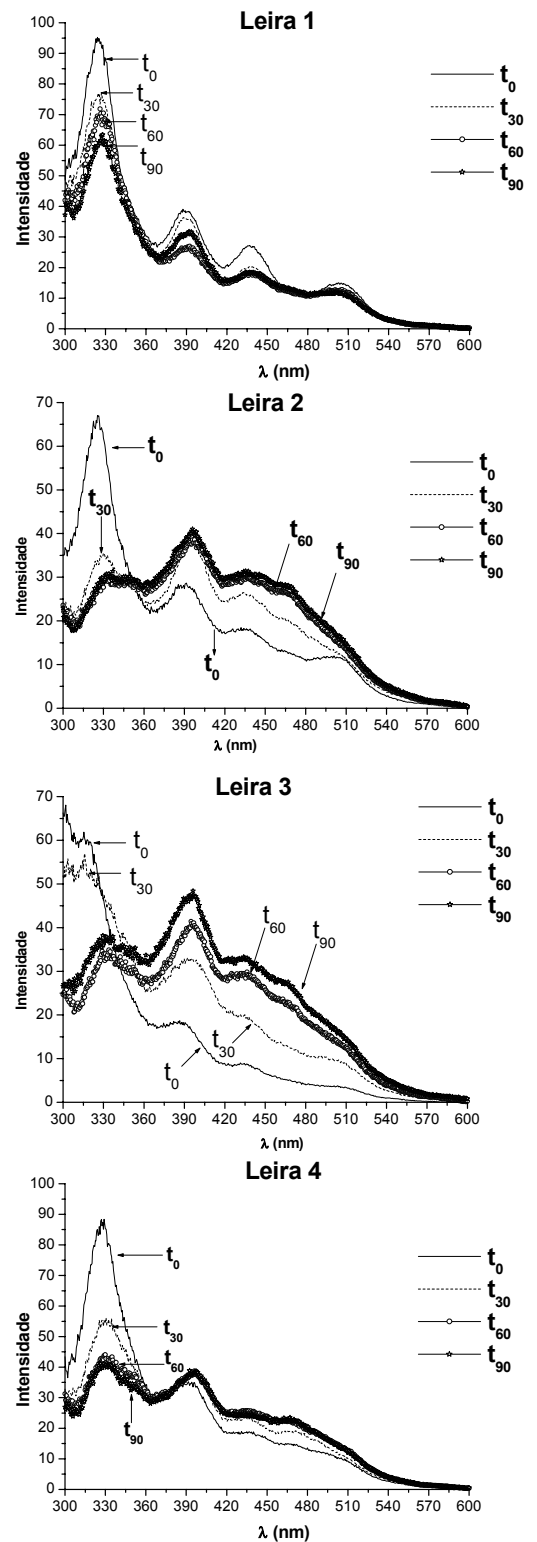
Os compostos apresentaram diminuição significativa da relação C/N em função do tempo (Figura 2). Observa-se que na Leira 1 houve redução da relação C/N, porém após 90 dias de compostagem o valor ainda permanece alto ( $\approx 60:1$ ), enquanto que nas Leiras 2, 3 e 4, neste mesmo tempo, esta relação ficou na faixa de 15 a 18:1.

A redução da relação C/N é resultado da ação dos microrganismos sobre os materiais compostados. Quando esta relação fica próxima de 15:1 o material tende à estabilização<sup>6</sup>. Observa-se que nas Leiras 2, 3 e 4 com 60 dias de compostagem há uma tendência na estabilização desta relação, sugerindo evolução no processo de humificação dos compostos, fato que não é observado na Leira 1 (a C/N ainda está muito alta).



**Figura 2.** Variação da relação C/N nas Leiras em função do tempo de compostagem.

Observa-se na Figura 3 os espectros de fluorescência (varredura sincronizada) do material extraído de acordo com a metodologia de extração de ácidos húmicos, recomendada pela IHSS. Foi realizada a extração dos diferentes materiais nos 4 tempos de compostagem.



**Figura 3.** Espectros de fluorescência no modo de varredura sincronizada ( $\Delta\lambda = 20 \text{ nm}$ ) de soluções de  $20 \text{ mg L}^{-1}$  do material extraído de amostras com 0, 30, 60 e 90 dias de compostagem.

No início da compostagem ( $t_0$ ) há 4 bandas de fluorescência nos espectros. No decorrer do processo há variação na intensidade dessas bandas. Baseado nestas variações foi proposto um índice de estabilização dos compostos:  $I_{325/390}$ . Este

índice relaciona a intensidade da banda em 325 e 390 nm nos diferentes tempos de compostagem (Tabela 2).

As curvas da variação de I em função do tempo para as 4 Leiras são mostradas na Figura 4.

**Tabela 2.** Índice de estabilização dos compostos

Tempo (dias)	I <sub>325/390</sub>			
	L1	L2	L3	L4
0	2,48	2,38	3,03	2,44
30	2,31	0,93	1,56	1,43
60	2,14	0,73	0,79	1,09
90	2,26	0,74	0,74	1,11

A variação do índice I<sub>325/390</sub> em função do tempo de compostagem, dos materiais extraídos das Leiras 2, 3 e 4 obedece uma equação de decaimento exponencial de primeira ordem do tipo:

$$Y = y_0 + A_1 e^{-t/\tau} \quad (1)$$

onde: y<sub>0</sub> é o valor do índice quando o material está estabilizado,

(y<sub>0</sub> + A<sub>1</sub>) é o índice em t = 0 e

τ é o tempo característico do decaimento.

A variação do índice para a Leira 1 não se ajusta a este tipo de equação, pois aparentemente não houveram mudanças significativas em função do período avaliado.

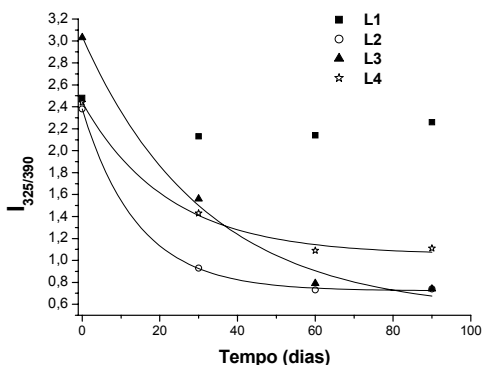
**Tabela 3.** Valores dos parâmetros da equação 1

Leiras	y <sub>0</sub>	A <sub>1</sub>	τ
L1	-	-	-
L2	0,7	1,7	14,3
L3	0,5	2,5	31,6
L4	1,1	1,4	22,1

Os valores de I<sub>325/390</sub> diminuem com o tempo de compostagem tendendo a um valor constante. Este comportamento pode ser associado à extensiva mineralização sofrida pela matéria orgânica durante o processo de compostagem<sup>3</sup>. A humificação do material tende a gerar moléculas mais condensadas, que apresentam emissão de fluorescência mais intensa em maiores comprimentos de onda (390 nm). Espera-se até o final do experimento que este índice proposto (I<sub>325/390</sub>) possa ser utilizado para prever a partir de

que tempo de compostagem o material pode ser considerado humificado.

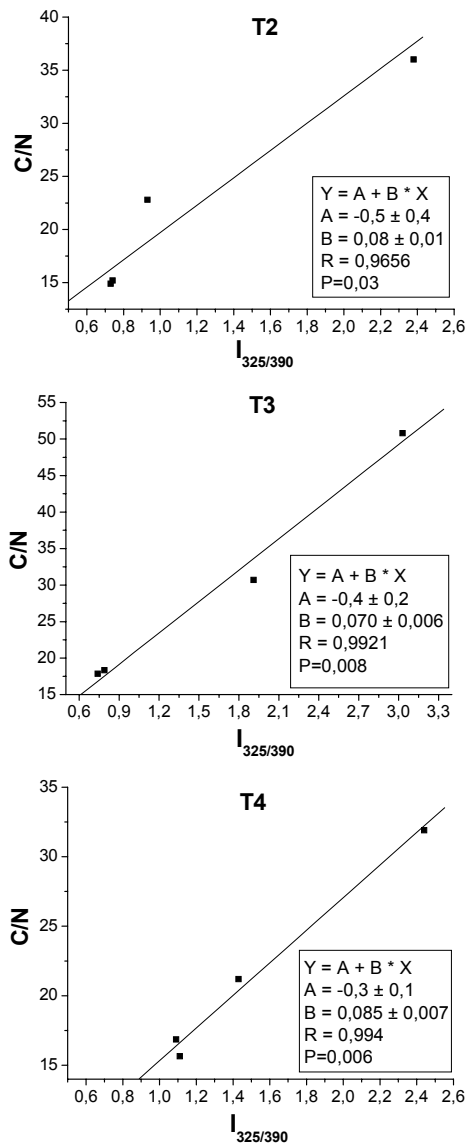
A partir da Tabela 3 pode-se, através da análise comparativa dos tempos característicos das curvas de decaimento (τ), avaliar qual mistura de resíduos tende a atingir a humificação em um menor período de compostagem.



**Figura 4.** Curvas de decaimento do índice (I<sub>325/390</sub>) em função do tempo de compostagem.

Para Leira 1 não foi possível determinar o tempo característico pois não houve variação significativa no índice. O composto produzido não pode ser considerado um material humificado, o que é comprovado pela alta relação C/N e pela ausência da fase termofílica durante o processo de compostagem. Já a Leira 2 apresentou o menor tempo característico indicando que a adição de esterco bovino foi a mais eficiente entre os tratamentos avaliados.

Houve uma correlação muito boa entre o índice proposto (I<sub>325/390</sub>) e a relação C/N para as Leiras 2, 3 e 4, como pode ser observado pelas curvas da Figura 5.



**Figura 5.** Correlação entre a relação C/N e o índice  $I_{325/390}$ .

## Conclusões

A técnica de emissão de fluorescência de varredura sincronizada pode ser utilizada para acompanhar as transformações da matéria orgânica durante o processo de compostagem.

O índice  $I_{325/390}$ , proposto neste trabalho, apresenta potencial para ser utilizado como parâmetro de humificação de diferentes resíduos em compostagem. A variação deste índice correlaciona-se bem com a variação de outros parâmetros indicativos do processo de compostagem (temperatura e relação C/N).

O tempo característico das curvas obtidas para a variação deste índice em função do tempo é um parâmetro indicativo da eficiência de uma dada mistura de resíduos para o processo de compostagem.

## Agradecimentos

Apoio Financeiro da Fapesp (Processo. nº 03/06097-4) e Embrapa (02.02.2.13.00.07)

<sup>1</sup> Sánchez-Monedero, M. A.; Cegarra, J.; García, D.; Roig, A. *Biodegradation*. **2002**, 13, 361-371.

<sup>2</sup> Bernal, M. P.; Sánchez-Monedero, M. A.; Paredes, C.; Roig, A. *Agriculture Ecosystems and Environment*. **1998a**, 69, 175-189.

<sup>3</sup> Provenzano, M. R.; Oliveira, S. C.; Silva, M. R. S.; Senesi, N. *J. Agric. Food. Chem.* **2001**, 49, 5874-5879.

<sup>4</sup> Bernal, M. P.; Paredes, C.; Sánchez-Monedero, M. A.; Cegarra, J. *Bioresource Technology*. **1998b**, 63, 91-99.

<sup>5</sup> Hsu, JH; LO, SL. *Environmental Pollution*. **1999**, 104, 189-196.

<sup>6</sup> Kiehl, E. J. *Manual de Compostagem: maturação e qualidade do composto*. Piracicaba. **1998**, 172 p.

## 3D-fluorescence spectroscopic analysis of HPLC fractionated estuarine fulvic and humic acids

Marcelo Giovanela<sup>1\*</sup> (PQ), Andréia Neves Fernandes<sup>2</sup> (PG), Luciano Tormen<sup>2</sup> (IC), Maria Marta de Souza Sierra<sup>2</sup> (PQ)

<sup>1</sup> Departamento de Física e Química (DEFQ), Centro de Ciências Exatas e Tecnologia (CCET), Universidade de Caxias do Sul (UCS), Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, Secretaria do Bloco V, Bairro Petrópolis, 95070-560 Caxias do Sul – RS.

<sup>2</sup> Departamento de Química (DQ), Centro de Ciências Físicas e Matemáticas (CFM), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Campus Universitário, Bairro Trindade, 88040-900 Florianópolis – SC.

\*e-mail: mgiovan1@ucs.br

Palavras Chave: estuarine humic substances, HPLC, three-dimensional fluorescence spectroscopy.

### Introdução

Humic substances (HS) are natural macromolecular products resulting from the chemical and biological degradation of plant and animal residues. They are widely distributed in soils, natural waters, and sediments, and represent a significant proportion of the organic carbon in the global carbon cycle.<sup>1</sup> According to current estimates, HS constitute the major fraction of soil organic matter (up to 80 %) and the largest fraction of natural organic matter (NOM) in aquatic systems (up to 60 % of dissolved organic carbon).<sup>2</sup> These organic materials can have a substantial impact on a variety of biogeochemical processes, for example, immobilizing anthropogenic organic chemicals and heavy metals.<sup>3</sup>

The elucidation of the HS molecular sizes, shapes, weights and structural arrangements is essential for an adequate understanding of their varied role in such environmental processes. This has led to increasing efforts toward the characterization of these compounds and as a result, a variety of spectroscopic and separation techniques have been used. Among the various separation methods proposed for HS characterization, molecular size fractionation by high performance size exclusion chromatography (HPSEC) and reversed-phase high

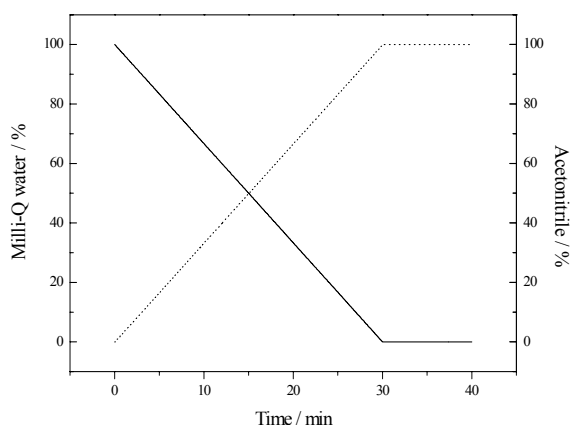
performance liquid chromatography (RP-HPLC), have been the most employed. HPSEC reveals molecular size distributions as well as number- and weight-averaged HS molecular weights.<sup>4</sup> Using HPLC, HS can be separated into fractions of compounds with a multicomponent nature with polarity as a common characteristic.<sup>5</sup> In general, UV absorbance, and/or fluorescence spectroscopy have been the preferred detection methods. Recently, HPSEC with UV absorbance and fluorescence spectroscopy plus on-line dissolved organic carbon (DOC) detection has been used to characterize NOM as a function of molecular size.<sup>6</sup>

Although, generally, these studies demonstrate how difficult it is to isolate individual compounds, they have significantly contributed to an understanding of the complex nature of HS.

In this work, we report a comparative study of the fluorescence properties of estuarine fulvic (FA) and humic acids (HA) before and after RP-HPLC fractionation, using three-dimensional excitation-emission matrix (EEM) fluorescence spectroscopy. EEM produces fluorescence spectra at many different excitation wavelengths providing an overall view of all features existing within a selected spectral range. This technique has, since 1990, satisfactorily been used to investigate water masses in natural environments but reports on its utilization in NOM and HS fractionation studies have only recently appeared in the literature.<sup>7</sup> Briefly, Parlanti *et al.*<sup>8</sup> have shown that the detailed off-line analysis of EEM fluorescence diagrams of NOM fractions allows the differentiation between marine and fresh water samples and Wu *et al.*<sup>7</sup>, with on-line EEM fluorescence detection, found strong relationships between molecular size, fluorescence pattern and polarity for both NOM and HS, with the humic, fulvic and protein-like fluorescence fractions presenting distinct hydrophilic/hydrophobic natures.<sup>8</sup> In this study, HS were fractionated, with a polymeric C18 as the stationary phase, using a polarity gradient from pure water to pure acetonitrile, and a fluorescence detector.

Fulvic (FA) and humic acids (HA) were extracted via the method recommended by the International Humic Substances Society. The FA and the HA were fractionated in a polarity gradient from pure water to pure acetonitrile, using a fluorescence detector (**Fig. 1**). Excitation and emission wavelengths were 320 nm and 440 nm, respectively. Chromatographic fractions (twelve for FA and eleven for HA) were collected and investigated by way of EEM fluorescence spectroscopy. Spectral ranges were 150 to 420 nm for excitation and 260 to 640 nm for emission.

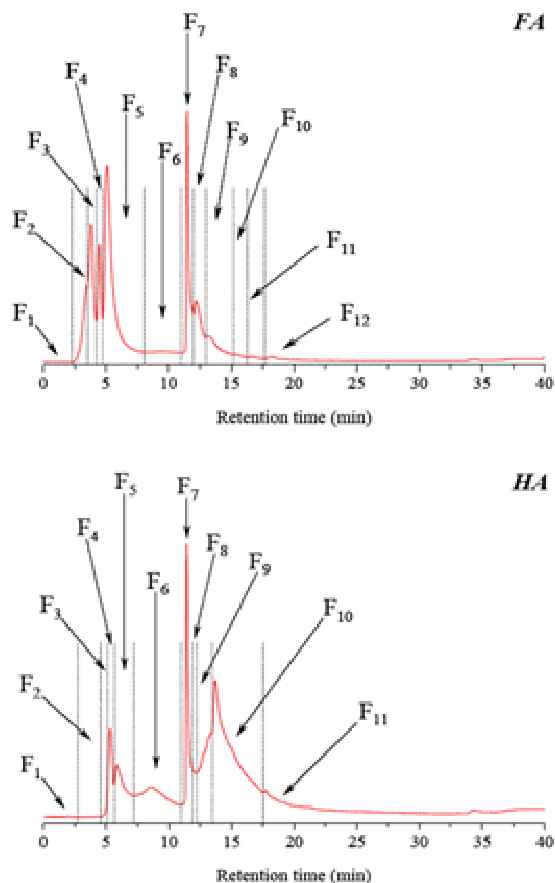




**Figure 1.** Gradient program for HS fractionation. (—) Milli-Q water, (---) acetonitrile.

## Resultados e Discussão

Two main regions are distinguished in all chromatograms: the first one in the 3 to 7 min retention time range and the other, between 12 and 15 min (Fig. 2).

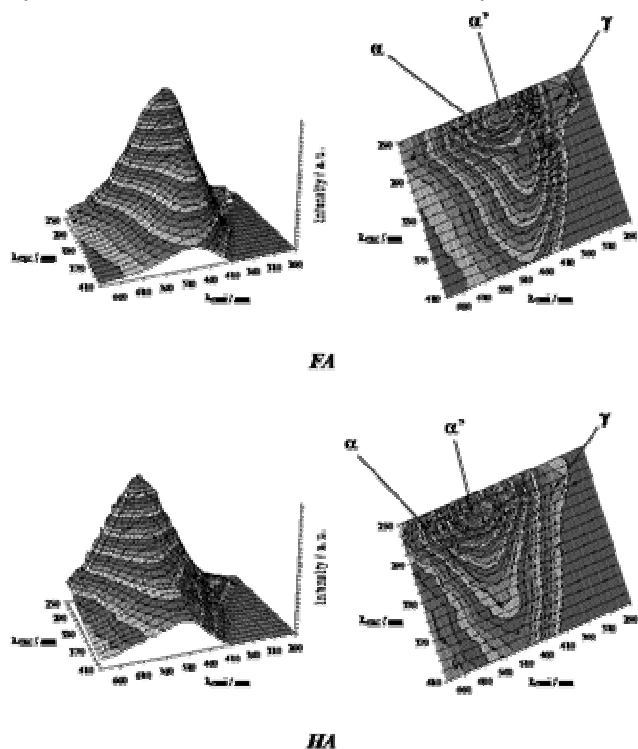


**Figure 2.** HPLC peaks for the estuarine HS obtained with a fluorescence detector ( $\lambda_{exc} = 320 \text{ nm} / \lambda_{emi} = 440 \text{ nm}$ ).

For FA, within the 2.5 to 7 min retention time (more hydrophilic components) three to four peaks are evidenced. Around a retention time of 12 min (more hydrophobic components), an intense and thin peak superposed to one or two little signals can

be seen. After 15 min retention time (50% acetonitrile) no more fluorescence signal emerges. For HA, the first chromatographic signal is seen only after a retention time of 5 min indicating that even though its more hydrophilic components are less hydrophilic than those in FA. Also, in the lower retention time range the fluorescence signals are weaker than those in FA chromatograms and only two superposed peaks are distinguished. Unlike for FA, for all HA, a broad peak appears above 13 min (more hydrophobic components). Fluorescent components are detected until at around 20 min retention time (60% acetonitrile). Differences between FA and HA chromatograms point to a higher incidence of hydrophilic components in the former, and a higher incidence of hydrophobic components in the latter.

The general shapes of the excitation/emission matrix (EEM) fluorescence diagrams of most fractions (Fig. 4 and 5) are similar to those of the bulk samples (Fig. 3) indicating that in spite of their distinct polarities the complexity and the main spectral characteristics of the materials persists.



**Figure 3.** Topographic and contour EEM plots for the estuarine FA and HA bulk sample aqueous solutions ( $4 \text{ mg L}^{-1}$ ).

The  $\gamma$  peak (protein-derived compounds) is better distinguished in the fractions than in the bulk samples 3D-diagrams for both, FA and HA. The appearance of this peak is related to the incidence of freshly released material of biological origin.<sup>8</sup> The occurrence of the  $\gamma$  peak in all fractions indicates that such proteinaceous moieties take part of the humic building blocks structures and are not solely associated.

## Conclusões

Fractionation of FA and HA through a polarity gradient from pure water to pure acetonitrile with fluorescence detection and EEM fluorescence spectroscopy analysis revealed that both, FA and HA mixtures contain a pool of components of varied polarity. For FA and HA, all components are completely eluted with solutions of high to medium polarity, the HA components being slightly more hydrophobic (60 % acetonitrile to achieve total elution) than the FA components (50 % acetonitrile to achieve total elution). Contrary to the bulk solutions, fluorescence signals of the FA and HA fractions are basically identical, indicating that a primary group of fluorophores is at the origin of the fluorescence properties of both kinds of HS. These fluorophores are present in most of the fractions regardless of their degree of polarity. A bathochromic shift of the bulk solutions (mainly in HA) relative to the fraction emissions is attributed to a greater proximity of these fluorophores. For HA such proximity might be enhanced by the formation of aggregates with hydrophobic interiors.

## Agradecimentos

This work was supported by the Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq, Brazil), the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) and the Conseil National de la Recherche Scientifique (CNRS, France).

<sup>1</sup> Allard, B.; Boren, H.; Grimvall, A. In *Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial Environment*; Springer-Verlag: Berlin, **1991**.

<sup>2</sup> Stevenson, F.J. In *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*, John Wiley & Sons: New York, **1994**.

Curtis, M. D.; Shiu, K.; Butler, W. M. e Huffmann, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3335.

<sup>3</sup> Rocha, J.C.; Toscano, I.A.S.; Cardoso, A.A.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1997**, *8*, 239.

<sup>4</sup> Dutta, M.; Góra, R.J.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1012*, 67.

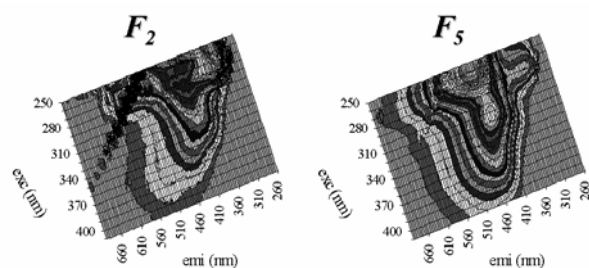
<sup>5</sup> Egeberg, P.K.; Alberts, J.A.; *Water Res.* **2002**, *36*, 4997.

<sup>6</sup> Her, N.; Amy, G.; Foss, D.; Cho, J.; Yoon, Y.; Kosenka, P.; *Environ. Sci. Technol.* **2002**, *36*, 1069.

<sup>7</sup> Wu, F.C.; Evans, R.D.; Dillon, P.J.; *Environ. Sci. Technol.* **2003**, *37*, 3687.

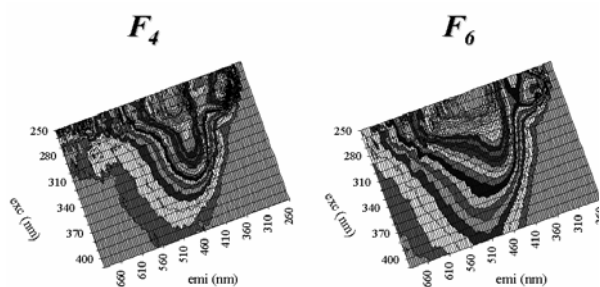
Curtis, M. D.; Shiu, K.; Butler, W. M. e Huffmann, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3335.

<sup>8</sup> Parlanti, E.; Morin, B.; Vacher, L.; *Org. Chem.* **2002**, *33*, 221.



**Figure 4.** Contour EEM plots for two estuarine FA chromatographic fractions.

The  $\alpha$  peak has been associated with terrestrial contributions as well as to degradation products of marine origin.<sup>8</sup> For natural waters, the  $\alpha'/\alpha$  ratio has been employed to distinguish between fluorescent OM from terrestrial and marine environments with the highest values being measured in open-sea waters due to the reduced contribution of the  $\alpha$  fluorophores in these environments. In the fractions, the  $\alpha$  peak increases in importance as the elution solution becomes less hydrophilic. In fact, as the polarity decreases more hydrophobic (unsaturated) components comes out raising the  $\alpha$  peak region.



**Figure 5.** Contour EEM plots for two estuarine HA chromatographic fractions.

The set of results reinforce recent concepts on HS mixtures according to which, they consist of assemblages of building blocks, with similar structural features. Such fragments, of medium molecular weight, can separate and/or rebuild during the fractionation process.

## Avaliação das características químicas de substâncias húmicas isoladas durante a vermicompostagem

Glaucia R. Gonzaga\*<sup>(1)</sup> (IC), Luciano P. Canellas<sup>(2)</sup> (PQ)

(1) Bolsista de Iniciação Científica do Laboratório de Solos – CCTA (Centro de Ciências Tecnológicas e Agropecuárias) – UENF (Universidade Estadual do Norte Fluminense) – Av. Alberto Lamego, 2000 - Parque Califórnia - Campos dos Goytacazes, R.J. CEP: 28015 – 620. (2) Professor-Orientador do Laboratório de Solos da UENF. \*e-mail: ggonzaga@uenf.br

Palavras Chave: substâncias húmicas, vermicompostagem, caracterização.

### Introdução

As Substâncias Húmicas (SH) originaram-se da degradação química e biológica de resíduos orgânicos (animais e vegetais) e da atividade sintética da biota do solo. Os produtos então formados associam-se em estruturas químicas complexas, atingindo maior estabilidade do que os materiais que o originaram, bem como apresentam estrutura e natureza particulares.

De acordo com os critérios empregados nos métodos convencionais de extração, o material húmico do solo pode ser separado em: ácidos fúlvicos (AF), solúveis em meio alcalino e ácido diluído; ácidos húmicos (AH), solúveis em meio alcalino e insolúveis em meio ácido diluído; humina, resíduo insolúvel em meio alcalino e em meio ácido. As substâncias húmicas são constituídas de uma série de compostos de coloração escura, de elevado peso molecular e separadas com base em características da solubilidade (9).

As diversas frações das substâncias húmicas extraídas com base nas características de solubilidade fazem parte de uma mistura heterogênea de moléculas polimerizadas, com massa molecular variável entre algumas centenas e 300.000 (9). Outras características, como composição química, número de grupamentos acídicos funcionais, grau de polimerização e razão de absorvância ( $E_4/E_6$ ), estão também envolvidas na separação dessas substâncias.

O vermicomposto, produto da ação de minhocas sobre o composto de resíduo orgânico, tem se mostrado uma alternativa viável para a adubação orgânica. Tem sido observado que AH de vermicomposto tem grande efeito sobre o metabolismo das plantas, notadamente, aumentando a síntese de  $H^+$ -ATPase de membrana plasmática (3).

As pilhas de vermicomposto foram construídas utilizando-se esterco de curral e torta de filtro e forma instaladas em fevereiro de 2004. Após 45 dias de compostagem foram inoculadas minhocas Californianas vermelhas nas pilhas, na razão de 0,5 kg de minhoca/m<sup>2</sup> de pilha. Foram coletadas amostras aos 0, 30, 60 e 90 dias após a instalação da pilha.

A extração das SH foi realizada de acordo com o recomendado pela International Society of Humic Substances com uso de NaOH 0,1 mol/L, numa relação resíduo:extrator de 1:7,5 e separação dos AH por acidificação do meio até pH 1,0-1,5 com HCl 6 mol/L. O conteúdo de AH foi avaliado a partir da análise de carbono por dicromatometria. Os AH foram caracterizados através da análise de acidez total, carboxílica e fenólica, de acordo Schnitzer & Gupta (1965).

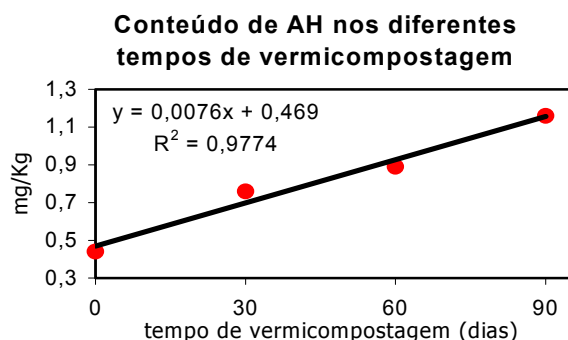
As medidas espectroscópicas foram realizadas na região do UV-VIS para obter-se a relação  $E_4/E_6$ . A relação  $E_4/E_6$  através da razão da absorvância de uma solução de AH (4 mg em 10 mL de NaHCO<sub>3</sub> 0,05 mol L<sup>-1</sup>) foi medida em comprimento de onda de 465 nm e 665 nm, num espectrofotômetro Hitachi U II.

Num espectrofotômetro de infravermelho, a percentagem de radiação transmitida pela amostra num intervalo de comprimento de onda de 2,5 a 25  $\mu$ m (infravermelho fundamental, número de onda de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>) é registrada, resultando num espectro contínuo de bandas de absorção. Está também relacionada com a transmitância em função do número de onda. Foi realizada a análise no estado sólido, em discos transparentes de brometo de potássio (KBr).

### Materiais e Métodos

O experimento foi realizado na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, no município de Campos dos Goytacazes no período de fevereiro a junho de 2004.

## Resultados e Discussão



**Figura 1.** Gráfico relativo ao conteúdo de AH nos diferentes tempos de vermicompostagem.

**Tabela 1.** Conteúdo de AH nos diferentes tempos de vermicompostagem.

Vermicomposto	0 dia	30 dias	60 dias	90 dias
	<b>g C AH.kg<sup>-1</sup> vermicomposto</b>			
<b>Repetição 1 (pilha 1)</b>	4,6 ± 0,05	7,4 ± 0,25	8,9 ± 0,25	12,4 ± 0,50
<b>Repetição 2 (pilha 2)</b>	4,2 ± 0,05	7,8 ± 1,11	9,0 ± 0,05	10,8 ± 0,40
<b>média</b>	4,4 ± 0,05	7,6 ± 0,68	8,9 ± 0,15	11,6 ± 0,45

**Tabela 2.** Resultados de três tipos de acidez nos diferentes tempos de vermicompostagem.

### RESULTADOS DE ACIDEZ

	Acidez Total	Acidez Carboxílica	Acidez Fenólica
	<i>cmol<sub>c</sub> / g M.O</i>		
<b>0 dias</b>	517	110	417
<b>30 dias</b>	567	145	422
<b>60 dias</b>	450	145	305
<b>90 dias</b>	500	180	320

Observando a Tabela 2, pode-se observar que: é possível considerar que a acidez total permanece na mesma faixa durante todo o processo, sem alteração significativa no valor obtido para acidez total; no entanto, é possível observar uma variação nos grupamentos ácidos, com aumento em 63% na acidez carboxílica, em relação à fenólica com o aumento do tempo de vermicompostagem; foi observado também o decréscimo em 76% na acidez fenólica, em relação à carboxílica, com o aumento do tempo de vermicompostagem.

A relação E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> obtida através da razão entre a absorbância em 465 nm e 665 nm é uma medida indireta da distribuição da massa/tamanho moleculares das substâncias húmicas. Os valores

dessa relação variaram de acordo com a tabela que segue:

**Tabela 3.** Resultados da relação E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> obtidos nos diferentes tempos de vermicompostagem.

Tempo de vermicompostagem	E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub>
0 dias	7,52
30 dias	4,85
60 dias	3,11
90 dias	1,96

Valores maiores de E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub>, que indicam menor grau de condensação, são obtidos, por exemplo, pelos AF, que possuem a coloração mais clara que a coloração apresentada pelos AHs (que, conseqüentemente, apresentam menores valores na relação E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub>).

**Tabela 4.** Relação entre as bandas de absorção (cm<sup>-1</sup>) encontradas em cada fase de vermicompostagem e o grupo funcional correspondente.

Tempo de Vermicompostagem				grupo funcional característico
0 dias	30 dias	60 dias	90 dias	
3784,4	3786	3699	3780	OH / NH (livres)
3697,3	3698	3623	3698	OH / NH (livres)
3417,0	3414	3438	3622 / 3416	OH em ponte
2923,7	2923	2924	2923	CH <sub>3</sub>
2853,8	2854	2854	2854	CH <sub>2</sub>
1723,1	1723	1723	1723	C=O
1658,8	1661	1662	1660	COO- Quinonas, C=O onjugado
1638,5				
1600,0				
1507,9	1509	-	1509	C=H
1460,5	1459	1461	1460	S
1423,1	1423	1426	1423	fenol
1330,0	1332	-	1331	COO-
1227,4	1229	1238	1229	
1122,1	1089	1092	1091	C-OH
1033,8	1033	1035	1034	C-O
915,0	913	910	912	-

## Conclusões

Conclui-se que a evolução do tempo de vermicompostagem proporciona mudanças na composição dos ácidos húmicos. Estas mudanças puderam ser observadas através de análises espectroscópicas, como UV e IV, e de análises químicas, como a determinação da concentração do C e a acidez do material húmico. Conclui-se também que o tempo de vermicompostagem aumenta gradativamente, e de forma favorável, a concentração de C no vermicomposto.

A espectroscopia de IV (Infra-vermelho) foi realizada para comprovar de forma inequívoca possíveis modificações da estrutura dos AH com tempo de compostagem. Foi possível observar que além dos grupamentos funcionais característicos, como hidroxilas, aminas, carbonilas, há a diferenciação na estrutura das substâncias húmicas mostrando a ocorrência de mudanças na composição dos AHs com a evolução do tempo vermicompostagem.

### Agradecimentos

Agradeço a Instituição UENF e ao CNPq pelo incentivo e pela bolsa disponibilizada e ao CNPq e à FAPERJ pelo apoio financeiro.

<sup>1</sup> Allison, L.E. Organic carbon. In: Black, C.A. (Ed.) *Methods of soil analysis*. Madison: ASA/SSSA, 1965.

<sup>2</sup> Bayer, C. *Dinâmica da material orgânica em sistemas de manejo de solos*. Porto Alegre: UFRGS, 1996. 24f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996.

<sup>3</sup> Canellas, L.P.; N.M. Amaral Sobrinho; Santos, G.A. reações da matéria orgânica. Santos, G.A.; Camargo, F.A.O. (Eds.) *Fundamentos da*

*matéria orgânica: ecossistemas tropicais e subtropicais*. Porto Alegre: Gênese, 1999.

<sup>4</sup> DALAL, R.C.; MAYER, R.J. Long-term trends in fertility of soil under continuous cultivation and cereal cropping in Southern Queensland: II. Total organic carbon and its rate loss from soil profile. *Australian Journal of Soil Research*. Melbourne, v.24, 1986.

<sup>5</sup> DORAN, N.J.W. Soil quality and sustainability. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 26., 1997, Rio de Janeiro. *CDRom...* Rio de Janeiro: SBSC, 1997.

<sup>6</sup> GREENLAND, D.J.; WILD, A.; ADAMS, D. Organic matter dynamics in soil of the tropics – From myth to complex reality. In: LAL, R. et al (Eds.) *Myths and science of soil in the tropics*. Madison: ASA/SSSA, 1992.

<sup>7</sup> Piccolo, A. Humus and soil conservation. In: Piccolo, A. (Ed) *Humic substances in terrestrial ecosystems*. Amsterdam: Elsevier, 1996

<sup>8</sup> Schnitzer, M. Organic matter characterization. In: Page, A.L.; Miller, R.H.; Keeney, D.R. (Eds.) *Methods of soil analysis*. Madison: ASA/SSSA, 1982.

<sup>9</sup> Stevenson, F.J. *Humus chemistry - genesis, composition, reactions*. 2ed. New York: John Wiley, 1994.

<sup>10</sup> Theng, B.K.G.; Tate, K.R.; Sollins, P. Constituents of organic matter in temperate and tropical soils. In: Coleman, D.C. et al. (Eds.) *Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems*. Honolulu: NIFTAL Project, 1989.

<sup>11</sup> Walkley, A. A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils-effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Science*. Baltimore, v.63, 1947.

<sup>12</sup> WitheHead, D.C.; Tinsley, J. Extraction of soil organic matter with dimethyl formamide. *Soil Science*. Baltimore, v.97, 1964.



## Uso da espectroscopia fotoacústica para monitorar a dinâmica do processo de compostagem de podas de árvores e resíduos orgânicos

Washington L. B. Melo<sup>1\*</sup>(PQ), Lucimar L. Fialho<sup>2</sup>(PG), Wilson T. L. da Silva<sup>3</sup>(PQ), Daniel B. Mazulquim<sup>4</sup>(IC), Mariana L. de Calais<sup>5</sup>(IC), Ladislau Martin-Neto<sup>6</sup>(PQ)

1,3,6-Embrapa Instrumentação Agropecuária – Rua XV de Novembro 1452- São Carlos/São Paulo; 2 – Instituto de Química de São Carlos – USP; 4 – Instituto de Física de São Carlos – USP; 5 – Departamento de Química – Ufscar. \*e-mail: wlbmelo@cnpdia.embrapa.br

Palavras Chave: Fotoacústica, compostagem, resíduos orgânicos.

### Introdução

A compostagem é um processo de decomposição aeróbia cujo produto, o húmus, é constituído de estruturas recalcitrantes dos resíduos orgânicos. Um produto de qualidade, além da maturidade adequada, deve apresentar características e propriedades que não tornem o produto impróprio para fins agrícolas, como quantidades aceitáveis de metais pesados e de microrganismos patogênicos<sup>1</sup>. Conseqüentemente, um composto pode estar maturado, mas não ter as qualidades necessárias para ser considerado um fertilizante orgânico com bom valor agrícola<sup>2</sup>.

No processo de compostagem o grau de humificação é um parâmetro importante para determinação da qualidade da matéria orgânica. A fim de caracterizar as substâncias húmicas extraídas, as técnicas espectroscópicas têm sido utilizadas com destaque, como por exemplo, a Espectroscopia Paramagnética Eletrônica (EPR), a espectroscopia de fluorescência por luz UV-visível (fotoluminescência) e a espectroscopia de Infravermelho (IR), além da Ressonância Magnética Nuclear de carbono (<sup>13</sup>C RMN). Um método utilizado para obter o grau de humificação baseia-se na determinação da concentração de radicais livres orgânicos (RLO) obtida através de EPR. A concentração destes radicais aumenta à medida que o processo de humificação avança<sup>3,4</sup> e pode ser um parâmetro de qualificação e de distinção de adubos orgânicos.

As técnicas fototérmicas são largamente utilizadas nos estudos espectroscópicos de absorção e na caracterização térmica de materiais nos diversos estados, especificamente em sólidos<sup>5,6,7</sup>. Dessas se destaca a técnica fotoacústica (PA), que é uma forte candidata para ajudar na elucidação da dinâmica do processo de compostagem e também na determinação do grau de humificação das substâncias húmicas. A partir da década de 70, após os trabalhos de Rosencwaig e Gersho<sup>8</sup>, a fotoacústica se tornou, definitivamente, uma técnica espectroscópica aplicada a sólidos. De um modo geral na técnica PA, o *efeito fotoacústico*

surge quando um feixe de luz modulada, incide sobre uma amostra dentro de uma câmara fechada e cheia de gás. A luz é absorvida pela amostra que produz um aquecimento periódico causando uma variação de pressão no gás, que é detectada por um microfone dentro da câmara fotoacústica.

A Espectroscopia Fotoacústica (PAS) não é destrutiva e possibilita analisar o material bruto. Esta possibilita, além das mesmas informações obtidas pelas técnicas acima, também informações térmicas do material, isto é, a difusividade e a condutividade térmicas. Além disso, não sofre influência do espalhamento de luz como nas outras técnicas de espectroscopia óptica e nem das estruturas paramagnéticas, como é o caso de EPR e RMN. O custo de operação é baixo e com menor tempo para a obtenção dos resultados, devido ao fato de possibilitar a análise da matéria bruta.

Neste trabalho, a PAS foi usada para monitorar as mudanças ocorridas por resíduos orgânicos, durante o processo compostagem.

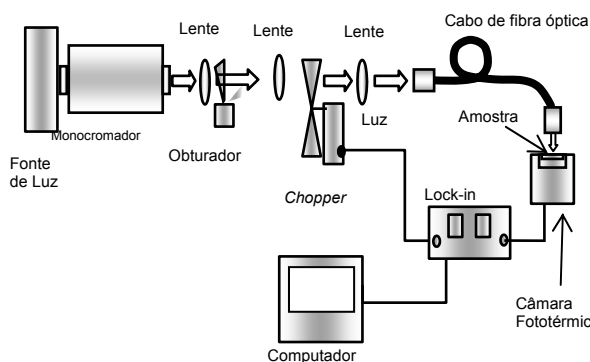
### Resultados e Discussão

Para realizar este trabalho, duas leiras de 3,6 m<sup>3</sup> foram montadas. A primeira era composta de poda verde proveniente de limpeza urbana e a segunda composta desta poda acrescida de esterco bovino. Os resíduos foram misturados, manualmente, com o objetivo de homogeneizar a mistura. O volume das leiras foi padronizado através do uso de moldes de madeira. As temperaturas das leiras foram medidas diariamente, entre 6 e 7 horas da manhã, durante 184 dias e a cada semana era feito o controle da umidade.

Os resíduos em cada leira (L1 e L2) estão nas proporções (em massa fresca) de: L1 = 900 kg de poda, (63% de umidade); L2 = 1450 kg de poda misturada a 2450 kg de esterco bovino fresco (umidade 74%). Para o acompanhamento do processo de compostagem foi coletado, aproximadamente, 1,0 kg de cada mistura de resíduos, no dia da montagem do experimento. A cada 30 dias foram coletadas amostras em vários pontos aleatórios no interior da leira. Em seguida, as amostras foram secas, trituradas e peneiradas,

obtendo-se um pó fino com granulometria menor do que 500  $\mu\text{m}$ . Depois, o pó de cada amostra foi prensado em forma de pastilha para serem usadas na câmara PA.

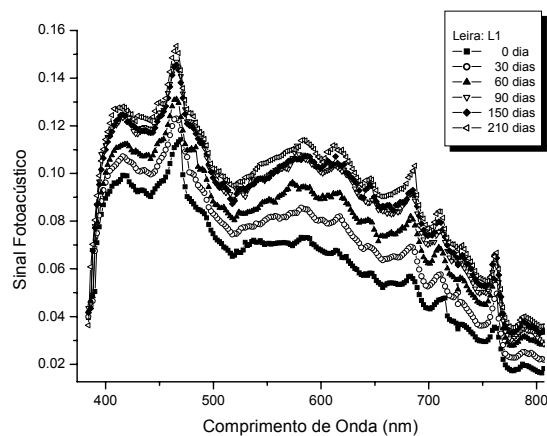
As medidas PAS foram realizadas no Espectrômetro Fotoacústico montado na Embrapa Instrumentação Agropecuária. Este é composto por uma lâmpada de xenônio de 450W, um monocromador nas regiões UV-Vis-IR; um *chopper* mecânico para modular a luz; um sistema de lentes para colimação do feixe de luz; cabo de fibra óptica; câmara fotoacústica, o sistema eletrônico é composto por um amplificador *lock-in*, um computador e um programa para controle e aquisição de dados. A figura 1 apresenta o esboço deste sistema.



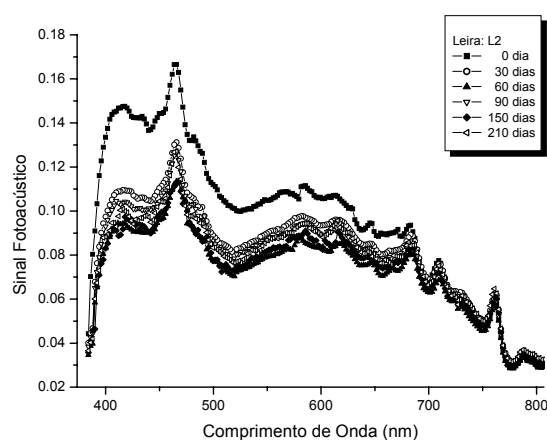
**Figura 1.** Esboço do Espectrômetro Fototérmico montado na Embrapa Instrumentação Agropecuária.

As medidas foram realizadas na frequência de modulação de 100 Hz, no intervalo de 380 a 1220nm, mas por simplicidade, as figuras 2 e 3 não mostram as curvas na região do infravermelho. Elas apresentam alguns espectros PA, no intervalo de 380 a 800nm para os materiais das leiras, L1 e L2, respectivamente, nos tempos de compostagem de 0, 30, 60, 90, 150 e 210 dias.

Pode-se observar que os comportamentos espectrais diferenciaram significativamente entre L1 e L2. Na figura 2, os espectros PAS aumentaram em intensidade em função do tempo de compostagem e tenderam a uma estabilização para tempo acima de 90 dias. Ainda é possível observar que na região espectral em torno de 600 nm os sinais são mais espaçados em relação àquele para o tempo inicial (dia zero), devido ao aumento de partículas absorvedoras geradas no processo de compostagem. Enquanto na figura 3, observa-se que o espectro PAS em tempo zero foi mais intenso do que os demais, principalmente na faixa do azul ao violeta (450nm). Como a quantidade de esterco fresco é maior do que aquela da poda e que apresenta alta quantidade de pigmentos (cromóforos), na maioria esverdeados, então, acredita-se que este aumento espectral foi devido a esta alta concentração de pigmentos. Um dado que



**Figura 2.** Espectros dos sinais fotoacústicos do L1 para a poda.



**Figura 3.** Espectros dos sinais fotoacústicos do L2 para a poda misturada ao esterco.

justifica essa afirmação é que a razão dos espectros (L2/L1) no tempo zero é cerca de 1,5 em todos os comprimentos de onda. Para tempos de compostagem maiores, os espectros PAS decresceram, chegando a um mínimo em torno de 90 dias. Esse decréscimo é similar ao observado por Souto et al.<sup>9</sup> através de uma metodologia de variação de massa (perdas). O decréscimo no sinal PA é devido à decomposição do esterco, ocasionando a diminuição dos pigmentos absorvedores na região do visível (400 - 700 nm), conforme apresentado na figura 3. Após este tempo, os espectros aumentaram de intensidade, indicando a formação de outros complexos, como aconteceu nos espectros de L1.

Por inspeção visual, notou-se alta quantidade de partículas de cor clara, de características lenhosas restantes no final do período para as duas leiras, mas sendo em maior quantidade para L1. Isto também influencia nas amplitudes dos sinais PA decrescendo-as.

Para tornar as diferenças dos espectros PA de L1 e L2 mais evidentes, foram normalizados todos os espectros com relação àqueles das amostras no tempo inicial. Em seguida, foram calculadas as

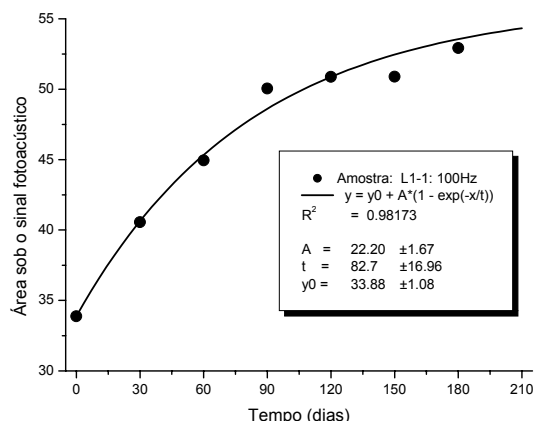
áreas sob cada curva. As figuras 4 e 5 mostram o resultado desta operação.

As equações abaixo foram ajustadas aos pontos experimentais de L1 e de L2, respectivamente:

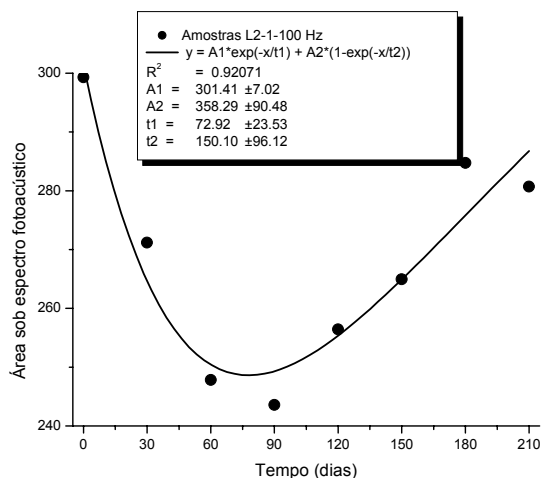
$$(1) Y = Y_0 + A * (1 - \exp(-x/t))$$

e

$$Y = A_1 * \exp(-x/t_1) + A_2 * (1 - \exp(-x/t_2)) \quad (2)$$



**Figura 4.** Evolução no processo de compostagem para o L1. A curva contínua é o resultado do melhor ajuste pela equação 1.



**Figura 5.** Evolução no processo de compostagem para o L2. A curva contínua é o resultado do melhor ajuste pela equação 2.

Na figura 4, tem-se que o processo evoluiu de forma crescente tendendo a uma estabilização. Este resultado sugere que houve a decomposição do material, mas não é possível afirmar somente por estes dados experimentais que o processo tenha atingido a estabilização físico-química e biológica.

No caso L2 (figura 5), observa-se o decaimento inicial da curva seguido pelo seu crescimento após 90 dias. Este ponto de mínimo coincidiu com a transição da fase termofílica para a fase mesofílica,

conforme as medidas de temperatura das leiras. Pode-se observar por meio dos parâmetros fornecidos pelos ajustes das equações 1 e 2 (quadros internos as figuras 4 e 5), que as constantes de tempo ( $t$ ,  $t_1$  e  $t_2$ ) diferem nos dois casos. Mas pelo ajuste da equação 2, a estabilização só é alcançada para o tempo de compostagem acima do tempo do experimento.

Acredita-se que a constante de tempo,  $t_1$ , é o tempo necessário para a transformação de grande parte do esterco, enquanto  $t_2$  seja o tempo para que a maior parte do composto se forme. Um dado interessante é que a diferença entre  $t_1$  e  $t_2$ , da equação 2, corresponde, aproximadamente, ao tempo determinado para o caso L1.

Isto leva a supor que esta diferença seja devido à ação dos microrganismos sobre o material da poda misturado ao esterco, já que a velocidade de decomposição do material orgânico depende da facilidade com que esse material pode ser decomposto, de suas características químicas e do pH do meio onde este se encontra. O material baseado em celulose é decomposto três vezes mais rápido do que as parte lenhosas ricas em taninos. Essa diferença no tempo de decomposição assegura um fluxo contínuo de nutrientes no solo<sup>10</sup>. Isto pode justificar as diferenças encontradas entre  $t_1$  e  $t_2$ .

## Conclusões

Este trabalho demonstra que a técnica fotoacústica possui grande potencial de aplicação no monitoramento do processo de compostagem e no estudo dos compostos humificados. Por ser uma técnica não destrutiva e que pode ser aplicada na análise do material orgânico bruto, torna-se promissora para uma metodologia de análise do material em decomposição. Também indica a possibilidade do desenvolvimento de uma instrumentação portátil para monitorar, *in loco*, o processo de compostagem. Estudos estão sendo aprimorados visando uma melhor interpretação dos espectros e informações obtidas através destes.

Uma nova metodologia e uma instrumentação poderão contribuir significativamente nos estudos e na avaliação dos processos de compostagem de resíduos orgânicos.

## Agradecimentos

Os autores desejam agradecer a FAPESP pelo apoio financeiro para bolsa de doutoramento, como para a montagem do Espectrômetro Fototérmico. A Embrapa Instrumentação Agropecuária pelo apoio estrutural e de bolsas para estudantes de iniciação científica.

- <sup>1</sup> Martin-Neto, L.; Milori, D.M.B.P.; da Silva, W.T.L.,(Eds) Humic Substances and soil and water environment. **2004**, Embrapa, São Carlos.
- <sup>2</sup> Kiehl E. J. Manual de Compostagem: Maturação e Qualidade do Composto. Piracicaba, **1998**,172p
- <sup>3</sup> Martin-Neto, L.; Rossel, R.; Sposito, G. *Geoderma*, **1998**, v. 81, 305.
- <sup>4</sup> Olk, D.C.; Brunetti, G.; Senesi, N. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **2000**, 64, 1337.
- <sup>5</sup> Bélanger, R.; Paquette, A; N'Soukpoé-Kossi, C. N.; Leblanc, R. M. , *Review Sci. Instrum.* **1993**, 64, 1175.
- <sup>6</sup> Melo, W. L. B. – Contribuições às técnicas de espectroscopias fototérmicas e aplicações a materiais poliméricos, IFQSC/USP, **1992**, 110p.
- <sup>7</sup> Melo, W. L. B.; Faria, R. M., *Appl. Phys. Lett.* **1995**, 67(26), 3893.
- <sup>8</sup> Rosencwaig, A; Gersho, A; *J. Appl. Phys.*, **1976**, 47,64.
- <sup>9</sup> Souto, P. C.; Souto, J. S., Santos, R. V. Araújo, G.T, Souto, L.S., *R. Bras. Ci. Solo*, **2005**, 29,125.
- <sup>10</sup> Larcher, W. Ecofisiologia vegetal, **2000**, São Carlos, Rima Artes e Textos, 531p.

# Aplicação da termogravimetria nos estudos cinéticos de substâncias húmicas extraídas de amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM

André Gustavo Ribeiro Mendonça<sup>1\*</sup> (PG), Luciana Camargo de Oliveira<sup>1</sup> (PG), Clóvis Augusto Ribeiro<sup>1</sup> (PQ), André Henrique Rosa<sup>2</sup> (PQ), Graziela Camas Alves do Amaral<sup>1</sup> (PG), Ademir dos Santos<sup>1</sup> (PQ), Julio Cesar Rocha<sup>1</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Universidade Estadual Paulista - UNESP - Instituto de Química, Araraquara-SP

<sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista-UNESP - Departamento de Engenharia Ambiental, Sorocaba-SP

Palavras Chave: parâmetros cinéticos, substâncias húmicas, decomposição térmica.

## Introdução

Substâncias húmicas (SH) são formadas durante o processo de decomposição microbiológica da matéria orgânica presente nos ambientes aquáticos e terrestres. Durante o processo de humificação da matéria orgânica, fatores ambientais tais como, umidade, temperatura, presença de microorganismos e característica da matéria orgânica natural, exercem papel preponderante. As características físico-químicas e o comportamento ambiental das SH dependem do processo de humificação, o qual devido sua importância tem sido estudado utilizando-se diferentes técnicas (ROSA *et al.*, 2005a; MILORI *et al.*, 2002). A análise térmica tem se mostrado uma técnica interessante e versátil para estudos associados ao comportamento da matéria orgânica presente no ambiente (ROSA *et al.*, 2005b; LEENHENDER *et al.*, 1992). Entretanto, existem poucos trabalhos na literatura utilizando análise térmica para caracterização de SH, principalmente, em relação à obtenção de parâmetros que podem auxiliar na caracterização do processo de humificação da matéria orgânica no ambiente tais como, energia de ativação (E), fator pré-exponencial de Arrhenius (A) e modelo cinético de decomposição térmica ( $f(\alpha)$ ).

Neste trabalho determinou-se a energia de ativação, fator pré-exponencial de Arrhenius e o modelo cinético para caracterização de substâncias húmicas extraídas de amostras de solos coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM. A partir das curvas termogravimétricas (TG) e termogravimétricas derivadas (DTG), mostradas nas Figuras 1-2, determinaram-se os parâmetros cinéticos obtidos por procedimentos não-isotérmicos, os quais podem ser matematicamente descritos em termos do tripeto cinético: energia de ativação, fator pré-exponencial de Arrhenius e modelo cinético de reações no estado sólido. Para estudo não isotérmico com razão de aquecimento linear, a dependência de  $\alpha$  em relação ao tempo e temperatura pode ser descrita pela, Eq. 1:

$$\frac{d\alpha}{dt} = \left(\frac{d\alpha}{dT}\right) \left(\frac{dT}{dt}\right) = \left(\frac{d\alpha}{dT}\right) \beta \quad \text{Eq. 1}$$

Para o cálculo da energia de ativação sem conhecimento prévio do modelo cinético pode ser utilizado o método isoconversional de Flynn-Wall-Ozawa, Eq. 2.

$$\frac{d \log \beta_j}{d 1/T} \cong \frac{-0,457 E}{R} \quad \text{Eq. 2}$$

Conhecida a energia de ativação, o modelo cinético  $f(\alpha)$  e o coeficiente cinético podem ser calculados através do máximo das funções  $y(\alpha)$ , Eq. 3, e  $z(\alpha)$ , Eq. 4, ou seja,  $\alpha_y^*$  e  $\alpha_z^*$ :

$$y(\alpha) = \frac{d\alpha}{d\theta} = Af(\alpha) \quad \text{Eq. 3}$$

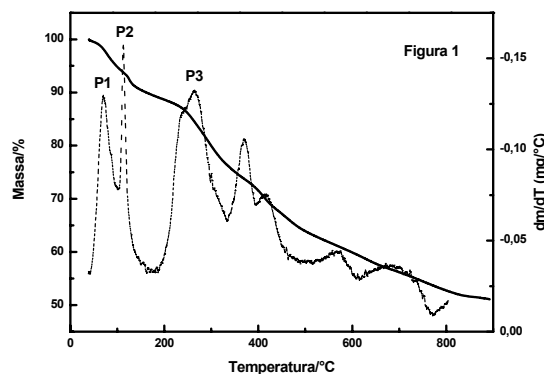
$$\text{Em que: } \frac{d\alpha}{d\theta} = \frac{d\alpha}{dT} \beta \left(\frac{E}{RT}\right) = Af(\alpha)$$

$$z(\alpha) = y(\alpha)\theta \quad \text{Eq. 4}$$

Em que  $\theta$  = tempo generalizado. Conhecido o modelo cinético e o coeficiente cinético, o fator pré-exponencial de Arrhenius pode ser calculado.

## Resultados e Discussão

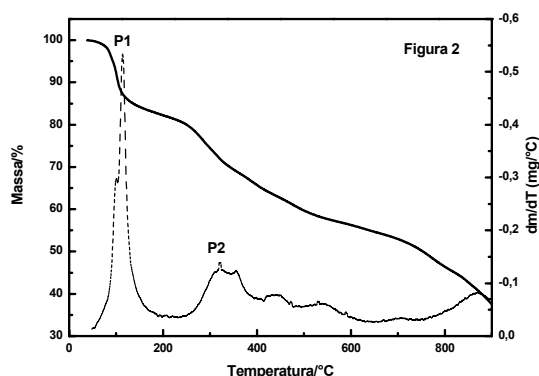
A Figura 1 indica etapas de perda de massa (TG) com correspondente termogravimetria derivada (DTG) em que P1 e P2 estão relacionados a desidratações e P3 a oxidação da matéria orgânica presente nas substâncias húmicas extraídas de amostras de solo da região do Rio Araçá-AM.



**Figura 1:** Curvas TG-DTG da amostra de SH extraída de solo da região do Rio Araçá-AM. Condições: 8,02mg de amostra sob atmosfera de N<sub>2</sub> (fluxo de 100 mL min<sup>-1</sup>), 10°C min<sup>-1</sup> e cadinho de alumina.



Na Figura 2 observam-se etapas de perda de massa (TG) com correspondentes picos P1 e P2 na curva DTG relativos respectivamente às etapas de desidratação e decomposição da matéria orgânica presentes nas SH extraídas de amostras de solos coletadas na região do lago lara-AM.



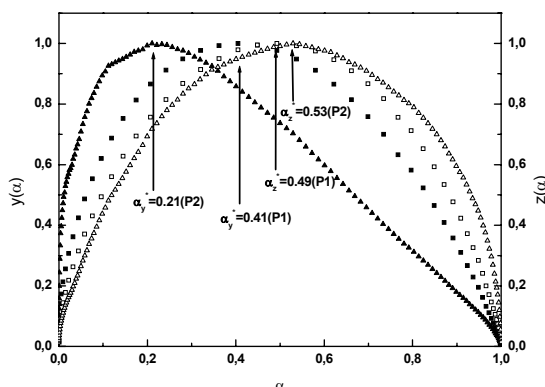
**Figura 2:** Curvas TG-DTG da amostra de SH extraída de solo da região do lago lara-AM. Condições: 8,04mg de amostra sob atmosfera de N<sub>2</sub> (fluxo de 100 mL min<sup>-1</sup>), 10°C min<sup>-1</sup> e cadinho de alumina.

A partir dos dados obtidos das curvas TG em três razões de aquecimento (5, 7,5 e 10 °C min<sup>-1</sup>) e aplicando a equação 3 obtiveram-se a relação entre E(α) e α (grau de conversão cinético), cujos valores são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1:** Energias de ativação (α) obtidas de curvas termogravimétricas para as amostras de substâncias húmicas extraídas de solos de Araçá-AM e lara-AM.

Amostra	E/KJ mol <sup>-1</sup>		
	P1	P2	P3
Araçá	118±2	130±10	246±4
lara	43±2	135±3	-

Os valores de energia de ativação (Tabela 1) e as equações 3 e 4 permitiram o cálculo das funções y(α) e z(α), em que os máximos conduzem ao modelo cinético para as reações em P1, P2 e P3 (Figura 3).



**Figura 3:** Máximos para as funções y(α) e z(α) para amostra de SH extraída de solo da região do lago lara.

O principal modelo aplicado para a desidratação e decomposição térmica da matéria orgânica presente nas SH foi o auto-catalítico SB (modelo de Sestak-Berggren), o qual é representado por:

$$f(\alpha) = \alpha^M (1 - \alpha)^N \quad \text{Eq. 5}$$

onde M e N são parâmetros cinéticos

Quanto maior o valor de M maior é o grau de heterogeneidade da amostra. Tabela 2 apresenta os valores de M e N para as reações P1, P2 e P3 referentes à desidratação e decomposição da SH (amostras Araçá e lara.)

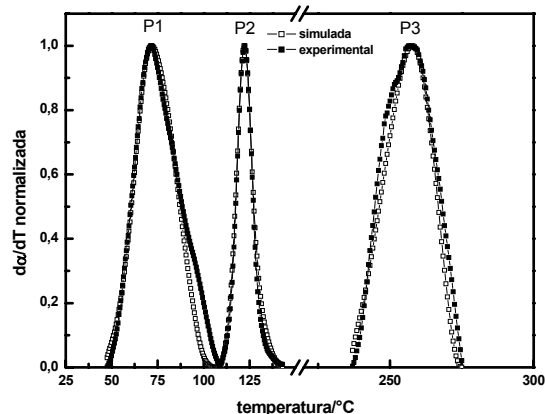
**Tabela 2:** Valores de M e N para modelo Sestak-Berggren

Amostra	Expoentes cinéticos, M/N		
	P1	P2	P3
Araçá	0,15/2,10	0,55/1,12	0,19/1,23
lara	0,59/0,87	0,33/1,22	-

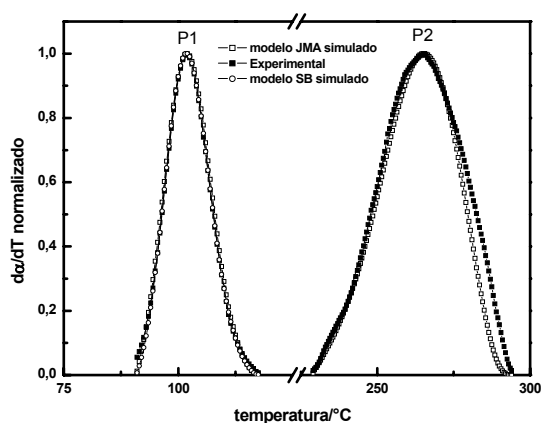
Obtido f(α), construíram-se as curvas DTG (equação 6) simuladas, as quais foram comparadas com as curvas experimentais para verificar o grau de convergência.

$$\frac{d\alpha}{dT} = \frac{A}{\beta} \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) f(\alpha) \quad \text{Eq.6}$$

As Figuras 4 e 5 mostram as curvas DTG simulada e experimental para as amostras de SH extraídas de solos do Rio Araçá e do lago lara, respectivamente.



**Figura 4:** Curvas DTG simulada e experimental para substâncias húmicas extraídas de solo de Araçá-AM.



**Figura 5:** Curvas DTG simulada e experimental para substâncias húmicas extraídas de solos de lara.

Os parâmetros cinéticos indicam que as substâncias húmicas proveniente da amostra lara (região alagável), apresentam menor energia de ativação tanto na etapa de desidratação como na de decomposição da matéria orgânica em relação à amostra de Araçá. Isto indica que o processo de humificação das SH de lara ocorre mais facilmente do que na amostra de Araçá. O tipo de argila no interior da SH da amostra lara, bem como as características menos refratárias da matéria orgânica presente nas SH podem ser considerados os principais responsáveis pela menor energia de ativação e conseqüentemente pela característica no processo de humificação. O tipo de argila na estrutura da SH da amostra coletada em lara está atuando como catalisador facilitando as duas etapas de reação. Este comportamento distinto observado para as amostras de Araçá e lara, provavelmente está associado às diferentes características dos solos e do ambiente em que as SH foram formadas. Enquanto a amostra de lara foi coletada em região alagável e mais anóxida, a amostra de Araçá foi coletada em solo não alagável onde ocorre maior ciclagem de matéria orgânica, a qual está mais suscetíveis a reações de oxidação-redução e

atividade microbiana. Assim, a característica da matéria orgânica da amostra de solo de Araçá apresenta-se numa forma mais estável quanto à reatividade de seus componentes, conforme foi observado pelos parâmetros cinéticos obtidos, ou seja, maiores valores de energia de ativação, e maior variação na relação E versus  $\alpha$ .

## Conclusões

A termogravimetria mostrou-se uma técnica interessante e inovadora para a obtenção de parâmetros cinéticos tais como, energia de ativação, fator pré-exponencial de Arrhenius (A) e modelo cinético de decomposição térmica ( $f(\alpha)$ ) para substâncias húmicas. Estes parâmetros podem ser utilizados em estudos associados à avaliação da estabilidade térmica e a decomposição da matéria orgânica presente em substâncias húmicas no ambiente.

As substâncias húmicas extraídas de amostras coletadas na região do lago lara devem conter em seus sítios ativos, resíduos de argila, os quais atuam como catalisador tanto na desidratação como na decomposição da SH, o que é caracterizado pela baixa energia de ativação em relação à decomposição térmica da SH proveniente de Araçá. Estes comportamentos distintos são devido a diferentes características que levaram à sua origem e formação de sua estrutura.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP, o CNPq e ao Conselho de Pós Graduação do IQ-UNESP.

- Leinweber & Schulten. *Thermochimica Acta*. **1992**, 200, 151-167.  
 Milori, D.M.B.P., Martin-Neto, L., Bayer, C., Mielniczuk, J., Bagnato, V.S. *Soil Science*. **2002**, 167, 739-749.  
 Rosa, A.H.; Simões, M.L.; Oliveira, L.C.; Rocha, J.C.; Martin-Neto, L.; Milori, D.M.B.P. *Geoderma*. **2005a**, 127, 1-10.  
 Rosa, A.H.; Oliveira, L.C.; Bellin, I.; Rocha, J.C.; Romão, L.P.C.; Dias Filho, N.L. *Thermochimica Acta*. **2005b**, 433, 77-82.

## Determinação de carbono e matéria orgânica em Latossolos por diferentes métodos

Aline Segnini<sup>1,2,\*</sup> (PG), Wilson T.L. da Silva<sup>1</sup> (PQ), Larissa M. dos Santos<sup>1,2</sup> (PG), Débora M.B.P. Milori<sup>1</sup> (PQ), Ladislau Martin-Neto<sup>1</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, C.P. 741, CEP 13560-970, São Carlos-SP, <sup>2</sup>Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos; \*e-mail: aline@cnpdia.embrapa.br

Palavras Chave: matéria orgânica de solos, teor de Carbono, TOC

### Introdução

A determinação do teor de carbono presente em amostras de solo é de fundamental interesse, principalmente no estudo dos estoques de carbono ou do potencial de seqüestro de carbono destes solos. Diversos métodos têm sido utilizados para a determinação de carbono e de matéria orgânica de solos (MOS), porém, há uma carência de informações consistentes quanto à definição e recomendação do método mais adequado para a obtenção de resultados confiáveis e satisfatórios, principalmente para a análise de solos com elevados teores de matéria orgânica<sup>1</sup>.

O método de Walkley-Black<sup>2</sup> para determinação de MOS é ainda o mais empregado em laboratórios de solos, devido a sua simplicidade e baixo custo. Foi adaptado por Jackson<sup>3</sup>, baseando-se na oxidação do carbono (C) orgânico do solo por íons dicromato, em meio fortemente ácido. Em amostras que requeiram maior precisão, a determinação da quantidade de íons cromo ( $\text{Cr}^{3+}$ ) reduzidos é feita indiretamente, por titulação dos íons dicromato em excesso com íons ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Alternativamente, pode-se determinar diretamente a quantidade de  $\text{Cr}^{3+}$  por colorimetria, medindo-se a intensidade da cor esverdeada produzida por esses íons em solução. A determinação por colorimetria, normalmente usada em rotina, requer a montagem de uma curva-padrão de calibração. A quantidade de C orgânico é obtida pela diferença entre  $\text{Fe}^{2+}$  gasto na titulação, quando o  $\text{Cr}^{6+}$  foi adicionado, e aquela gasta na titulação do dicromato que restou após a oxidação do carbono da amostra, assumindo que todo o C da MO está no estado de oxidação zero<sup>4</sup>.

Grande parte das características de uma amostra de MOS são obtidas a partir de sua composição elementar. Os primeiros experimentos para determinação da composição elementar das substâncias húmicas (SH) foram realizados por Sprengel e Berzelius entre os anos de 1826 e 1845<sup>5</sup>. Segundo eles, as SH eram constituídas essencialmente por carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N) e oxigênio (O), sendo C e O os elementos mais abundantes. A utilização de analisadores elementares automáticos trouxe avanços consideráveis nesse sentido, permitindo

análises rápidas e confiáveis<sup>6</sup>. A metodologia baseia-se na oxidação da amostra em alta temperatura (1000 °C), posteriormente os gases resultantes são separados por uma coluna cromatográfica e detectados, geralmente, por condutividade térmica<sup>7</sup>. Analisa-se simultaneamente C, H, N e enxofre (S) presentes em amostras orgânicas ou inorgânicas, podendo elas estar na forma sólida, líquida ou gasosa. O oxigênio é determinado por diferença. Porém, a quantidade de amostra utilizada nestas análises pode influenciar no resultado. Em nossas análises, 1 mg de solo foi determinado. No que diz respeito à análise de solos, esta quantidade pode não ser representativa, mesmo com o uso de diversas replicatas. Este fato leva a um alto desvio padrão na média das réplicas avaliadas. O custo de cada análise é elevado e a manutenção do equipamento requer também altos custos.

Com a metodologia de quantificação de carbono orgânico total pelo TOC (do inglês, Total Organic Carbon) podemos determinar em amostras sólidas, tanto o carbono total quanto o inorgânico. Por diferença do carbono total e inorgânico, calcula-se o valor do carbono orgânico das amostras. O carbono total é determinado pela oxidação do carbono orgânico e inorgânico da amostra a dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), devido ao aumento da temperatura a 900°C. Essa análise possui algumas vantagens e, principalmente por sua rapidez nas medidas, é altamente reproduzível e facilmente automatizada.

Métodos gravimétricos e termogravimétricos também podem ser utilizados na análise de MOS. Baseiam-se na perda de massa do solo por incineração e aquecimento<sup>8,9,10</sup>. Empregado antes do método de Walkley-Black<sup>2</sup>, foi praticamente abandonado devido à baixa velocidade analítica e dificuldade de automação nos laboratórios. Uma das vantagens em se utilizar a termogravimetria, quando comparada com o Walkley-Black, é o fato de não se utilizar metal tóxico como o cromo, não contaminando o ambiente e não oferecendo riscos aos analistas com o uso de ácido sulfúrico concentrado. Entretanto, uma limitação do método é a dificuldade em distinguir entre a perda térmica de água e a degradação da MOS<sup>11</sup>.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o teor de matéria orgânica e carbono de amostras de

latossolos a partir de diferentes métodos de análise, com a finalidade de comparar os resultados e então propor o melhor método para a determinação de carbono em solos.

## Resultados e Discussão

As amostras de solo pertencem ao experimento de campo instalado na Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) – Pólo Regional do Centro-Leste (APTA), em Ribeirão Preto-SP. Foram analisadas amostras de Latossolo Vermelho eutroférrico, submetidas a três sistemas de manejo distintos: Plantio Direto (PD), Cultivo Mínimo (CM) e Plantio Convencional (PC), coletadas nas profundidades de 0-30 cm e em três réplicas, sendo que cada uma representa um ponto de amostragem.

As amostras de solo foram secas ao ar, peneiradas a 0,5 mm, trituradas e submetidas à determinação dos teores de matéria orgânica e carbono pelos métodos descritos abaixo.

A determinação da MOS foi realizada segundo a reação proposta por Walkley-Black<sup>2</sup>, onde, por colorimetria, solução de dicromato de potássio em meio ácido foi empregada em excesso, obtendo um volume considerável de sulfocromica  $Cr^{6+}$  no final da reação<sup>12</sup>. A quantificação do C orgânico foi realizada a partir da determinação do teor de matéria orgânica de 1g de solo. As análises químicas para a determinação do teor de C orgânico pelo método de Walkley-Black foram realizadas em triplicata no Laboratório de Preparo de Amostras da Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos-SP.

A análise química da composição elementar (C, N, H, S) foi realizada em triplicata a partir de 1 mg de solo. As medidas foram feitas no equipamento da Carlo Erba, pertencente ao Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos.

A determinação do teor de C total por TOC foi também realizada em triplicata para cada 100 mg de solo, a partir da oxidação a 900°C, utilizando um fluxo de oxigênio de 0,3 L . min<sup>-1</sup>. Construiu-se uma curva analítica com padrão de biftalato de potássio. As medidas foram realizadas no aparelho “Total Organic Carbon Analyser”, modelo TOC-V, da marca Shimadzu, acoplado ao módulo de amostras sólidas, da Shimadzu, modelo SSM-5000 A, instalado no Laboratório de Química Ambiental, do Instituto de Química da USP de São Carlos-SP.

Na Tabela 1 estão esquematizados os valores médios das porcentagens de C (%C) e seus respectivos desvios, encontrados em diferentes profundidades e em três réplicas para amostras do solo em questão. As determinações de C foram realizadas por Walkley-Black, Análise Elementar e TOC. As análises dos C inorgânicos destas amostras não foram representativas. Estas

amostras de solo possuem pH ácido, com valores próximos de 5.

**Tabela 1.** Determinação de Carbono obtido por três métodos: Walkley-Black, Análise Elementar e TOC, em amostras de solos sob diferentes sistemas de cultivo: Plantio Direto (PD), Cultivo Mínimo (CM) e Plantio Convencional (PC), em função da profundidade (0-30 cm).

Amostra (cm)	Médias (% C)		
	Walkley-Black C orgânico	Análise Elementar C total	TOC C total
PD 0-10	1,7 ± 0,3	3,1 ± 0,5	2,5 ± 0,3
PD 10-20	1,7 ± 0,2	2,4 ± 0,2	2,2 ± 0,3
PD 20-30	1,0 ± 0,1	2,3 ± 0,5	1,9 ± 0,4
CM 0-10	1,3 ± 0,4	2,2 ± 0,3	2,5 ± 0,1
CM 10-20	1,3 ± 0,2	2,0 ± 0,2	2,4 ± 0,0
CM 20-30	0,9 ± 0,2	1,6 ± 0,3	1,8 ± 0,4
PC 0-10	1,4 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,6 ± 0,1
PC 10-20	1,5 ± 0,3	2,1 ± 0,1	2,4 ± 0,3
PC 20-30	1,3 ± 0,2	1,9 ± 0,2	2,3 ± 0,1

Pelos dados encontrados na tabela acima observamos que os valores de C apresentados por Walkley-Black são menores em relação aos determinados por Análise Elementar e TOC. Isto se deve ao fato deste método apresentar limitação quanto à identificação do carbono mais protegido. Convém também frisar que este método assume que todo o carbono da matéria orgânica está no estado de oxidação zero e segundo a literatura, ocorre apenas uma oxidação parcial da matéria orgânica, excluindo também carvão e carbonatos<sup>4</sup>. Os resultados de Análise Elementar apresentaram um maior desvio padrão na maioria dos dados. Isto se deve principalmente ao fato de que, para cada análise, somente 1 mg de amostra foi utilizada, não sendo essa massa representativa quando se trata de uma amostra heterogênea como a de solo. A Tabela 2 mostra os valores dos coeficientes de variação (CV) das diferentes amostras de solo em função das determinações de C.

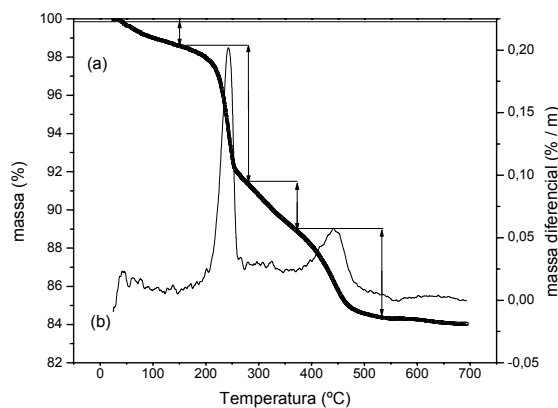
**Tabela 2.** Coeficiente de variação (CV)= (desvio padrão / média) x 100% das amostras de solo em função dos métodos de determinação de carbono.

Amostra (cm)	Coeficiente de Variação (CV) / %		
	Walkley-Black	Análise Elementar	TOC
PD 0-10	15,7	17,6	12,0
PD 10-20	10,1	8,2	13,3
PD 20-30	14,3	21,5	21,4
CM 0-10	31,1	12,3	5,9
CM 10-20	14,2	12,1	0,4
CM 20-30	18,1	16,8	20,9
PC 0-10	3,5	5,8	4,2
PC 10-20	19,6	5,7	13,1
PC 20-30	12,0	10,9	4,8
<b>CV médio</b>	<b>15,4</b>	<b>12,3</b>	<b>10,7</b>

O TOC apresentou resultados mais satisfatórios, com menor coeficiente de variação e, portanto, melhor confiabilidade, já que a massa de 100 mg utilizada nas análises é um valor mais representativo quando comparado principalmente com a Análise Elementar.

Para fins de comparação, utilizou-se o método de termogravimetria (TGA) para a determinação da MOS. O experimento foi realizado em duplicata para cada 10 mg de solo utilizando um módulo termogravimétrico TGA Q-500 pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária. A taxa de aquecimento foi de  $15^{\circ}\text{C min}^{-1}$  no intervalo de 25 a  $700^{\circ}\text{C}$  sob atmosfera de ar.

O diagrama termogravimétrico para a amostra de Plantio Direto (PD) 0-10 cm do Latossolo Vermelho eutroférico de aproximadamente 2,5 % de carbono é mostrado na Figura 1. Os diagramas das outras amostras analisadas foram semelhantes e portanto não estão apresentados.



**Figura 1.** Diagrama termogravimétrico para a amostra Plantio Direto (PD) 0-10 cm do Latossolo Vermelho eutroférico. (a) perda de massa relativa e (b) perda de massa diferencial.

Observa-se 4 regiões características no intervalo de 25 a  $600^{\circ}\text{C}$ . Segundo a literatura<sup>10</sup>, a primeira região ( $< 100^{\circ}\text{C}$ ) mostra a perda de massa referente à água livre ou água de volatilização. Na segunda região ( $150\text{-}280^{\circ}\text{C}$ ), a perda de massa é devida à decomposição da matéria orgânica, principalmente aos grupos funcionais carboxílicos e fenólicos dos ácidos húmicos, fúlvicos, hidrocarbonetos e MO volátil. Neste intervalo, a perda de massa também pode ser devido à liberação de compostos orgânicos de baixo peso molecular. A terceira região ( $270\text{-}370^{\circ}\text{C}$ ) apresenta a perda de massa principalmente devido à oxidação de carbono da matéria orgânica ( $\text{R-CH} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ ). Finalmente, na quarta região ( $380\text{-}530^{\circ}\text{C}$ ), a perda de massa é devida à perda de água de constituição de hidróxidos metálicos ( $\text{M-OH} \rightarrow \text{MO} + \text{H}_2\text{O}$ , onde M= metais como Al, Fe, Mn e outros)<sup>10,11</sup>.

A Tabela 3 mostra as perdas de massas relativas às regiões entre  $150\text{-}370^{\circ}\text{C}$ , que segundo a

literatura<sup>10</sup> correspondem à MOS. Os altos valores de MO determinados por este método comparados ao que seria esperado pelas outras metodologias, mostram a perda de outros componentes do solo durante esta faixa de temperatura, fato este que realça a necessidade de muito critério quando da análise por calcinação.

**Tabela 3.** Determinação da Matéria Orgânica das amostras de Latossolo por Termogravimetria.

Amostra (cm)	MO (%)
PD 0-10	$9,0 \pm 1,7$
PD 10-20	$9,9 \pm 0,1$
CM 0-10	$10,3 \pm 0,0$
PC 0-10	$8,0 \pm 3,2$

## Conclusões

É imprescindível a determinação de teores de carbono em solos com a maior precisão possível, principalmente quando se quer avaliar o comportamento de substâncias húmicas e estoques de C e sua posterior aplicação com métodos espectroscópicos. O TOC mostrou análises de C mais satisfatórias, já que observamos nesta metodologia uma maior sensibilidade e confiabilidade. Comparações com outros métodos foram necessários, já que a literatura apresenta algumas dúvidas à recomendação do método mais adequado para a obtenção de resultados precisos. Estes resultados não inviabilizam o uso de outras metodologias mas evidenciam a necessidade de uma visão mais crítica sobre as limitações de cada método na determinação de carbono em solos.

## Agradecimentos

Apoio Financeiro da Fapesp (Processos 03/06084-0 e 03/06096-8) e Embrapa (01.02.1.03.02.05)

<sup>1</sup> Conceição, M.; Manzatto, C.V.; Araujo, W.S.; Martin-Neto, L.; Saab, S.C.; Cunha, T.J.F.; Freixo, A.A. *Comunicado Técnico, Rio de Janeiro: Embrapa Solos*, 1999, 2, 1.

<sup>2</sup> Walkley, A.; Black, I.A. *Soil Science*. 1934, 37, 29.

<sup>3</sup> Jackson, M.L. Análisis químico de suelos. 1982, 282.

<sup>4</sup> Cantarella, H.; Quaggio, J.A.; Raij, B. van. In: Raij, B. van.; Andrade, J.C.; Cantarella, H.; Quaggio, J.A. *Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais*. 2001, 173.

<sup>5</sup> Stevenson, F.J. 1994. *Humus Chemistry*. 1994, 496p.

<sup>6</sup> Jimenez, R.R.; Ladha, J.K.. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 1993, 24, 5, 1897.

<sup>7</sup> Skoog, D.A.; Holler, J.; Nieman, T. *Princípios de Análise Instrumental*. 2002, 836p.

<sup>8</sup> Ball, D.F. *Journal of Soil Science*. 1964, 15, 84.

<sup>9</sup> Beltran, V.; Blasco, A.; Escardino, A.; Negre, F.. *Interceram*. 1988, 37, 15.

<sup>10</sup> Miyazawa, M.; Pavan, M.A.; Oliveira, E.L.; Ionashiro, M.; Silva, A.K. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2000, 43, 5, 475.

<sup>11</sup> Beyer, L.; Deslis, K.; Vogt, B. *Commun. Soil Sci. Plant Anal*. 1998, 9, 1277.

<sup>12</sup> Raij, B. van.; Andrade, J.C.; Cantarella, H.; Quaggio, J.A. *Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais*. 2001, 285 p.



## Utilização da metodologia de marcador de spin para avaliar a conformação estrutural de ácido húmico

Marcelo L. Simões<sup>1\*</sup>(PQ), Julieta A. Ferreira(PQ), Wilson T. L. da Silva<sup>1</sup>(PQ), Débora M.B.P. Milori<sup>1</sup>(PQ), Antonio J. da Costa-Filho<sup>2</sup>(PQ), Otaciro R. Nascimento<sup>2</sup>(PQ), Ladislau Martin-Neto<sup>1</sup>(PQ)

(1) Embrapa Instrumentação Agropecuária, C.P. 741, 13560-970, São Carlos, SP

(2) Instituto de Física de São Carlos - IFSC/USP, C.P. 369, 13560-970, São Carlos, SP

\*e-mail: marcelo@cnpdia.embrapa.br

Palavras Chave: marcador de spin, ácido húmico, conformação.

### Introdução

Embora tenha havido grandes avanços científicos desde dos primeiros trabalhos na área de SH<sup>1</sup>, ainda não existe um modelo estrutural para as SH explicando totalmente a composição química, a estrutura, a forma e o tamanho, sendo que os modelos existentes<sup>2-4</sup> geram controvérsias e discussões<sup>4-8</sup>.

Juntamente com modelo estrutural, há a necessidade de um melhor entendimento da dinâmica conformacional das SH e os fatores que a influenciam, pois esta dinâmica pode influenciar na biodisponibilidade, mobilidade e destino de compostos orgânicos antropogênicos no ambiente<sup>9</sup>. Dependendo da conformação estrutural, as SH podem influenciar diferentemente na capacidade de reter estes compostos<sup>10</sup>, influenciando na ativação, neutralização ou degradação dos mesmos<sup>11</sup>.

Geralmente, estudos sobre as interações com SH são realizados sob condições de equilíbrio ou pseudo-equilíbrio como, por meio de análises de fluorescência<sup>12</sup>, de análises de turbidez<sup>13</sup>, de análises de curvas de interação iônica<sup>14</sup>, de isotermas de sorção<sup>15</sup> e por dados de espalhamento de luz<sup>16</sup>. Experimentos examinando a dinâmica dos processos são menos freqüentes, embora haja alguns estudos utilizando: i) sondas fluorescentes<sup>17</sup>; ii) superfícies óxidas por meio da reflectometria<sup>11</sup>; iii) compostos aromáticos por meio de análises de tempo de relaxação magnética<sup>18</sup> e iv) fluorescência e ressonância magnética nuclear por meio de análises de difusão<sup>19</sup>.

Marcadores de spin são radicais livres estáveis, detectáveis por Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)<sup>20</sup>. Sendo geralmente utilizados como sondas em amostras biológicas<sup>21</sup>, os marcadores de spin mais utilizados são os que contêm o grupo nitroxido<sup>22</sup>.

A metodologia de marcador de spin tem como uma característica importante a anisotropia espectral<sup>20,22</sup>, ou seja, a posição e a separação das linhas hiperfinas é dependente da orientação do eixo molecular do marcador de spin em relação ao campo magnético. Sendo assim, a anisotropia espectral está associada à mobilidade do marcador de spin que apresenta grande sensibilidade ao

ambiente no qual se encontra, podendo fornecer informações sobre a viscosidade ou indicando a ocorrência de interações neste ambiente. Esta metodologia foi utilizada por Ferreira *et al.*<sup>23</sup> para estudos sobre interações hidrofóbicas e detecção de sítios hidrofóbicos em ácido húmico (AH).

O objetivo deste trabalho foi utilizar a metodologia de marcador de spin em conjunto com dados de simulação espectral para avaliar alterações da conformação estrutural de AH influenciadas pelo pH e concentração iônica.

### Resultados e Discussão

O AH foi extraído do solo Podzólico Vermelho Escuro coletado no campo experimental da UFRGS, localizado em Eldorado do Sul/RS, segundo procedimento sugerido pela IHSS. Foram utilizados os marcadores de spin: 5-SASL (2-(3-carboxilpropil)4,4-dimetil-2-tridecil-3-oxazolidina) e 5-MSSL (2-(4-metoxil-4-oxobutil)-4,4-dimetil-2-tridecil-3-oxazolidina), adquiridos da Sigma-Aldrich, cujas estruturas químicas estão mostradas na Figura 1.

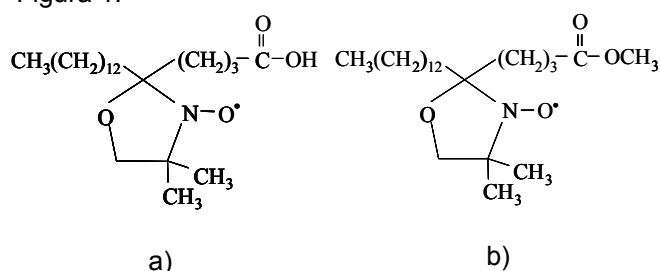
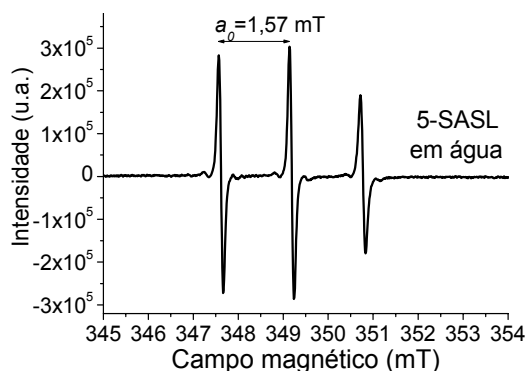


Figura 1. Estruturas químicas dos marcadores de spin utilizados. a) 5-SASL e b) 5-MSSL.

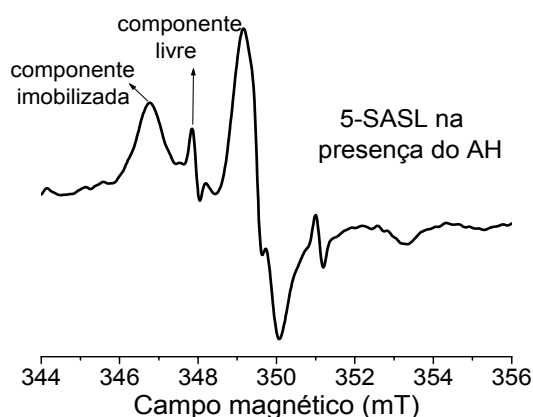
As Figuras 2 e 3 apresentam os espectros de RPE do marcador 5-SASL somente em água e na presença do AH, respectivamente.

O marcador 5-SASL na ausência do AH (em água), apresentou características espectrais (forma de linha e constante hiperfina isotrópica ( $a_0$ ) igual a 1,57 mT) (Figura 2) típicas de marcador de spin com alta mobilidade molecular (marcador livre). Na presença do AH são observadas duas componentes, uma livre e outra imobilizada (Figura 3). Esta última sugere que o marcador de spin está fortemente imobilizado no AH. Ferreira *et al.*<sup>23</sup>

associaram a componente imobilizada com a existência de sítios hidrofóbicos menos expostos ao meio aquoso (internos) no AH.



**Figura 2.** Espectro de RPE do marcador 5-SASL ( $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ ) em água. Análise feita em pH 4,5.



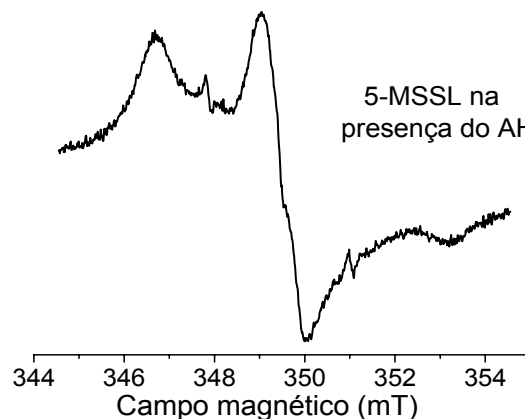
**Figura 3.** Espectro de RPE do marcador 5-SASL ( $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ ) na presença do AH ( $3 \text{ g L}^{-1}$ ). Análise feita em pH 4,5.

Utilizando o software NLSL<sup>24</sup> para simulação espectral com os parâmetros magnéticos (tensor  $g$  —  $g_{xx}=2,0086$ ;  $g_{yy}=2,0063$ ;  $g_{zz}=2,0025$ ) propostos por Ge *et al.*<sup>25</sup>, foi observado que a taxa de difusão rotacional ( $R_{\perp}$ ) diminui de  $10^9 \text{ s}^{-1}$  em água para  $10^6 \text{ s}^{-1}$  na presença do AH, confirmando a forte imobilização do marcador de spin no AH.

Uma possível limitação da utilização do marcador 5-SASL, é a presença do grupo carboxílico (COOH) em sua estrutura química (Figura 1a). Esta limitação está no fato de que não é possível afirmar que o comportamento espectral observado seja atribuído somente às interações hidrofóbicas entre o marcador de spin e o AH. Devido à presença deste grupo químico há a possibilidade de ocorrer também ligações iônicas ou hidrogênio entre o marcador 5-SASL e o AH. A utilização do marcador 5-MSSL (Figura 1b) limita a ocorrência destes tipos de ligações e aumenta a probabilidade de interações hidrofóbicas<sup>25</sup> entre o marcador de spin e o AH.

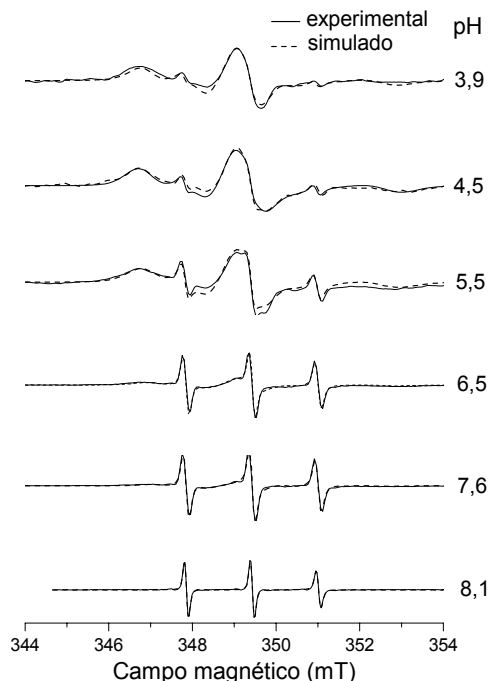
Como qualquer sinal de RPE do marcador 5-MSSL com características de marcador imobilizado está associado a uma interação entre o marcador e

o AH, e levando-se em consideração à sua estrutura química (Figura 1b), este resultado (Figura 4) indica que a interação ocorre por meio de interações hidrofóbicas. Além disso, observa-se que o comportamento espectral do 5-MSSL é similar ao do marcador 5-SASL (Figura 3), indicando que o grupo COOH não está envolvido na interação com o AH.



**Figura 4.** Espectro de RPE do marcador 5-MSSL ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ ) na presença do AH ( $3 \text{ g L}^{-1}$ ). Análise feita em pH 4,7.

A Figura 5 apresenta os espectros de RPE do marcador 5-SASL na presença do AH em diferentes pH e seus respectivos espectros simulados.

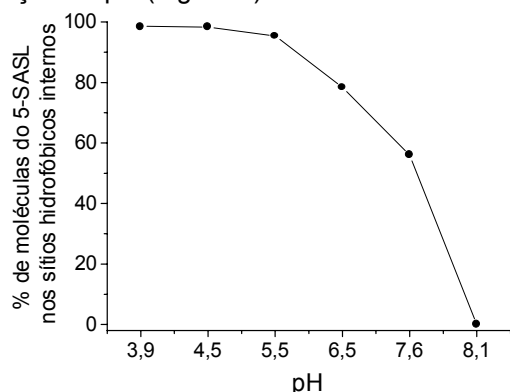


**Figura 5.** Espectros de RPE experimental (em preto) e simulado (tracejado) do marcador 5-SASL ( $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ ) na presença do AH ( $3 \text{ g L}^{-1}$ ) em diferentes valores de pH.

Da Figura 5 observa-se que as componentes imobilizada e livre variam significativamente em intensidade uma em relação à outra, dependendo do pH. A componente imobilizada é mais evidente

em meio ácido, principalmente em  $\text{pH} \leq 5,5$ . Em  $\text{pH} > 6,5$ , as três linhas hiperfinas (componente livre) tornam-se mais evidentes e são típicas de marcador de spin com maior grau de mobilidade ( $a_0 = 1,58 \text{ mT}$  e  $R_L < 10^9 \text{ s}^{-1}$ ).

A partir da simulação dos espectros de RPE, obteve-se uma estimativa da população de moléculas do marcador 5-SASL associada à componente imobilizada. Desta forma, obteve-se uma estimativa da quantidade de sítios hidrofóbicos menos expostos ao meio aquoso (internos) em função do pH (Figura 6).

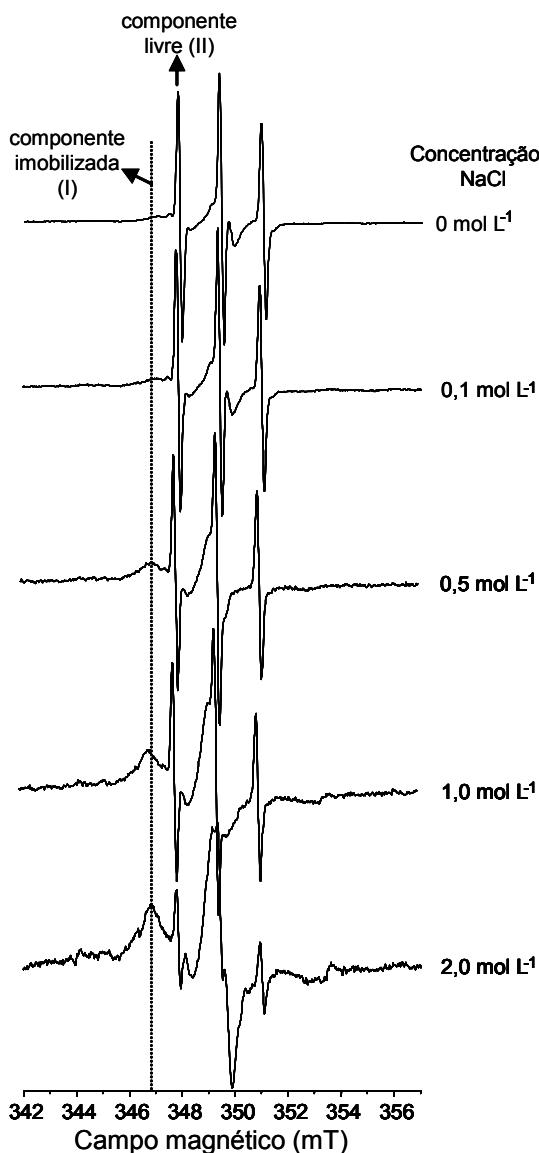


**Figura 6.** Porcentagem relativa de moléculas do marcador 5-SASL ( $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ ) nos sítios hidrofóbicos menos expostos ao meio (internos) do AH ( $3 \text{ g L}^{-1}$ ) em função do pH.

Por estes dados observa-se que, em pH próximo de 5 começa a ser evidenciada a diminuição dos sítios hidrofóbicos internos e, que em pH 8,1, não há indicativos de sua existência. Uma possível explicação para a influência do pH na formação de sítios hidrofóbicos está na protonação e desprotonação de grupos funcionais do AH, tais como, os grupos carboxílicos ( $\text{COOH}$ ), e a conseqüente influência na conformação estrutural. Para  $\text{pH} \leq 5$ , a maior parte dos grupos funcionais estão protonados, minimizando a repulsão eletrostática e permitindo a ocorrência de ligações de hidrogênio. Nesta situação, a conformação estrutural dos AH está menos “expandida” e favorece a estruturação de sítios hidrofóbicos mais protegidos do meio aquoso. Nestes sítios, devido à ausência de água, o marcador possui baixa mobilidade. Para  $\text{pH} > 5$ , com a maior parte dos  $\text{COOH}$  desprotonados, tornando-se íons carboxilatos ( $\text{COO}^-$ ), há um aumento da repulsão eletrostática entre as cargas negativas dos grupos funcionais. Nesta situação, a conformação estrutural dos AH está mais “expandida”, desfavorecendo a estruturação de sítios hidrofóbicos internos e permitindo o acesso da água nestes sítios, ocasionando o aumento da mobilidade do marcador de spin. Estes dados mostram que a diminuição dos sítios hidrofóbicos internos começa a ser evidenciada em pH próximo do valor de  $\text{pK}_a$  dos  $\text{COOH}$  das SH (em torno de 5)<sup>1</sup>, indicando a forte

influência destes grupos funcionais na conformação estrutural. O decréscimo não tão acentuado na quantidade de sítios hidrofóbicos internos, próximo do valor de  $\text{pK}_a$  dos  $\text{COOH}$ , sugere que estes grupos ácidos estão distribuídos em diferentes estruturas químicas no AH.

A Figura 7 apresenta os espectros de RPE do marcador de 5-SASL na presença do AH ( $3 \text{ g L}^{-1}$ ) em similar pH (em torno de 7,5), mas em diferentes valores de concentração iônica.



**Figura 7.** Espectros de RPE do marcador 5-SASL ( $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ ) na presença do AH ( $3 \text{ g L}^{-1}$ ) em pH  $\sim 7,5$  em diferentes concentrações de cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ).

Os espectros de RPE mostram que o aumento da concentração iônica do meio induziu ao aumento da quantidade de sítios hidrofóbicos internos, verificado pelo surgimento da componente imobilizada. A quantificação foi feita por meio de integração dupla da área da componente imobilizada (I) em relação à da livre (II), sendo esta estimativa fornecida pelo cálculo da razão  $I/(I+II)$ . Assim, esta razão varia de

0 a 1, e quanto maior o seu valor maior a quantidade de moléculas de marcador de spin imobilizadas, ou seja, associadas a componente imobilizada. Esta alteração espectral ocasionou a variação dos valores estimados da razão I/(I+II) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Razão entre a área da componente imobilizada (I) pela soma de I e da componente livre (II) (razão I/(I+II)) obtida dos espectros de RPE do marcador 5-SASL ( $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ ) na presença da AH em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) e de pH.

Concentração de NaCl ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Concentração de AH ( $\text{g L}^{-1}$ )	pH	Razão I/(I+II)
0	3,0	4,5	1,0
0	3,0	7,6	0,5
2,0	3,0	7,5	0,9

Da Tabela 1 observa-se que, estando a suspensão de AH em valores pH próximos (em torno de 7,5), a razão I/(I+II) apresenta valores significativamente diferentes devido à presença de NaCl. Os valores para a razão I/(I+II) foram de aproximadamente 0,5 e 0,9, quando da ausência e presença de NaCl ( $2 \text{ mol L}^{-1}$ ), respectivamente. O valor de 0,9 para a razão I/(I+II), quando da presença de NaCl ( $2 \text{ mol L}^{-1}$ ), é similar ao valor obtido quando a análise foi feita em pH 4,5 sem a presença de NaCl.

A alteração do comportamento espectral do marcador de spin em função da concentração iônica do meio está associada à neutralização das cargas negativas, oriundas dos  $\text{COO}^-$ , pelo cátion  $\text{Na}^+$ , provenientes da dissociação do sal. Isto corrobora com os resultados obtidos por Wandruska e Engebreston<sup>17</sup>, utilizando a supressão de fluorescência. Conforme observado na Figura 6, o pH influenciou fortemente na conformação estrutural do AH, influenciando na quantidade de sítios hidrofóbicos internos. A maior ou menor influência foi atribuída a protonação (em  $\text{pH} \leq 5$ ) e desprotonação ( $\text{pH} > 5$ ) dos grupos ácidos, principalmente os  $\text{COOH}$  e, conseqüentemente, a menor ou maior repulsão eletrostática entre os íons  $\text{COO}^-$ . Com isto, os experimentos com variação da concentração iônica estão de acordo com os dados que mostraram a influência dos íons  $\text{COO}^-$  na conformação estrutural do AH, indicando que também a concentração iônica pode influenciar na conformação estrutural do AH.

## Conclusões

Por meio da metodologia de marcador de spin foi possível avaliar que as interações estabelecidas entre AH e marcadores de spin são predominantemente hidrofóbicas. Dados quantitativos mostraram que a diminuição da componente imobilizada (associada aos sítios

hidrofóbicos menos expostos ao meio aquoso) começa a ser evidenciada em pH em torno de 5. Este valor está próximo do  $\text{pK}_a$  dos  $\text{COOH}$  do AH, confirmando a influência dos grupos  $\text{COOH}$  na conformação estrutural dos AH, provavelmente por meio do estabelecimento de ligações de hidrogênio entre eles ( $\text{pH} \leq 5$  — conformação menos expandida) e repulsão eletrostática quando da ionização destes grupos ( $\text{pH} > 5$  — conformação mais expandida). Os resultados com variação da concentração iônica do meio sugerem a ocorrência de interações eletrostáticas entre cargas negativas (provenientes dos  $\text{COO}^-$ ) oriundas do AH e positivas ( $\text{Na}^+$ ) oriundas da dissociação do sal. A neutralização das cargas negativas contribui para a conformação estrutural menos expandida, favorecendo a formação de sítios hidrofóbicos menos expostos ao meio aquoso.

## Agradecimentos

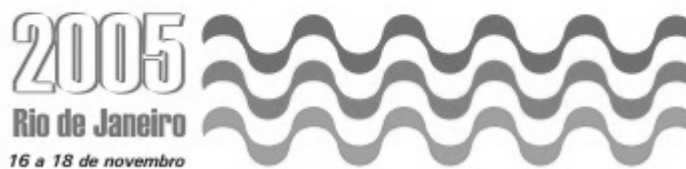
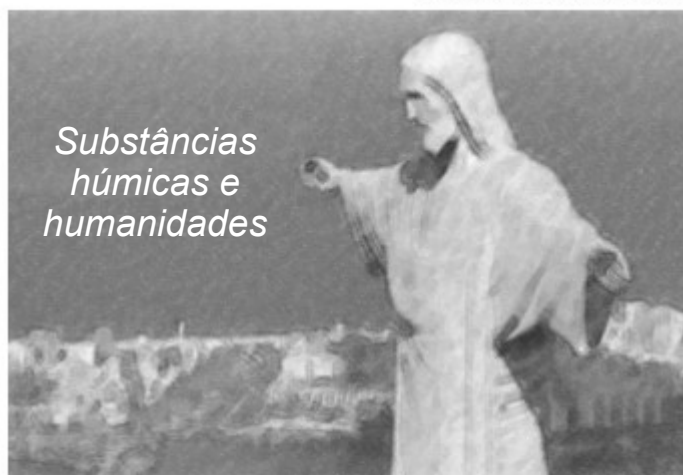
À Embrapa Instrumentação Agropecuária, pela infra-estrutura cedida. Ao programa de pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais/USP-EESC/IFSC/IQSC. Ao Dr. Cimélio Bayer/UFRGS, pelas amostras de solo.

- Stevenson, F. J. **1994**. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2. ed. New York: J. Wiley.
- Swift, R.S. *Soil Sci.* **1999**, 164, 790.
- Wershaw, R.L. *Soil Sci.* **1999**, 164, 803.
- Piccolo, A. *Soil Sci.* **2001**, 166, 810.
- Clapp, C.E.; Hayes, M.H.B. *Soil Sci.* **1999**, 164, 777.
- Burdon, J. **2001**. *Soil Sci.*, 66, 752.
- Hayes M.H.B.; Clapp, C.E. *Soil Sci.* **2001**, 166, 723.
- Maccarthy, P. *Soil Sci.* **2001**, 166, 738.
- Conte, P.; Piccolo, A. *Environ. Sci. Technol.* **1999**, 33, 1682.
- Hur, J.; Schlautman, M.A. *Environ. Sci. Technol.* **2003**, 37, 880.
- Avena, M.L.; Wilkinson, K.J. *Environ. Sci. Technol.* **2002**, 36, 5100.
- Jones, G.; Indig, G.L. *New J. Chem.* **1996**, 20, 221.
- Senesi, N.; Rizzi, F.R.; Dellino, P.; Acquafredda, P. *Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* **1997**, 127, 57.
- Brown, G.K.; Cabaniss, S.E.; Maccarthy, P.; Leenheer, J.A. *Analyt. Chim. Acta.* **1999**, 402, 183.
- Namjesnik-Dejanovic, K.; Maurice, P.A.; Aiken, G.R.; Cabaniss, S.; Chin, Y.P.; Pullin, M.J. *Soil Sci.* **2000**, 165, 545.
- Manning, T.J.; Bennett, T.; Milton, D. *Sci. Total Environ.* **2000**, 257, 171.
- Wandruska, R. von; Engebreston, R. **2001**. Kinetics of humic acid associations. In: Clapp, C.E.; Hayes, M.H.B.; Senesi, N.; Bloom, P.R.; Jardine, P.M. (Eds.) *Humic substances and chemical contaminants*. Madison, Soil Science Society of America. p.119-126.
- Simpson, M.J.; Chefetz, B.; Hatcher, P.G. *J. Environ. Qual.* **2003**, 32, 1750.
- Lead, J.R.; Wilkinson, K.J.; Starchev, K.; Canonica, S.; Baffle, J. **2000**. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 1365.
- Knowles, P.F.; Marsh, D.; Rattle, H.W.E. **1976**. *Magnetic resonance of biomolecules*. John Wiley & Sons, New York.
- Costa-Filho, A. J.; Shimoyama, Y.; Freed, J. H. *Biophys. J.* **2003**, 84, 2619.
- Campbell, I.D.; Dwek, R.A. **1984**. *Biological spectroscopy*. Menlo Park, Benjamin/Cumming.
- Ferreira, J.A.; Nascimento, O.R.; Martin-Neto, L. *Environ. Sci. Technol.* **2001**, 35, 761.
- Budil, D.E.; Lee, S.; Saxena, S.; Freed, J.H. *J. Magn. Reson.* **1996**, 120, 155.
- Ge, M.; Rananavare, S.B.; Freed, J.H. *Biochim. Biophys. Acta.* **1990**, 1036, 238.





## Seção 4



Todos os resumos publicados neste livro são reproduções de cópias fornecidas pelos autores. O conteúdo dos resumos é de responsabilidade exclusiva dos autores. O Comitê Organizador do VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas não se responsabiliza pelas conseqüências do uso de qualquer dado, afirmação ou opinião publicada neste livro.

# Distribuição de frações de substâncias húmicas em Terra Preta de Índio

Eduardo Henrique Beckman<sup>1</sup>(IC)\*, Lucas F. Souza<sup>1,2</sup>(IC), Maurício. R. Coelho<sup>3</sup>, Gilvan C. Martins<sup>4</sup>(PQ), Beata E. Madari<sup>5</sup>(PQ)

1 (IC) Universidade Federal Fluminense/Embrapa Solos, Rua Jardim Botânico, 1024, Rio de Janeiro, RJ, CEP22460-000; 2 (IC) Bolsista CNPq/PIBIC; 3 (PQ) Embrapa Solos; 4 (PQ) Embrapa Amazônia Ocidental; 5 (PQ) Embrapa Arroz e Feijão. \*e-mail: ebeckman@ig.com.br

Palavras Chave: Terra Preta de Índio, distribuição de substâncias húmicas

## Introdução

A maior parte dos solos agricultáveis na Região Amazônica são ácidos, com baixa capacidade de troca catiônica e baixa fertilidade. O solo é, portanto, um fator limitante para a produtividade e sustentabilidade de sistemas de produção agrícola.

Nesta mesma região ocorrem solos denominados de Terra Preta de Índio (TPI - ou terra preta arqueológica), geralmente altamente férteis (com elevados teores de P, Ca, Mg, Zn, Mn) e com teor elevado de matéria orgânica estável<sup>1,2</sup>.

Aparentemente, as TPIs formam microecossistemas próprios que não se esgotam rapidamente, mesmo nas condições tropicais em que estão expostos ou sob uso agrícola. Várias hipóteses foram aventadas sobre os processos de formação das TPIs, mas a mais aceita atualmente diz que as TPIs teriam sido formadas não intencionalmente pelo homem pré-histórico<sup>3</sup>.

Vale ressaltar que a matéria orgânica nas TPIs chega a ser 6 vezes mais estável que nos solos adjacentes sem horizonte A antropogênico<sup>4</sup>.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a distribuição vertical e horizontal de frações humificadas da matéria orgânica do solo (MOS) em Terra Preta de Índio (TPI).

As amostras foram retiradas de 2 áreas de TPI (P01 e P02), localizadas na área municipal de Rio Preto da Eva, AM, na propriedade Roda de Fogo. A primeira área (P01) situa-se em uma capoeira de 10 anos próximo a um pasto, o solo foi classificado como Argissolo Amarelo Distrófico antrópico de textura arenosa/média. A profundidade do horizonte A foi 82 cm, sendo observado também a presença de poucos cacos cerâmicos (<1%) nos três primeiros horizontes (Au1-3, até 58 cm).

A segunda área (P02) situa-se em uma floresta secundária, sendo o solo classificado como Argissolo Amarelo Distrófico antrópico. A profundidade do horizonte A foi 58cm, e verificou-se a presença de muito poucos fragmentos cerâmicos (<<<1%) nos três primeiros horizontes (Au1-3, até 32 cm).

Cada área foi amostrada em 4 pontos sendo um ponto central e 3 pontos de amostragem ao redor deste, cada em 50m de distância do ponto central.

Em cada ponto amostras foram coletadas em 7 profundidades (0-5,5-10,10-20,20-40,40-60,60-80 e 80-100 cm).

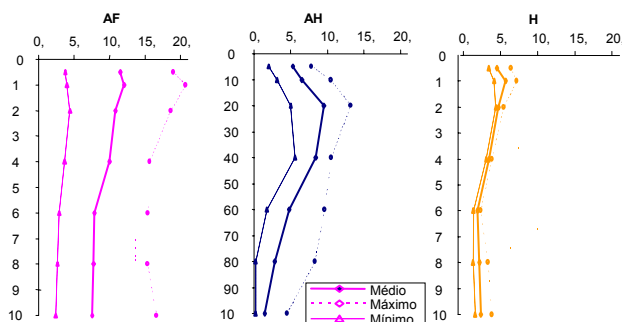
Foram determinadas o carbono (C) total pelo método Walkley-Black modificado<sup>3</sup> e as 3 frações das substâncias húmicas em cada ponto de amostragem em todas as profundidades, ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) e húmina (H), usando o método descrito por Benites et al.<sup>5</sup>.

## Resultados e Discussão

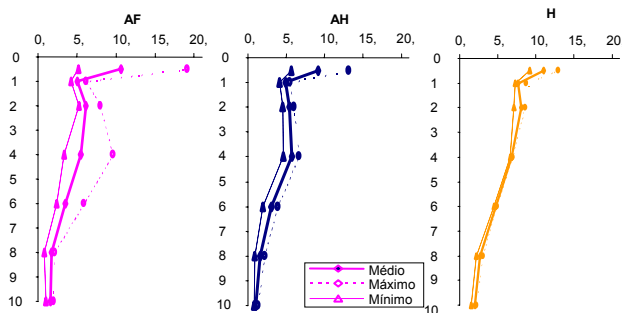
A distribuição vertical do C total na área P02 representou um padrão normalmente encontrado sob floresta. Na área P01 refletiu o efeito de uso recente (capoeira), principalmente na camada superficial (Figura 1). A distribuição do C total entre os pontos de amostragem foi mais variável na área P01.

A distribuição vertical das frações AH, AF e H nas duas áreas estudadas está apresentada nas Figuras 1 e 2. Na área P01 (capoeira), na camada do solo que demonstra efeito antrópico (0-60cm), a fração mais abundante foi a AF, seguido pela AH e H. Na área P02 (floresta secundária), nesta camada (0-40cm), a fração mais abundante era a H, seguido pela AF e AH. Este tipo de caracterização da distribuição de frações químicas da MOS na literatura não foi encontrada, o nosso grupo de pesquisa tem mais um perfil de solo antropogênico caracterizado neste sentido, onde a distribuição destas frações foi mais similar à área P02 (H>AH)<sup>7</sup>. Sendo a fração AF bastante lábil, a abundância medida desta fração depende da época da coleta, do tempo e condições de armazenamento de amostras e do uso do solo.

A distribuição das 3 frações foi bastante variável entre os 4 pontos de amostragem em ambas as áreas estudadas. Observou-se menor desvio padrão e variância na área P02 comparada com a área P01, tendo grandes variações nas frações de AF e AH, e menores na fração H.



**Figura 1.** Média da área P01 em g.C kg- 1 solo x Profundidade (cm)



**Figura 2.** Média da área P02 em g.C kg- 1 solo x Profundidade (cm)

## Conclusões

Grande heterogeneidade na distribuição de teores de outros parâmetros químicos foi também observada em outras áreas de ocorrência de Terra Preta de Índio<sup>1</sup>. A possível razão para a grande heterogeneidade é a própria origem destes solos (influência antrópica). Outra razão para a maior heterogeneidade da área P01 pode ser no uso recente deste solo que tem como cobertura atual uma capoeira de 10 anos. Na área P02 reflete a existência de uma cobertura vegetal mais estabelecida (>20 anos) que provavelmente promove uma distribuição mais homogênea de

propriedades do solo, incluindo a distribuição horizontal do C total e das frações mais estáveis (AH e H) da MOS. A diferença observada entre o valor medido de C total na área P01 e o calculado da soma das 3 frações humificadas (Figura 1) é provavelmente devido ao método da determinação de C utilizado, que não é adequado para a determinação de carbono mais estável presente neste solo (C pirogênico) em maiores quantidades do que na outra área.

## Agradecimentos

Agradecimento à Embrapa-Solos, e a todos que ajudaram no desenvolvimento desse trabalho.

<sup>1</sup> KERN, D.C. 1996. Geoquímica e pedoquímica de sítios arqueológicos com Terra Preta na Floresta Nacional de Caxiuanã (Portel-Pará). Tese (doutorado em Geoquímica), Curso de pós-graduação em Petrologia e geoquímica, UFPA, Belém, 1996.

<sup>2</sup> KERN, D.C. & KÄMPF, N. Antigos assentamentos indígenas na formação de solos com Terra Preta Arqueológica na região de Oriximiná, Pará. R.Bras.Ci.Solo, v.13, p.219-225, 1989.

<sup>3</sup> WOODS, W.I.; McCANN, J.M. El origen y persistencia de las tierras negras de la Amazonia. In: HIRAOKA, M.; MORA, S (eds.), Desarrollo Sostenible en la Amazonia. p. 23-30, 2001.

<sup>4</sup> GLASER, B.; GUGGENBERGER, G.; HAUMAIER, L. & ZECH, W. Persistence of soil organic matter in archaeological soils (terra preta) of the Brazilian Amazon region. In: REES, R.M.; BALL B.C.; CAMPBELL, C.D. & WATSON, C.A. (eds.), Sustainable management of soil organic matter, p.190-194, Wallingford:CABI Publishing, 2001.

<sup>5</sup> BENITES, V.M.; MADARI, B.E.; MACHADO, P.L.O.A. Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas: um procedimento simplificado de baixo custo. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, Comunicado Técnico 16, 7p. 2003

<sup>6</sup> EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solos. 2. Ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p. (EMBRAPA-CNPS. Documentos 1).

<sup>7</sup> SOUZA, L.F.; MADARI, B.E.; BENITES, V.M.; CUNHA, T.J.F.; NEVES, E.G. Relação entre a fertilidade e as substâncias húmicas numa terra preta na Amazônia. Anais Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 4p. 2003.

## Humosfera

Luciano Pasqualoto Canellas<sup>1\*</sup> (PQ), Gabriel de Araújo Santos<sup>2</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Laboratório de Solos, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, Avenida Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, CEP 28013-600 Campos - RJ. Bolsista do CNPq. <sup>2</sup>Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, km 47, Seropédica - RJ. Bolsista do CNPq. \*e-mail: canellas@uenf.br

Palavras Chave: matéria orgânica, agroecologia,

### Introdução

A idéia central apresentada nesse artigo é a de que a matéria orgânica do solo pode ser adotada como um indicador mensurável para avaliar, relativamente, a qualidade e a saúde do ambiente de produção agrícola. O conteúdo e a qualidade da matéria orgânica do solo são um reflexo da *história social* do seu uso e das *condições ecológicas* de sua formação. Como tal, seu manejo, então, não pode ser desvinculado de fatores e compromissos ideológicos que condicionam uma determinada ação, mesmo que isso possa soar estranho entre os profissionais da Agronomia. Tendo em conta a Agroecologia como uma Ciência (ou disciplina científica) e o solo como seu elemento fundamental, onde são processadas as relações entre os seres e os fluxos de massa e energia, busca-se, aqui, discutir as interrelações entre modo de produção (caracterizado pela dominação social e pelo conjunto de técnicas necessárias para obter um determinado produto agrícola) e parâmetros de qualidade da matéria orgânica. Mais do que um valor quantitativo inicial e um final ótimo ou desejável, o importante nesse indicador é o processo em si, como a qualidade da matéria orgânica é melhorada e suas conseqüências para a emancipação dos agricultores. Para tanto, fundamentamos brevemente na primeira parte do texto, as bases conceituais dos sistemas Agroecológicos e, numa segunda parte, mostramos exemplos de reflexos de práticas de manejo do solo que resultam em aumento da qualidade do mesmo. As práticas de manejo isoladas do contexto mais amplo por si só não refletem uma nova opção de produção e sim adaptação do modelo tradicional a pressões ecologistas superficiais e reducionistas que pipocam hoje nos Departamentos e Laboratórios das Universidades. Procuramos ainda, utilizar parâmetros universais para avaliação das práticas que possam ter, depois de contextualizadas, utilidade para um determinado sistema Agroecológico em particular. Para isso utilizamos o conceito de que o aumento de conteúdo de matéria orgânica alcalino solúvel condensada representa, em termos comparativos com as outras frações humificadas solúveis, uma diminuição teórica do nível de entropia no sistema

analisado. Isso posto, queremos dizer também que ao “realizar a síntese abrangente da totalidade da relação do homem com o mundo” pelo viés da Agroecologia indicamos que isso não é possível sem que a estrutura dessa relação seja acionada pela ideologia. Mesmo mediando todos os processos ecológicos que ocorrem no solo através da regulação do fluxo de massa e energia, a matéria orgânica, ou melhor, seu conteúdo, não pode ser usado como indicador de processos sem que isso implique em debruçar-se sobre questões filosóficas, econômicas e políticas mesmo que seja difícil ou desimportante como sugere a tecnologia agrícola convencional.

### Antecedentes

Uma série de trabalhos tem mostrado, com argumentos muito convincentes, que questões como ecologia e meio ambiente, tem servido para “manter a perenidade das condições de reprodução social de certas classes”. É necessário levantar alguns pontos de crítica a certos ecologismos (*a burguesia não vai tornar este planeta irrespirável e inabitável para si própria*)<sup>i</sup> uma vez que, as classes não se suicidam política e ecologicamente, e se “é verdade que o planeta está se tornando irrespirável e inabitável para milhões e milhões de pessoas que, em virtude dessa situação, diminuem sua expectativa de vida, nascem deformadas, ficam doentes e inválidas ou simplesmente morrem envenenadas”<sup>ii</sup>, porém, mantida essa situação dentro de certos limites “que não afetem o bem estar dos capitalistas em circunstâncias politicamente controláveis”<sup>i</sup> pode significar até algo positivo para o sistema. Em outras palavras, a crise ecológica do capitalismo é um elemento de crise, mas não do capitalismo que, ainda por cima, se beneficia dela. No plano econômico, o capital transforma as poluições e as degradações dos recursos naturais em “mercados”, isto é em novos campos de acumulação<sup>ii</sup> (ver mecanismo de desenvolvimento limpo e os novos mercados de carbono: [www.mct.gov.br/clima/quioto/mdl.htm](http://www.mct.gov.br/clima/quioto/mdl.htm)). Já o modo de produção “socialista real” herdou o princípio na crença absoluta da “Ciência como fator de progresso” e os grandes avanços tecnológicos e industriais oriundos de uma sociedade atrasada e baseada numa economia camponesa serviram para

o silêncio coletivo sobre o desastre ambiental ocorrido nos países sob influência da ex-União Soviética<sup>1</sup>. O desenvolvimento produtivo nesses moldes incluindo a Ciência e Tecnologia foram, na verdade, iguais ao modo capitalista somente com alterações superficiais nos resultados desse desenvolvimento. Com especial destaque para as Ciências Agrícolas. A pesquisa científica e a técnica foram mobilizadas para uma agricultura produtivista e poluidora, bem como, aos interesses poderosos do agronegócio ocidental. A Ciência passa ser um problema central para a crítica do capitalismo. Deriva daí a importância da Agroecologia como uma Ciência ou disciplina científica e não como mais uma prática ou política agrícola que co-habita o espaço com as demais.

Agroecologia tem sido reafirmada como uma ciência ou disciplina científica, ou seja, um campo de conhecimento de caráter multidisciplinar que apresenta uma série de princípios, conceitos e metodologias que nos permitem estudar, analisar, dirigir, desenhar e avaliar agroecossistemas<sup>iii</sup>. Tratada como uma ciência ela deve apresentar, portanto, pressupostos universais para tratar das realidades particulares. O papel da Ciência e das disciplinas científicas não é somente de catalogar e descobrir fatos e sim o de envolver a descoberta de princípios que subjazem e conectam os fenômenos naturais com os sociais. Assim, a Agroecologia é um dos elos possíveis entre a Filosofia e a Ideologia. O conhecimento consiste na apropriação do objeto pelo pensamento, por metodologia apropriada, a obtenção de uma percepção clara, de representação completa, de definição e análise dos fenômenos naturais é o que filosoficamente se define como conhecimento científico. A Ciência pode, portanto, ser definida como uma representação da realidade, um quadro abstrato, codificado, mas fiel da realidade, porque obtido dentro de regras estritas. O que particulariza a Agroecologia é uma metodologia inovadora distinta da metodologia científica tradicional. Essa inovação consiste em basicamente três pressupostos básicos: 1) A necessidade de compreensão do sistema a ser estudado como um sistema complexo impossível de ser isolado uma vez que o objeto de estudo Agroecológico são as inter-relações entre os seus distintos componentes. Disso decorrem dois fatos: o primeiro é a necessidade de imersão do pesquisador no problema e não seu distanciamento. A análise agroecológica só é possível a partir da análise de um processo que não pode ser pontuado ou descontextualizado do território e das pessoas que vivem nele. Por isso, mais importante do que o ponto de partida (Ho) ou de chegada, o que interessa para o cientista é o processo em si decorrente de sua ação investigadora. 2) A ação de investigação em Agroecologia só adquire sentido se servir para o resgate da cultura e do conhecimento

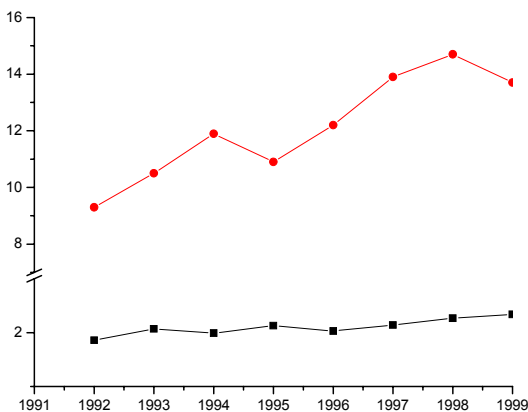
local e como tal não pode ser desvinculado de uma ação educativa decorrente da análise do processo agroecológico em observação. Essa ação educativa não deve resultar do ato do pesquisador ensinar algo para membros da comunidade e sim do possível choque cultural entre o pesquisador e a comunidade. Esse choque deve resultar no resgate e na valorização de um conhecimento que precisa evoluir. 3) Os experimentos Agroecológicos são totalizantes. Quer dizer, não é possível estabelecer um "campo experimental" com parcelas e repetições de um modo "controle de cultivo" constituído pela agricultura convencional e um tratamento "agroecológico" para comparação, situação tão corriqueira a estatística experimental. Os experimentos em agroecologia expressam o resultado da participação da comunidade, das pessoas envolvidas e da interação com o ambiente de produção. Assim, a Agroecologia é uma ciência eminentemente empírica cujo conhecimento científico depende da observação e da experiência tida com os objetos e fenômenos do mundo real com o objetivo de transformá-lo e a matemática estatística usada para descrevê-la provém da estatística não-paramétrica.

O conhecimento científico que depende da experiência consiste em construir esquemas ou modelos abstratos a partir dessa experiência; em explorar por meio da lógica, as relações entre os elementos abstratos com a finalidade de daí deduzir propriedades que correspondam com precisão suficiente às propriedades empíricas diretamente observadas. A dedução das propriedades que descrevem os diferentes processos nos sistemas Agroecológicos são um produto coletivo, oriundo da sistematização da experiência e não somente da habilidade intelectual de um único investigador. Os objetos das ciências empíricas são, portanto, abstrações mas, abstrações susceptíveis de serem vinculadas, segundo procedimentos regulados por constatações dos nossos sentidos, à realidade. As ciências empíricas são, então, formadas por observação da natureza e por teorias e hipóteses que podem ser com ela confrontadas. O que particulariza a Agroecologia com Ciência é a *necessidade de uma maior ênfase no conhecimento, na análise e na interpretação das complexas relações existentes entre as pessoas, os cultivos, o solo, a água e os animais*<sup>iii</sup>. Ou seja, mais do que um híbrido entre as ciências naturais e as sociais ela refunda, por necessidade, uma nova metodologia de pesquisa. Definida, então, *como o manejo ecológico dos recursos naturais através de formas de ação social coletiva que apresentam alternativas a atual crise civilizatória*<sup>iv</sup> ela se insere dentro de uma cosmovisão (universalidade) e os problemas levantados por ela são gerados a partir do enfoque indissociável da *práxis* do pesquisador (a indissociabilidade entre teoria e ação prática).



As técnicas e os conhecimentos são vinculados claramente a uma perspectiva ideológica. Nesse sentido Sevilla-Guzmán<sup>iv</sup> aponta que o enfoque Agroecológico aparece como uma resposta à lógica do neoliberalismo e a globalização econômica, bem como aos cânones da ciência convencional cuja crise epistemológica está dando lugar a uma nova epistemologia, participativa e de caráter político. E continua: *A natureza do sistema de dominação política em que se encontram as experiências produtivas que se articula com a sociedade civil para gerar essas redes de solidariedade tem muito que ver com o curso seguido pelas estratégias agroecológicas em sua busca de inserção nas políticas agrícolas. Em geral pode-se dizer que na situação mundial atual, os cursis da ação Agroecológica necessitam romper os marcos legais para desenvolver seus objetivos; que dizer que as redes produtivas geradas devem culminar em formas de ação social coletivas pretendendo adquirir a natureza de movimentos sociais<sup>iv</sup>.*

O fracasso das políticas públicas na Questão Agrária e práticas agrícolas inadequadas preconizadas pelo latifúndio (neonominado de agronegócio) contribuiu para uma pressão maior sobre a terra. O uso excessivo de fertilizantes e outros produtos químicos concorre para a degradação do solo e a poluição da água sem que isso, no entanto, representasse aumento de produtividade (Figura 1).



**Figura 1** Evolução da produção média de grãos no Brasil (■ em Mg ha<sup>-1</sup>) durante a década de 1990 e consumo de fertilizantes (● em milhões de Mg). Fonte: IBGE — *Produção Agrícola Municipal (período 1992/99)* e *Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (1991/1999)* e ANDA

O declínio e a estagnação da produção, bem como os aumentos exponenciais dos custos são decorrentes, pelo menos em parte, da degradação do ambiente de produção principalmente dos vários fatores relacionados ao solo.

## Humosfera

Na dinâmica do trabalho Agroecológico três perguntas-chaves devem ser realizadas<sup>iv</sup>: 1) Como deve ser levado a cabo o manejo dos recursos naturais para chegarmos a Agroecossistemas sustentáveis? 2) Porque o manejo escolhido deve ser levado a cabo dessa forma e não de outra? 3) Para quem resultariam os benefícios desse tipo de manejo? Assim, passo a passo, são estabelecidos três níveis: Um primeiro relacionado ao desenho tecnológico/agronômico do Agroecossistema (a intervenção), o segundo num nível metodológico e o terceiro, epistemológico. Assumindo essas premissas como válidas e necessárias, qualquer opção ou desenho agroecológico deve levar em conta o conteúdo e a qualidade da matéria orgânica do solo uma vez que ela depende intimamente de fatores ecológicos abióticos (temperatura, pluviosidade, relevo, material geológico de origem do solo), fatores bióticos (macro e micro organismos) e, principalmente, sociais (o modo de produção). Dessa forma, quando Altieri<sup>v</sup> indica os processos Agroecológicos que devem ser otimizados pelas novas tecnologias agroecológicas todos eles tem reflexo direto e indireto sobre a matéria orgânica do solo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Processos Agroecológicos otimizados através do uso de tecnologias Agroecológicas de acordo com a visão de Altieri<sup>v</sup>

Acumulação de matéria orgânica e ciclagem de nutrientes
Atividade Biológica do Solo
Mecanismo de controle natural de pragas e doenças
Conservação e regeneração dos recursos solo, água e germoplasma
Aumento geral da biodiversidade e sinergismo entre os componentes do Agroecossistema

As tecnologias desenvolvidas para o processo de produção sustentada têm como aspecto central o fortalecimento da organização política e social das comunidades de agricultores, através da valorização de seus conhecimentos sobre a natureza e da sua cultura de modo geral. Isso implica, para o ambiente de produção, no manejo da matéria orgânica do solo.

Essa relação íntima e complexa é denominada aqui da *esfera de influência da matéria orgânica sobre as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo bem como reflexo do modo de produção utilizado, isto é, é um reflexo do itinerário tecnológico da atividade do agricultor.*

Assim, para Marx<sup>vi</sup>, *“cada progresso da agricultura capitalista é um progresso não somente na arte de explorar o trabalhador, mas também na*

arte de deprender o solo, cada progresso na arte de aumentar a fertilidade por um certo tempo torna-se um progresso na ruína das fontes duradouras da Fertilidade". As fontes duradouras da fertilidade do solo provém da ação da *Humosfera*.

A metodologia de análise de ação da esfera de influência da matéria orgânica, sob essa perspectiva, ainda está para ser concluída. Isso não impede, no entanto, que se proponha hoje algo mais concreto. Sob uma ótica universalista, indicamos a ubiquidade das substâncias húmicas. Elas estão presentes nos solos, nas águas e nos sedimentos. A sua formação é decorrente da ação direta de todos os processos ecológicos que ocorrem no solo implicando na rápida decomposição dos resíduos orgânicos que chegam ao solo pelos micro e macroorganismos, pela síntese e resíntese bioquímica de novos compostos e pela sua estabilização química e, posteriormente, física com a fração mineral do solo. A velocidade e a direção desses processos são dirigidas por fatores abióticos (temperatura, pluviosidade, radiação solar, quantidade de íons), bióticos (ecologia de macro e microorganismos) e pela ação humana. Por exemplo, ao direcionar o fluxo energético da fotossíntese para a obtenção de um produto agrícola com valor de mercado, a atividade agrícola simplifica uma rede complexa de inter-relações biológicas que ocorriam naturalmente para artificializar um sistema, rompendo um equilíbrio prévio. Para sustentação dessa simplificação são necessários aportes maciços de massa e energia, implicando na degradação de sistemas vizinhos com repercussões globais. Assim, se a ciclagem de nutrientes é interrompida pela agricultura convencional, lança-se mão de adubos e fertilizantes solúveis oriundo de jazidas minerais ou de fabricação sintética; se o equilíbrio da ecologia dos microrganismos que retiram do carbono a sua energia é rompido as pragas e doenças devem ser necessariamente controladas por pesticidas e assim por diante. A perturbação do ambiente natural leva então a diminuição da quantidade de matéria orgânica e a redução da sua qualidade. Se a dinâmica do processo de humificação é alterado devido ao modo de produção e usas frações que são por definição quimicamente estáveis também o são, podemos indicar que essa alteração corresponde a um indicador do modo de produção desenvolvido no agrossistema. A formação de substâncias húmicas representa um sistema químico complexo que pode ser analisado pelas leis universais da Termodinâmica e da Termoquímica. A produção de substâncias húmicas alcalino-solúveis mais condensadas i.e. os ácidos húmicos

representam a formação de um sistema de substâncias termodinamicamente mais estáveis que os ácidos fúlvicos. O manejo Agroecológico do solo deve então, preconizar i) aumento da humosfera ii) aumento no conteúdo de ácidos húmicos no sistema iii) fortalecimento dos agricultores. Porém, de que adianta aumentar a quantidade e a qualidade da matéria se trabalhadores e trabalhadoras rurais são submetidos a condição análogas a de escravo em pleno século XXI, ou ainda, contaminamos nosso solo e mananciais com glifosato e outros agrotóxicos em nome de suposto menor custo de produção? Esse indicador deve ser composto por uma variável social inerente a Agroecologia.

## Conclusão

A nova sociedade em formação tem que competir muito duramente com o passado. Isto se faz sentir não só na consciência individual – onde pesam os resíduos de uma educação sistematicamente orientada ao isolamento do indivíduo - mas também pelo caráter mesmo deste período de transição, com persistência das relações mercantis que corrompem e impedem a mistura dos diferentes domínios - o mineral, o vegetal, o animal, o humano e o cósmico. Séculos e séculos de civilização separaram e catalogaram esses domínios, compartimentando a nossa mente e o mundo, que são unidas aqui e agora numa perspectiva de resistência anticapitalista e de mudança de pensamento onde o corpo social se confunde com os minerais, as plantas, os animais e as estrelas, porque se entranha neles através da esfera de ação do húmus. Assumimos que também há uma representação simbólica da condensação de forças de natureza distintas - sociais e naturais - da qual a Agroecologia se alimenta ao absorver e reciclar a matéria orgânica. As artérias por onde passa a seiva são as esferas dos laços indissolúveis entre Eros e Tanatos, ou seja, entre os vivos e os mortos, numa marcha da velha para a nova sociedade. É a humosfera

## Referências

- <sup>i</sup> Genro, A. Ecologismo e Marxismo: dois pesos e duas medidas. In: Filosofia Profana, Porto Alegre, Tchê. 1986.
- <sup>ii</sup> Chesnais, F. & Claude Serfati. 2002. [www.unicamp.br/cemarx/criticamarxista/16chesnais.pdf](http://www.unicamp.br/cemarx/criticamarxista/16chesnais.pdf)
- <sup>iii</sup> Caporal, F.R. & CostaBeber, J.A. Agroecologia: enfoque científico e estratégico. EMATER-RS, Porto Alegre, 2002. 4p
- <sup>iv</sup> Sevilla-Gusmán, E. La agroecologia como estratégia de transformación social. [http://agroeco.org/brasil/books\\_port.html](http://agroeco.org/brasil/books_port.html)
- <sup>v</sup> Altieri, M. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 93: 1–24, 2002.
- <sup>vi</sup> Marx, K. O Capital. Livro I, última seção do capítulo XV. Loyola, Rio de Janeiro, 1987.



## Seção 5



Todos os resumos publicados neste livro são reproduções de cópias fornecidas pelos autores. O conteúdo dos resumos é de responsabilidade exclusiva dos autores. O Comitê Organizador do VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas não se responsabiliza pelas conseqüências do uso de qualquer dado, afirmação ou opinião publicada neste livro.

## Caracterização espectroscópica de frações químicas de substâncias húmicas extraídas de solos representativos do Estado de São Paulo

Vanessa Zulueta Antonio<sup>1\*</sup>(IC), Cleber Hilário dos Santos<sup>1,2\*</sup>(IC), Débora M. B. P. Milori<sup>1</sup>(PQ), Ladislau Martin-Neto<sup>1</sup>(PQ), Helder V. A. Galeti<sup>1,3</sup>(PG), Wilson T. L. Silva<sup>1</sup>(PQ), Wanderley José Melo<sup>4</sup>(PQ)

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, 1452, Cp. 741, CEP: 13560-970, São Carlos, SP.

<sup>2</sup>Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, Av. Trabalhador São Carlense, 400, Cp. 780, CEP:

13560-970, São Carlos, SP. <sup>3</sup>Universidade Federal de São Carlos, (UFSCAR), Departamento de Química, Rodovia Washington Luís (SP-310), Km 235, CEP: 13565-905, São Carlos, SP. <sup>4</sup>Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Departamento de Tecnologia, Rodovia Carlos Tonani, Km 05, CEP: 14870-000, Jaboticabal, SP. \*e-mail: va\_cuca@yahoo.com.br

Palavras Chaves: Ácido Húmico, Humificação, Espectroscopia.

### Introdução

Dentre os diversos componentes do solo, a matéria orgânica (M.O.) desempenha papel primordial na qualidade do mesmo. Isto ocorre, devido à influência que a quantidade e qualidade de M.O. têm sobre as propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos, tais como: diferenças de pH, capacidade de troca iônica, e a estrutura do solo (Zech et al., 1997). Podem-se destacar os efeitos na melhoria e estabilidade de agregados, diminuição da plasticidade, aumento da capacidade de reter água, aumento da capacidade de troca de cátions (CTC) e também na respiração microbiana (Schnitzer&Khan, 1978; Fassbender, 1980; Lovley et al, 1996; Preston, 1996; Zhang et al, 1997; Salinas-Garcia et al., 1997).

Adicionalmente, a MO é, geralmente, o principal sítio de sorção para pesticidas e metais pesados no solo (Senesi, 1992; Sposito et al., 1996; Murphy&Zachara, 1995; Martin-Neto et al, 1994; Vaz et al., 1996). A determinação precisa do teor de MO é importante sob diversos aspectos. Primeiramente, do ponto de vista do estabelecimento de práticas de manejo para o cultivo de plantas, uma vez que a MO desempenha um papel importante no fornecimento de nutrientes para as plantas, Além disso, o conteúdo de MO tem sido usado como um parâmetro que auxilia nas recomendações de aplicações de nitrogênio, enxofre, calcário e herbicidas (Hummel et al. 1996). Esses aspectos são muito importantes e atuais considerando a necessidade de práticas que levem a um desenvolvimento sustentável o qual inclui práticas dentro de uma "agricultura de precisão".

A matéria orgânica é constituída de uma mistura heterogênea de compostos em vários estágios de decomposição, resultado da degradação biológica de resíduos animais e vegetais por meio da atividade de diversos microrganismos.

Os compostos contidos na matéria orgânica do solo podem ser agrupados em substâncias húmicas e não húmicas.

As substâncias húmicas estão relacionadas com a fertilidade do solo e por isso, são componentes importantes para que haja um aumento na produção alimentícia. Além do mérito da contribuição para a agricultura, as SH exercem função primordial na estabilização de agregados do solo, bem como participam de processos que envolvem seqüestro de carbono atmosférico para o solo.

Considerando-se aspectos complexos e fundamentais para o estudo qualitativo da matéria orgânica, cita-se o uso de técnicas espectroscópicas, especialmente as ópticas e de ressonância magnética nuclear e eletrônica.

Os índices de humificação obtidos através das técnicas espectroscópicas, permitem a avaliação do grau de humificação das substâncias húmicas. No presente trabalho, as técnicas utilizadas resumem-se à Absorção de luz uv-visível (UV-Vis), Fluorescência de amostras em solução e Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).

O presente trabalho teve como objetivo principal o estudo da fração química (ácido húmico) das substâncias húmicas por meio das técnicas espectroscópicas de fluorescência, infravermelho com transformada de Fourier e UV-visível. Deste modo, as informações obtidas serviram de auxílio na caracterização e avaliação dos ácidos húmicos presentes nos solos do Estado de São Paulo.

A espectroscopia na região do infravermelho, com transformada de Fourier (FTIR), dos AH foi realizada na faixa de  $400\text{cm}^{-1}$  a  $4.000\text{cm}^{-1}$ , utilizando-se pastilhas com  $1,0\pm 0,1\text{mg}$  de AH em  $100,0\pm 0,1\text{mg}$  de KBr seco num espectrofotômetro Shimadzu (modelo FTIR-8300). Cada amostra de ácido húmico foi dissolvida em uma solução de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ )  $0,05\text{molL}^{-1}$  com concentração de 20ppm. Essa concentração foi utilizada para minimizar o efeito de reabsorção de fluorescência e reduzir interação entre moléculas. O pH final das soluções ficou em torno de 8,0. Após a preparação das soluções, os espectros de emissão de fluorescência, excitação, e varredura sincronizada foram medidos utilizando-se o



espectrofotômetro de luminescência Perkin Elmer LS-50B. A abertura das fendas de entrada e de saída foi 10nm e a velocidade de aquisição foi de 500nm/min.

Os espectros de emissão foram medidos com excitação em 240nm e 465nm. O grau de humificação foi determinado através das metodologias propostas por Milori et al. (2002), Zsolnay et al. (1999) e Kalbitz et al. (1999).

As mesmas soluções que foram usadas na espectroscopia de fluorescência foram utilizadas na absorção de ultravioleta-visível, onde foi avaliada a razão  $E_4/E_6$  para respaldar a metodologia de infravermelho. Os dados foram obtidos com um espectrofotômetro de absorção de luz UV-Visível Shimadzu, modelo UV-1601PC.

Os espectros de emissão foram medidos com excitação em 240nm e 465nm. O grau de humificação foi determinado através das metodologias propostas por Milori et al. (2002), Zsolnay et al. (1999) e Kalbitz et al. (1999).

As mesmas soluções que foram usadas na espectroscopia de fluorescência foram utilizadas na absorção de ultravioleta-visível, onde foi avaliada a razão  $E_4/E_6$  para respaldar a metodologia de infravermelho. Os dados foram obtidos com um espectrofotômetro de absorção de luz UV-Visível Shimadzu, modelo UV-1601PC.

Foram utilizadas 12 amostras do solo latossolo vermelho, divididas sobre três sistemas de manejo: preparo convencional (PC), mata nativa (MN) e plantio direto (PD). As amostras foram coletadas em profundidades 0-10 cm; 10-20 cm; 20-40 cm; 40-60 cm. Amostras retiradas do mesmo solo sob mata nativa foram utilizadas como referência.

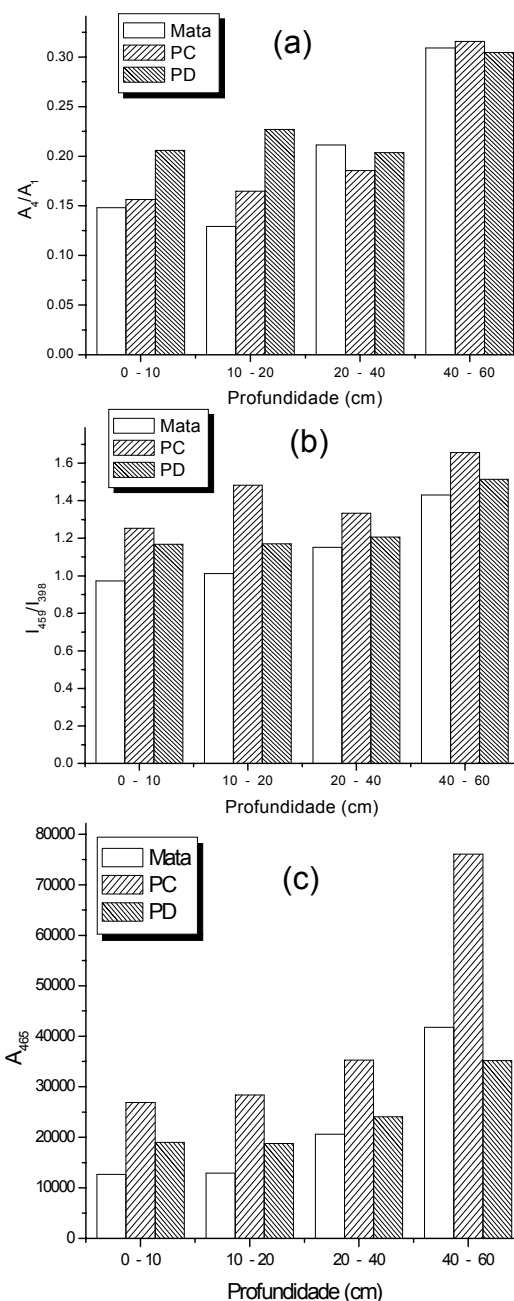
Todas as amostras de solos foram submetidas a um fracionamento químico das substâncias húmicas por diferença de solubilidade, seguindo a metodologia recomendada pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS).

## Resultados e Discussão

A análise espectroscópica dos AH permitiu a obtenção de índices de humificação pelas técnicas de fluorescência (utilizando as metodologias de Milori ( $A_{465}$ ), Zsolnay ( $A_4 / A_1$ ) e Kalbitz ( $I_{459}/I_{398}$ )).

A figura 1 apresenta os resultados dos índices de humificação obtidos pelas técnicas de fluorescência (utilizando as metodologias de Milori ( $A_{465}$ ), Zsolnay ( $I_{459}/I_{398}$ ) e Kalbitz ( $I_{459}/I_{398}$ )) das amostras de solo de Latossolo Vermelho e seu comportamento em função da profundidade com relação à superfície.

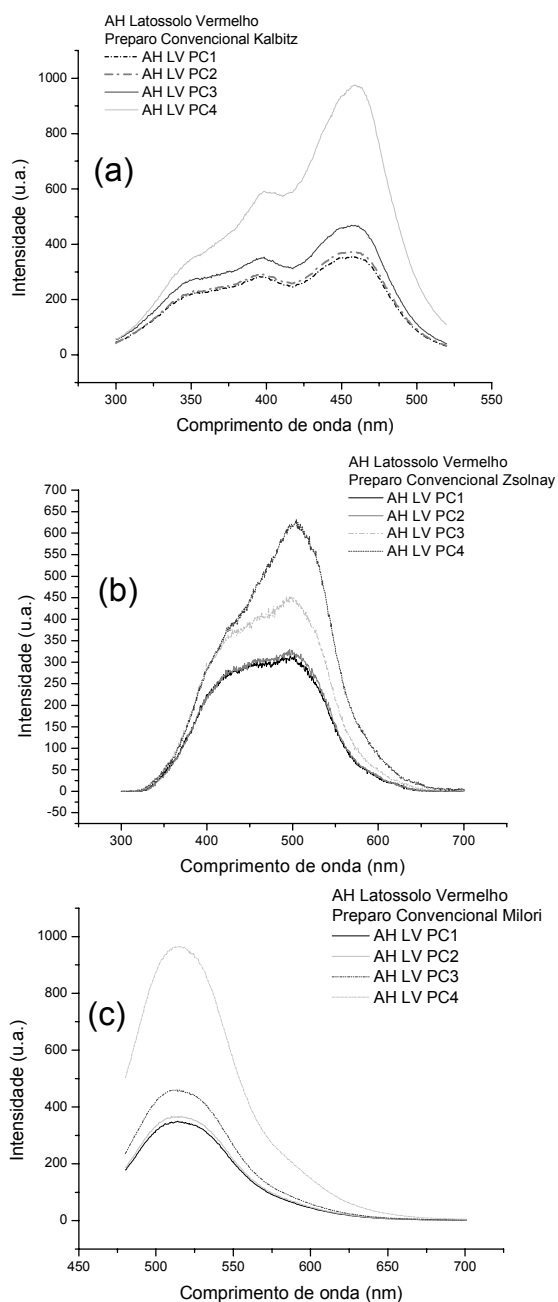
No preparo convencional a matéria orgânica é revolvida na superfície, o que leva à semelhança dos primeiros índices de humificação das profundidades iniciais apresentados até então. O mesmo não se observa em relação ao plantio direto e mata nativa.



**Figura 1:** Grau de humificação de ácidos húmicos de Latossolo Vermelho sob diferentes sistemas de manejo avaliado a partir dos índices  $A_4/A_1$  (a),  $I_{459}/I_{398}$  (b) e  $A_{465}$  (c). PC=preparo convencional, PD=plantio direto, CN=campo nativo.

Já no plantio direto o solo é movimentado o mínimo possível para abertura do sulco, onde é depositada a semente. Desta forma, os resíduos acumulados permanecem na superfície do solo e sua decomposição e incorporação são mais lentas por ter menor contato com o microorganismos, o que leva à retenção dos produtos resultantes da decomposição dos restos vegetais e de origem microbiana no solo. Nesse processo, a matéria orgânica na superfície do solo tende a ser menos humificada em relação às profundidades maiores. A mesma idéia se verifica em solos de Mata Nativa.

Os espectros obtidos através da espectroscopia de fluorescência em solução estão representados na figura 2.

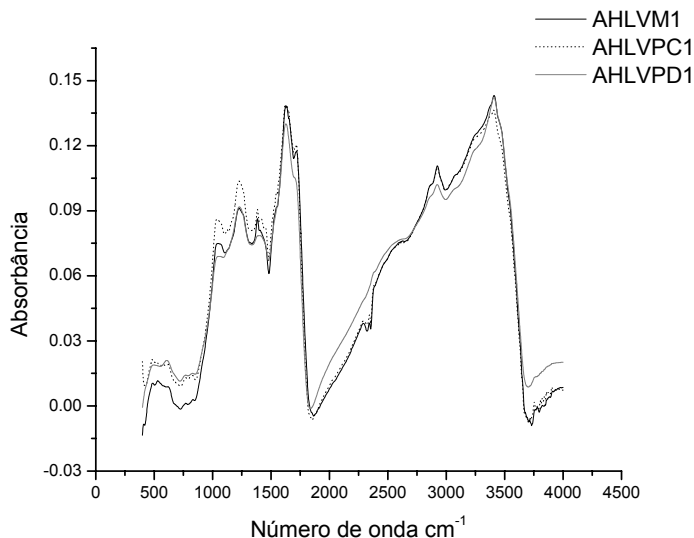


**Figura 2:** Espectros de Fluorescência adquirido em modo de varredura sincronizada com  $\Delta\lambda=55\text{nm}$  (a), modo de emissão com excitação em 240nm (b) e em modo de emissão com excitação em 465nm (c).

Foram obtidos espectros de infravermelho relacionados às amostras de AH de solo em diferentes profundidades.

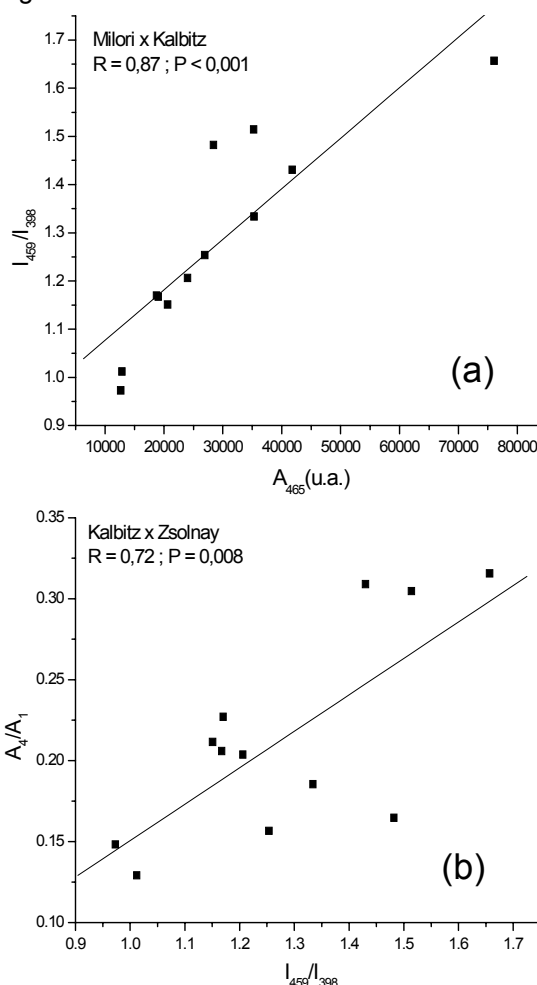
Os espectros obtidos através da espectroscopia de FTIR das amostras de Ácidos Húmicos estão representados na figura 3.

Os espectros de FTIR medidos são típicos para ácido húmico. As análises espectrais estão associadas aos seguintes grupos funcionais: amina, carbonila, hidroxila e carboxila.



**Figura 3:** Espectros de FTIR das amostras de Ácidos Húmicos de Latossolo Vermelho.

Os índices de humificação para os ácidos húmicos extraídos do argissolo vermelho apresentaram excelentes correlações entre as metodologias. As correlações estão representadas na figura 4.



**Figura 4:** Correlação entre os valores dos índices  $A_{465}$  e  $I_{459}/I_{398}$  (a) e  $I_{459}/I_{398}$  e  $A_4/A_1$  (b) de amostras de ácidos húmicos de Latossolo Vermelho submetidos a diferentes sistemas de manejo.

## Conclusões

Os resultados mostraram que as técnicas espectroscópicas utilizadas no presente trabalho fornecem resultados coerentes acerca do grau de humificação da matéria orgânica; exceto a técnica de UV – Visível, já que não foi possível estabelecer uma correlação entre os resultados obtidos devido à grande dispersão dos pontos relativos aos valores medidos.

As três metodologias de fluorescência empregadas Milori, Kalbitz e Zsolnay possuem diferentes princípios, mas com a mesma finalidade da avaliar o grau de humificação de substâncias húmicas.

Os espectros de FTIR medidos não mostraram diferenças significativas nas bandas de absorção.

## Agradecimentos

Embrapa Instrumentação Agropecuária - São Carlos, SP.

Universidade Federal de São Carlos – São Carlos, SP.

<sup>1</sup>Kalbitz, K.; Geyer, W.; Geyer, S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances – a reflection of land use history in a fen area. *Biogeochemistry*, v. 47, p. 219-238, 1999.

<sup>2</sup>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* 2002.

<sup>3</sup>Prado, A. G. S.; Souza, S. M.; Silva, W. T. L.; Rezende, M. O. O.; *Química Nova*, 1996, 22, 894-896.

<sup>4</sup>Stevenson, F.J. *Humus chemistry: genesis, composition, reaction*. New York: Wiley Interscience, 443 p. 1994.

<sup>5</sup>Zsolnay, A., E. Baigar, M. Jimenez, B. Steinweg, and F. Saccomandi, 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* 38:45-50.

## Redox properties of soil humic acids after long time of continuous vinasse application in sugar-cane cultivation

Marius Altoé Baldotto<sup>1,\*</sup> (PG), Ary Carlos Xavier Velloso<sup>1</sup> (PQ), Luciano Pasqualoto Canellas<sup>1</sup> (PQ), Maria Cristina Canela<sup>2</sup> (PQ), Gabriel de Araújo Santos<sup>3</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias – CCTA/Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, Av. Alberto Lamego, s/n, CEP 28013-602 Campos dos Goytacazes (RJ).

<sup>2</sup>Centro de Ciências e Tecnologias – CCT/UENF.

<sup>3</sup>Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ. \*e-mail: marihus@uenf.br

Key words: oxidation capacity, formal electrode potential, humic substances

### Introduction

The sugar-cane exploration in Rio de Janeiro State gets confused with the Brazil history, and the cultivations in Campos dos Goytacazes commenced in the XVII th century after the cut of the native forestry (Atlantic Forestry). In general, the sugar-cane cultivation involved forms of soil management that little or nothing contributes to protection and maintenance of soil conservation. The intensive use of machines during soil tiling and fire at crop harvesting contribute to degradation of soil organic matter (SOM), decreasing soil fertility and plant productivity.

Organic matter preservation is the initial step for recovering the soil biological, chemical and physical properties, resulting in the reduction of erosion, environmental pollution and increase of soil fertility. The following stage after SOM maintenance is its increment, mainly in tropical soils, because the principal electrochemical processes involving the soil charge dynamics depend of the soil humus, which is fundamentally due to quinone, carboxylic and phenolic functional groups in humic substances (HS).

The humic acids (HA) can act as an oxidant or reductant depending on the system redox. In natural systems the electron flow is directly associated with humus content and quality. The soil formation, the nutrients biogeochemical cycle, besides the soil fertility, are associated to redox reactions.

HS participate in redox reactions with elements in soil such as Fe(III), Mn(IV), Hg(II)<sup>3</sup>. The increased reaction rates were attributed to quinone moieties in HS. However, few direct measurements of their redox properties, such as the formal electrode potential ( $E^{\circ}_H$ ), have been reported.

The objective of this study was to determine the changes in electrochemical characteristics of HA extracted from a soil following over 35 years with vinasse inputs applied by sprinkle irrigation at a rate of 120 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>.

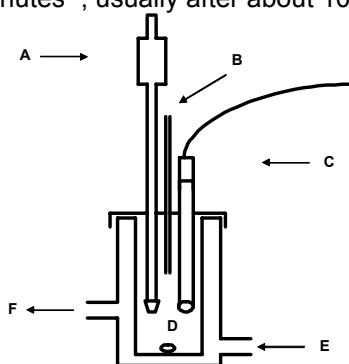
### Material and Methods

The study site was located at Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro State (between 41° 00' – 41° 30' W and 21° 00' – 21° 30' S), on a flat uniform area, 12 m above sea level, mapped as Entisol and classified as vertic Fluventic Eutrochrepts. Parent materials consist of alluvial franc clay neogenic sediments. The location has a long-term precipitation average of 1.080 mm year<sup>-1</sup>, a mean annual temperature of 24.5 °C and Aw climate (Köppen classification). Three 0.05 ha plots for the field that had been under vinasse inputs for 35 years (vinasse), and for the adjacent crop area that had never received applications (testimony) were sampled in February 2002. The plots (without and with vinasse applications) under sugar-cane were adjacent to one another. For each case soil was sampled at two depths (0.00-0.20 and 0.20-0.40 m). Composed samples from each plot resulted in ten random cores that were taken from each plot at the respective depth with a 5 cm diameter-tube auger and bulked. At the laboratory the composed samples were air dried, ground to pass through a 2 mm sieve and stored under laboratory conditions for soil and HA characterization and study<sup>1</sup>.

Unfortunately, no records for the 35-year period of the chemical characteristics of the soil from each plot are available, not are all the data available concerning the amounts and kinds of fertilizers used. However, because the two plots (with and without vinasse) were part of the same flat morphologically uniform area (as also assumed by interviewed landowners), and because at the soil sampling time no spatial variability across each plot area was found, the differences in the two plots can be equated to changes induced by long-term management practices (since 1966), on the assumption that the vinasse applications management results in a relatively more complex ecosystem.

After the soils and HA characterization, redox titrations of the HA<sup>3</sup> samples under argon (Ar) gas in aqueous suspension were performed by oxidation with I<sub>2</sub>. The oxidant solution, for each titration, was standardized with sodium thiosulfate. The titration

vessel was a 200 mL hermetical flask, kept at room temperature by continuous water flow, with a top cap prepared to accommodate using silicone as a seal a pH combination electrode, a platinum redox combination electrode, an Ar gas inlet tube, an a 2 mL microburet (Figure 1). For each titration the pH meter was calibrated using pH 4 and pH 7 buffers. Accordingly, for each titration, the Pt redox electrode (reference electrode 1 mol L<sup>-1</sup> KCl, AgCl, Ag) was checked with a ferric-ferrous redox buffer. This solution consisted of 0.100 mol L<sup>-1</sup> ferrous ammonium sulfate (39.21g L<sup>-1</sup> Fe(NH<sub>4</sub>)(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O), 0.100 mol L<sup>-1</sup> ferric ammonium sulfate (42.22g L<sup>-1</sup> FeNH<sub>4</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·12H<sub>2</sub>O) and 1.00 mol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (56.2 mL L<sup>-1</sup> concentrate H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). An emf<sub>cell</sub> = 439 ± 5 mV indicates a properly functioning Pt electrode<sup>2</sup>. For each titration, 125 mL of a combined phosphate buffer solution (0.05 mol L<sup>-1</sup> phosphate buffer plus (0.05 mol L<sup>-1</sup> NaHPO<sub>4</sub> and 0.05 mol L<sup>-1</sup> NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O) with 0.05 mol L<sup>-1</sup> KCl, were added to the titration vessel, the pH adjusted with HCl or NaOH to pH 5 or 7, and then purged with Ar for 60 minutes for O<sub>2</sub> depletion. HA was added to give a suspension concentration of 50 mg L<sup>-1</sup> (6.25 mg HA suspended in 125 mL 0.05 KCl, 0.05 mol L<sup>-1</sup> phosphate buffer solution), the suspension then being bubbled further for 30 minutes. After the HA suspension deaerated its pH value was checked and readjusted to pH 5.00 or 7.00 before beginning the titration. When the change in cell emf was no more than 2 mV minute<sup>-1</sup>, the pH value, emf, and volume of I<sub>2</sub> (aq) remaining in the microburet were recorded as starting values. In titration, 2 μL increments of 0.025 m I<sub>2</sub> solution (m = molinity, moles solute per kg solution) were added and after each addition of oxidizer the solution was stirred and bubbled with Ar for 30 seconds to facilitate mixing. After waiting 30 seconds for the colloidal HA to settle, the electrodes, lowered into the supernatant solution, indicate the emf value, then, it was recorded until its drift was no more than 2.0 mV minutes<sup>-1</sup>, usually after about 10-15 minutes.



**Figure 1.** Redox titration system. A. 2 mL microburet; B. Ar gas inlet tube; C. Platinum redox combination electrode (AgCl, Ag); D. Magnetic agitator; E and F. Water 25 °C flow.

Titration curves were continued until virtually constant values of the cell emf were obtained after addition of

I<sub>2</sub> solution. Each titration required approximately 2.5-5 hours.

Oxidation capacity (Ox.C.) is the moles of charge per unit mass that a compound transfers to a strong oxidant (mol<sub>c</sub> kg<sup>-1</sup>), than was determined by continuous redox titration was chosen, principally because it provides information about the phenolic moieties in HA. Using iodine as the oxidant, were performed titrations at pH 5 and pH 7, in the absence of oxygen, to discern whether the redox properties of soil HA samples are pH-dependent. The data were examined for correlations between oxidation capacity and the HA free radical concentration to provide information about the role of HA quinones in electron transfer reactions.

The values measured during a redox titration (emf<sub>cell</sub>) can be interpreted with the equation<sup>3</sup>:

$$\text{emf}_{\text{cell}} = {}^{\text{F}}E_{\text{H}}^{\circ}(\text{HA}_{\text{ox}}, \text{HA}_{\text{red}}) - E_{\text{H}}^{\circ}(\text{AgCl}, \text{Ag})$$

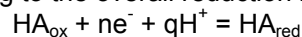
where  $E_{\text{H}}^{\circ}(\text{AgCl}, \text{Ag}) = 222 \text{ mV}$  is the standard electrode potential of the AgCl (with KCl 1 mol L<sup>-1</sup>), Ag reference electrode at 25 °C, relative to the standard hydrogen electrode (SHE) and  ${}^{\text{F}}E_{\text{H}}^{\circ}(\text{HA}_{\text{ox}}, \text{HA}_{\text{red}})$  is the formal electrode potential of the HA half-cell with respect to the SHE measured under conditions such that the ratio of analytical concentrations of reactants and products as they appear in the Nernst equation is exactly unit and the concentrations of other species in the system are all carefully specified. The transfer of electrons associated with the oxidation of HA is measured at the Pt electrode, with the reduction reaction in the AgCl, Ag reference electrode occurring concurrently. Titration data consist of emf<sub>cell</sub> (mV) as a function of the moles of charge transferred per unit mass of HA (mol<sub>c</sub> kg HA<sup>-1</sup>), which is calculated using the equation<sup>3</sup>:

$$\text{mol}_c \text{ kg}^{-1} = \frac{2 \text{ mol}_c}{\text{mol}_c \text{ I}} \times \frac{(\text{molinity I}_2 \text{ soln} \times \text{density I}_2 \text{ soln})}{\text{HA mass}}$$

Starting from the titration curves, the inflection point was located from the second derivative of the adjusted function, using the software Origin®. An inflection point was located on each curve and its position was used to determine emf<sub>cell</sub> (ordinate-axis) and oxidation capacity (abscissa-axis). Titrations of blank solutions without HA showed no measurable oxidation capacity in the region of the inflection points for all HA samples investigated. No correction of the observed oxidation capacity for loss of I<sub>2</sub> solely by sorption reactions with HA was made. Organic iodine formation by reduction of iodate also was neglected because of the high chlorinity and anaerobic conditions in our samples. At the inflection point, it follows from the conventional Nernst equation 3:

$$\text{emf}_{\text{cell}} = {}^{\text{F}}E_{\text{H}}^{\circ}(\text{HA}_{\text{ox}}, \text{HA}_{\text{red}}) - (q/n)0.05916 \text{pH} - E_{\text{H}}^{\circ}(\text{AgCl}, \text{Ag})$$

corresponding to the overall reduction reaction:



with, HA<sub>ox</sub> and HA<sub>red</sub> representing oxidized and reduced forms, respectively, of HA. The q/n ratio is



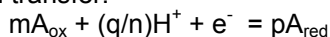
the moles of protons transferred per mole of electrons transferred during the oxidation of 1 mol of HA. It can be calculated using  $emf_{cell}$  data at two pH values and the equation:

$$-q/n = \Delta emf (pH)/0.05916$$

where  $\Delta emf (pH)$  is the change in emf per log unit of pH change at the cell titration inflection point. At a given pH value, substitution of the  $q/n$  ratio and an  $emf_{cell}$  value into the equation for  $emf_{cell}$  allows calculation of  $F E^{\circ}_H$  ( $HA_{ox}$ ,  $HA_{red}$ ). This formal electrode potential can be converted into a conditional equilibrium constant using the following relationship:

$$\log K_c = F E^{\circ}_H / 0.05916$$

where  $K_c$  is a conditional equilibrium constant at 298 K corresponding to the generic reduction reaction for one electron transfer:



And,

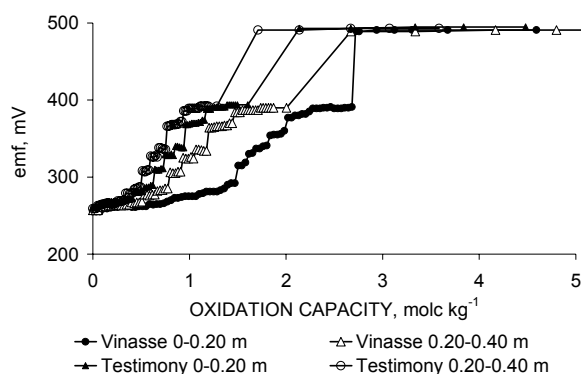
$$\Delta G^{\circ} = RT \ln K_c$$

Using the above generic equation, a comparison among pE values for environmental redox couples can be made with the conventional "redox ladder" expression:

$$pE_c = \log K_c - (q/n) pH$$

## Results and Discussion

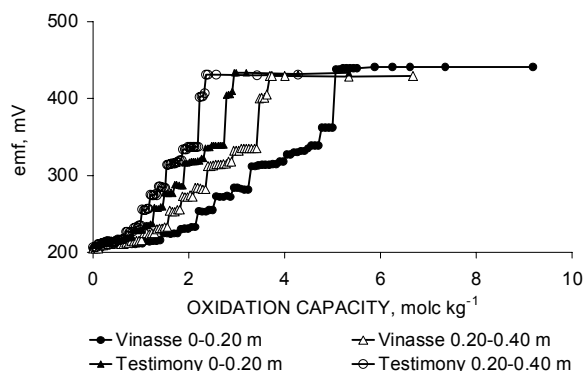
The titration curves (Figures 2 and 3) obtained with HA isolated from soils cultivated over 35 years with sugar-cane submitted or not to vinasse applications (vinasse vs. testimony) were typical and the curves presented a clear inflection point, but small jumps were also observed. Others authors<sup>1</sup> associated these small jumps to the presence of iron as residue, not removed, even after the cumbersome purification process adopted by IHSS.



**Figure 2.** Redox titration curves for 6.25 mg L<sup>-1</sup> HA suspended in 125 mL 0.05 mol L<sup>-1</sup> KCl, 0.05 mol L<sup>-1</sup> phosphate buffer solution at pH 5.00

The oxidation capacity at pH 7 was larger than at pH 5 (Figures 2 and 3). In all cases emf was larger at the lower pH value. This effect is expected if electron-transfer reactions of the redox-active moieties in HA are pH-dependent according to the conventional Nernst relationship between emf and  $F E^{\circ}_H$  (Struyk, 1999).

The oxidation capacity was incremented in sugar-cane with vinasse inputs in comparison with the testimony, in both depths (0-0.20 and 0.20-0.40 m).



**Figure 3.** Redox titration curves for 6.25 mg L<sup>-1</sup> HA suspended in 125 mL 0.05 mol L<sup>-1</sup> KCl, 0.05 mol L<sup>-1</sup> phosphate buffer solution at pH 7.00

This vinasse effect resulted in the increase of the oxidation capacity in 68 and 56 % at pH 5 and 110 and 56 % at pH 7, for soil surface and subsurface, respectively.

Substitution of the respective  $q/n$  ratios into the equation for  $emf_{cell}$  provides the corresponding cell formal electrode potentials at pH 5 for the HA samples (Table 1).

**Table 1.** Redox properties of humic acids after long time of vinasse applications in sugar-cane cultivation

Sample	Ox. C.		Redox Properties <sup>(1)</sup>			
	pH5 molc kg <sup>-1</sup>	pH7 molc kg <sup>-1</sup>	$F E^{\circ}_H$ - V -	$K_c$	$\Delta G^{\circ}$ kcalmol <sup>-1</sup>	pE <sup>o</sup>
	----- 0-0.20 m -----					
Testimony	1.60A	2.37A	0.754A	12.7A	-17.32A	9.5A
Vinasse	2.68B	4.99B	0.705B	12.9A	-17.59A	9.8A
	----- 0.20-0.40 m -----					
Testimony	1.28A	2.19A	0.748A	12.6A	-17.18A	9.4A
Vinasse	2.00B	3.42B	0.753A	12.7A	-17.32A	9.4A
IHSS <sup>(2)</sup>	1,09	3,30	0,780	13,2	-18,00	11,2

<sup>(1)</sup> Calculated as described in Material and Methods section;<sup>(2)</sup> Adapted of Struyk and Sposito (2001). Averages in the column, accompanied of different letter, presented significant contrasts (vinasse vs testimony), in each layer, for the F test at 5 % of probability.

Although standard HA have  $F E^{\circ}_H$  and  $\log K_c$  values comparable to those of phenolic compounds thought to be its analogs, the two differ sharply in  $emf_{cell}$  at environmental pH values because of the much larger proton-to-electron transfer ratio of quinone redox couples.

It has become standard practice to evaluate the electrode potentials of most biological redox systems (for dependent) at pH 7 to make comparisons of oxidizing or reducing powers. The compiled values are typically formal potentials at pH 7.

A comparison among the pE values for environmental redox couples, can be made with the conventional "redox ladder" expression which for our

samples gave  $pE_c \sim 9.5$ , at pH 7, was achieved applying the “redox ladder” expression <sup>4</sup> (Table 2).

**Tabela 2.** Redox properties for some common couples in natural systems

Redox Couples	$E_H^0$ V	log $K_c$	$\Delta G^0$ kcal mol <sup>-1</sup>	$pE^0$
$Fe^{2+} + 2e^- = Fe$	-0,44	-14,8	20,29	-7,4
$H + e^- = \frac{1}{2} H_2$	0	0	0	0
$AH_{ox} + qH^+ + ne^- = AH_{red}^*$	0,74	12,7	-17,35	9,5
$Fe^3 + e^- = Fe^{2+}$	+0,77	13,0	-17,70	13,0
$Hg^{2+} + 2e^- = \frac{1}{2} Hg_2^{2+}$	+0,91	15,4	-21,01	15,4
$Fe(OH)_3 + 3H^+ + 3e^- = Fe^{2+} + 3H_2O$	+1,06	53,8	-73,38	17,9
$Mn^{4+} + 2e^- = Mn^{2+}$	+1,51	51,06	-69,60	25,5

Adapted of Stumm and Morgan (1996). \* Averages of studied HA data.

On the basis of this comparison and the usual interpretation of  $pE$  in terms of the “redox ladder”, the HA samples, under the conditions in the present study would reduce the heavy metals as well as Hg (II), and would also reduce Fe(III) and Mn (IV). But HA would oxidize solid-phase Fe (II).

In general, the variables studied, fundamental in soil and humus chemical characterization study <sup>1</sup>, presented significant linear correlations with the oxidation capacity (Table 1), indicating the importance of this property for humus characterization (Table 3).

**Table 3.** Pearson linear correlation coefficients obtained between the Ox.C. and the cation exchange capacity (CEC), carboxylic (COOH), phenolic (OH) and quinone (Q) functional groups, C/O and 465/665 nm by UV-VIS

Ox.C. <sup>(1)</sup>	Soil CEC	HA functional groups		
		COOH	OH	Q
pH 5,0	0,90 *	0,75 *	0,83 *	0,98 **
pH 7,0	0,90 *	0,78 *	0,85 *	0,99 **

\*\* e \*, significant at 1 and 5 % of probability, respectively.

The HA fraction suffered significant alterations under continuous vinasse inputs, with an increment of 39 % (0.28 to 0.39 g/kg), in soil surface and of 62 % (0.13 to 0.21 g/kg), in subsurface to vinasse and testimony, respectively. These results proved not only the existence of non expected HA mobility in depth of HA, but also the improvement of subsurface soil fertility (soil conditioning) in systems of larger organic matter inputs (vinasse applications), that promotes the soil C concentration (larger C sequestered), and its management proportioned the loss of soil C to the atmosphere.

HA of smaller molecular size (larger relationship  $E_4/E_6$ ), showed larger oxidation capacity. The vinasse effect in soil HA resulted in increase in O/C ratio and in oxygenated functional groups <sup>1</sup>.

The soil CEC was significantly altered after 35 years of vinasse applications on soil surface. The increases were of 11 % (11.0 to 12.2 cmol<sub>c</sub> kg<sup>-1</sup>) and of 12 % (9.43 to 10.51 cmol<sub>c</sub> kg<sup>-1</sup>) in soil layers of 0-0.20 m and 0.20-0.40 m, respectively, in comparison

with the values found in the testimony sugar-cane area. The increases in the CEC were accompanied of positive increments in the oxidation capacities and functional groups of HA (CEC=7.54+1.71Ox.C. at pH 5 and CEC=7.93+0,85 Ox.C. at pH 7, both with  $r=0,90^{**}$ ).

The oxidation capacity of HA increases positively with the HA carboxylic, phenolic and quinone functional groups contents. The best predictive model was obtained by quinone correlations, with Ox.C=0,36+0,03Q,  $r=0,98^{**}$  at pH 5 and Ox.C.=0,22+0,06Q,  $r=0,99^{**}$  at pH 7). The quinone contents values varied from 37 to 85 cmol<sub>c</sub> kg<sup>-1</sup>.

The HA contributed in a more effective way to the generation of soil negative charges under vinasse application managements. Soils with larger carboxylic and phenolic groups contents exhibited larger CEC and oxidation capacity and smaller PZNPC <sup>1</sup>.

## Conclusions

1. Soil HA can act as redox agent in natural systems.
2. The reducer power of HA can be increased with soil vinasse inputs along the time.
3. The HA samples, under the conditions in the present study would reduce Fe(III), Hg(II) and Mn(IV). But HA would oxidize solid-phase Fe (II).
4. Addition of organic matter over 35 years of continuous vinasse applications on soil surface increased the HA oxidation capacity
5. The HA and soil chemical properties presented, in general, straight relationships with the oxidation capacity.
6. Oxidation capacity of HA allowed to separate the effect of long term of contrasting soil handlings.
7. Redox titrations is a little expensive method for free radical study.
8. Continuous sugar-cane cultivation under vinasse inputs did not seem to cause any adverse relation between Ox.C. and soil pH.

## Acknowledgements

This research was supported by National Research Council (CNPq 471910/2003-1).

The first author is a fellowship of Brazilian Agency for University Teaching Staff Scientific Improvement (CAPES). The authors wish thanks Dr. Nelson Garcés Perez (Universidad de La Habana) for the effective suggestions to manuscript.

<sup>1</sup> Canellas, L. P.; Velloso, A. C. X.; Marciano, C. R.; Ramalho, J. F.; Rumjanek, V. M.; Resende, C. E. & Santos, G. A. *Re. bras. Ci. Solo*, **2003**, 27, 935.

<sup>2</sup> Light, T. S., *Analytical Chem.*, **1972**, 44, 1038.

<sup>3</sup> Struyk, Z. J. and Sposito, G. *Geoderma*, **2001**, 102, 329.

<sup>4</sup> Stumm, W e Morgan, J. J. *Aquatic Chemistry*, New York, Wiley-Interscience, **1996**.

## Degradação da atrazina na presença de ácidos húmicos extraídos de solo e do mineral ferrihidrita

Juliana Cristina Barreiro\* (PG)<sup>1,2</sup>, Hans Christian Bruun Hansen (PQ)<sup>3</sup>, Milton Duffles Capelato (PQ)<sup>2</sup>, Ladislau Martin-Neto (PQ)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, 1452, C.P. 741, 13560-970 São Carlos (SP), Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís (SP-310), Km 235, 13565-905, São Carlos (SP), Brasil

<sup>3</sup> Department Of Natural Science, (KVL-The Royal Veterinary & Agricultural University, Thorvaldsensvej 40, DK-1871 Frederiksberg C, Denmark. \*e-mail: Juliana.barreiro@gmail.com

Palavras Chave: atrazina, ácidos húmicos, ferrihidrita.

### Introdução

Estudos envolvendo a oxidação de compostos orgânicos, tais como o herbicida atrazina, têm sido amplamente investigados<sup>1</sup>. A degradação desses compostos no ambiente pode ocorrer a partir de processos abióticos (reações químicas) e bióticos (microorganismos). Os processos abióticos são importantes uma vez que envolvem a presença de superfícies adsorventes reativas – minerais e de substâncias químicas (oxidantes e redutoras) – ácidos húmicos (AHs), os quais apresentam-se como constituintes naturais nos solos e sedimentos<sup>2</sup>.

Os AHs são os maiores constituintes da matéria orgânica presente nos solos e apresentam uma ampla diversidade em relação a sua estrutura e a presença de grupos funcionais. Sendo assim, podem desempenhar um importante papel na degradação de pesticidas.

Vários trabalhos têm demonstrado que os AHs podem facilitar a transferência de elétrons, a partir da presença de grupos específicos durante a oxidação/redução de óxidos metálicos em sistemas biológicos<sup>3</sup>. Um comportamento similar pode ser verificado quando na presença de um mineral de ferro, por exemplo a ferrihidrita. O mecanismo proposto para a reação envolve a formação do radical livre hidroxil, um oxidante forte, que reage com a maioria dos compostos orgânicos com uma constante de velocidade da ordem de  $\sim 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-14}$ .

Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi estudar a degradação da atrazina na presença do AHs e do mineral ferrihidrita.

### Resultados e Discussão

Os AHs foram extraídos segundo o procedimento sugerido pela IHSS (International Humic Substance Society) e caracterizados a partir da análise elementar, grupos funcionais (titulação) e análises espectroscópicas RPE, RMN <sup>13</sup>C e IV.

RPE (Ressonância Paramagnética Eletrônica), RMN <sup>13</sup>C (Ressonância Magnética Nuclear) e IV (Infravermelho com transformada de fourier).

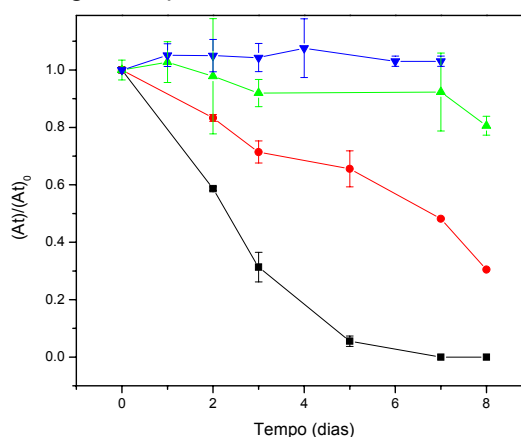
**Tabela 1.** Análise elementar e acidez total carboxílica e fenólica para os AHs.

C (%)	50,16
H(%)	4,66
N (%)	5,02
S(%)	5,50
O(%)	34,66
Acidez total (mmol <sub>c</sub> g <sup>-1</sup> )	10,62
-COOH (mmol <sub>c</sub> g <sup>-1</sup> )	1,95
-OH (mmol <sub>c</sub> g <sup>-1</sup> )	8,67

**Tabela 2.** Contribuições relativas (% de área total) das regiões de deslocamento químico (ppm).

Carboxil (152-196)	12,8
O-arom. (138-152)	4,20
Arom. (105-138)	15,5
di-O-alkil (88-105)	4,40
O-alkil (60-88)	17,2
Metoxil (42-60)	18,0
Alquil (0-42)	27,8

Os experimentos de degradação da atrazina foram realizados em pH=3,0, e o decaimento na concentração de atrazina foi acompanhado por cromatografia líquida.



**Gráfico 1:** Degradação da atrazina na presença de ferrihidrita e AHs em pH=3,0. ■ ferrihidrita + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, pH=3,0, ● ferrihidrita + AH + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ▲ na presença de AH, pH=3,0, ▼ branco s/ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### Conclusões

A oxidação da atrazina mostrou-se dependente da concentração de ferro proveniente da dissolução da ferridrita em pH 3. A presença de ácido húmico contribuiu para uma inibição do processo oxidativo, agindo assim como uma espécie antioxidante captando os radicais livres gerados na reação.

### Agradecimentos

CAPES e CNPq pelo suporte financeiro e pela bolsa de PDEE concedida a JCB.

- 1 - ABATE, G.; PENTEADO, J.C.; CUZZI, J.D.; VITTI, G.C.; LICHTIG, J.; MASINI, J.C. "Influence of Humic Acid on Adsorption and Desorption of Atrazine, Hydroxyatrazine, Deethylatrazine, and Desisopropylatrazine onto a Clay-Rich Soil Sample". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(22): 6747, 2004.
- 2 - SCOTT, D.T.; MCKNIGHT, D.M.; BLUNT-HARRIS, E.L.; KOLESAR, S.E.; LOVLEY, D.R. Quinone moieties act as electron acceptors in the reduction of humic substances by humics-reducing microorganisms. *Environmental Science & Technology*, 32(19): 2984, 1998.
- 3 - LOVLEY, D.R.; FRAGA, J.L.; BLUNT-HARRIS, E.L.; HAYES, L.A.; PHILLIPS, E.J.P.; COASTES, J.D. Humic substances as a mediator for microbially catalyzed metal reduction. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 26(3): 152, 1998.
- 4 - PROSEN, H.; ZUPANCIC-KRALJ, L. "Evaluation of photolysis and hydrolysis of atrazine and its first degradation products in the presence of humic acids". *Environmental Pollution* **133**: 517, 2005.

## Composição elementar de ácidos húmicos de diferentes origens

Eduardo Henrique Beckman<sup>1</sup>(IC)\*, Vinicius de M. Benites<sup>2</sup>(PQ), Viviane Escaleira(TC)<sup>2</sup>

1 Universidade Federal Fluminense/Embrapa Solos, 2 Embrapa Solos, Rua Jardim Botânico, 1024, Rio de Janeiro, RJ, CEP 22460-000. \*e-mail: ebeckman@ig.com.br

Palavras Chave: análise elementar, relação C:N, relação H:C

### Introdução

A análise elementar é amplamente utilizada para a caracterização de substâncias húmicas, entretanto é uma técnica limitada quanto a informações sobre a estrutura das substâncias húmicas.

A análise elementar é um recurso auxiliar o qual permite comparações entre classes e origens de diferentes materiais húmicos, além de ser útil para avaliar a eficiência dos procedimentos de extração e purificação<sup>1</sup>.

A composição elementar das substâncias húmicas é afetada diretamente por diversos fatores entre eles o pH, tipo de material, vegetação e a idade do material de origem<sup>2</sup>.

Neste trabalho, foram analisadas diversas amostras das frações de ácidos húmicos (AH) extraídas de diferentes materiais (Tabela 1).

**Tabela 1.** Descrição das amostras de ácidos húmicos analisados.

Código	Nº	Origem
SF	20	Solo florestal
SP	3	Serapilheira
MD	1	Madeira
TF	8	Turfa
LN	4	Leonardita
CP	6	Cupinzeiro
CA	3	Carvão vegetal
AL	2	Alcatrão

A composição elementar (teor de carbono, hidrogênio e nitrogênio) dos ácidos húmicos foi determinado em um analisador elementar (PE 2400 series II CHNS/O Analyzer, Perkin-Elmer).

O método da análise consiste na determinação de carbono, hidrogênio e nitrogênio através da combustão da amostra à 925 °C, convertendo os elementos em gases simples (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O e N<sub>2</sub>). A amostra é oxidada, e na zona de combustão são produzidos gases como CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O e N<sub>2</sub> e elementos como halogênios e enxofre são removidos. Os gases resultantes são homogeneizados e controlados em condições ideais de pressão, temperatura e volume. Esses gases são separados e assim detectados por condutividade térmica.

Foram utilizadas amostras de 1,750 ± 0,250 mg, pesadas em microbalança acoplada ao aparelho. A acetanilida (C=71,09 %, H=6,71 %, N=10,36 %) foi utilizada como padrão de referência, sendo aparelho calibrado diariamente.

As leituras das amostras foram alternadas por leituras de brancos e padrões de referência, na razão de um branco para cada cinco amostras e um padrão de referência para cada quinze amostras.

Para a análise do coeficiente de variação do método, foram realizadas determinações em doze repetições de uma mesma amostra.

A partir dos teores de C, H e N, foram calculadas as relações atômicas H:C e C:N segundo as seguintes equações:

$$H:C = [(\%H / 1) / (\%C / 12)] \text{ e}$$

$$C:N = [(\%C / 12) / (\%N / 14)].$$

Os valores de C, H e N determinados não foram corrigidos para a base seca, pois não foi realizada a quantificação do teor de umidade e de cinzas nas amostras.

### Resultados e Discussão

No estudo de variabilidade do método, foi observada uma baixa variabilidade e boa repetitividade, em especial para os valores de carbono (Tabela 2).

**Tabela 2.** Parâmetros estatísticos dos teores de C, H e N e de suas relações, utilizando-se uma única amostra teste (n=12).

Parâmetro	%C	%H	%N	H:C	C:N
Média	53,01	4,84	3,99	1,10	15,54
DP	0,51	0,10	0,13	0,02	0,53
Variância	0,26	0,01	0,02	0,00	0,28
CV %	0,96	2,13	3,35	1,97	3,43

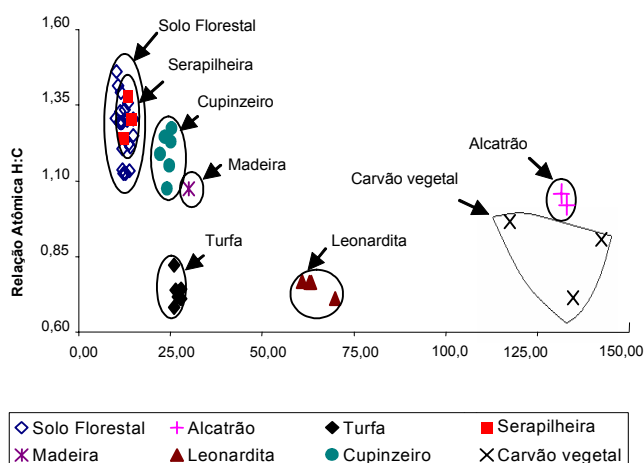
Os resultados da análise elementar dos AH mostraram valores de carbono variando de 47 a 62%, com média de 55% (Tabela 3). Os teores de nitrogênio apresentaram a maior variação entre as amostras (CV= 69,2%), devido a diferenças no grau de decomposição dos AH e da atividade biológica observada em cada ambiente. Os menores valores de nitrogênio e os maiores valores de carbono foram encontrados em AH de carvão, alcatrão e leonardita. Em outro extremo, os maiores teores de nitrogênio foram encontrados em AH de solos florestais e serapilheira (Tabela 3).



**Tabela 3.** Teores médios de carbono, hidrogênio e nitrogênio pela análise elementar das frações ácidos húmicos de diferentes origens (desvio padrão entre parênteses).

Amostras	C%	H%	N%
SF (n=20)	47,81(2,09)	5,07(0,20)	4,55(0,45)
SP (n=3)	50,49(1,51)	5,51(0,45)	4,45(0,20)
MD (n=1)	53,40(-----)	4,78(-----)	2,07(-----)
TF (n=8)	57,39(2,31)	3,50(0,09)	2,48(0,11)
LN (n=4)	58,82(1,80)	3,68(0,08)	1,07(0,04)
CP (n=6)	54,54(1,00)	5,42(0,28)	2,64(0,13)
CA (n=3)	58,72(1,23)	4,21(0,57)	0,53(0,06)
AL (n=2)	62,36(-----)	5,40(-----)	0,55(-----)
Todos	55,45(4,79)	4,69(0,80)	2,29(1,59)

Embora todas as amostras estudadas sejam classificadas como ácidos húmicos, com base nas relações atômicas H:C e C:N, estas puderam ser individualizadas de acordo com suas diferentes origens (Figura 1). O coeficiente de variação da relação C:N de amostras de uma mesma origem foi menor que entre grupos.



**Figura 1.** Gráfico das relações C:N x H:C.

As amostras de solo florestal e de serapilheira tiveram valores H:C altos e C:N baixos, enquanto no outro extremo o carvão vegetal e o alcatrão tiveram valores H:C baixos e C:N altos.

As amostras extraídas de locais com alta atividade microbiana, como é o caso do solo florestal e serapilheira possuem um maior teor de nitrogênio, o que interferiu diretamente da relação C:N.

A maior relação H:C, demonstra uma maior alifacidez na estrutura de suas moléculas, o que

normalmente está relacionado a uma maior biodegradabilidade destas substâncias. Contudo, especial atenção deve ser dada a compostos alifáticos de cadeia longa (ceras e graxas) que apresentam alta recalcitrância<sup>2</sup>.

As amostras de turfa, leonardita e carvão vegetal apresentaram baixa relação H:C, isto significa a presença de cadeias aromáticas em suas estruturas. Outro fator observado foi a relação C:N das amostras de turfa serem maiores que a de carvão vegetal, isto se deve ao fato da turfa ser o estágio inicial do processo de transformação de restos vegetais em carvão vegetal e por isso ainda uma grande quantidade de resíduos vegetais com menor grau de decomposição e maior teor de nitrogênio.

Verifica-se também que as amostras de AH extraídas de cupinzeiro se situam entre as de solo e a de madeira, esse resultado é atribuído ao fato de ter em sua origem esses dois componentes.

## Conclusões

Embora todas as amostras analisadas sejam consideradas como fração de ácido húmico, diferenças significativas puderam ser observadas em sua composição elementar.

Pela análise das relações atômicas H:C e C:N é possível separar as amostras com características contrastantes. Ácidos húmicos de uma mesma origem apresentam razões atômicas semelhantes.

## Agradecimentos

Agradecemos à FAPERJ pelo auxílio ao desenvolvimento deste trabalho por meio do projeto "Caracterização de substâncias húmicas em solos sob Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro" registrado sob o no E-26/171.563/2002. As análises foram realizadas no Laboratório de Matéria Orgânica do Solos da Embrapa Solos que contou com o apoio financeiro do projeto PRODETAB 036 - 02/01 do Banco Mundial

<sup>1</sup> Huffmann, E. W. D. Jr.; Stuber, H. A. In Humic substances in soil, sediment and water. Geochemistry, isolation and characterization. Aiken, G. R.; Mcknight, M. D.; Wershaw, R. L.; MacCarthy, P., Eds.; John Wiley & Sons; New York, **1985**; p 433-451.

<sup>2</sup>Stevenson, F. J., Húmus Chemistry. Genesis, Composition, Reactions; Eds: John Wiley & Sons; New York **1994**, p 214.

<sup>3</sup> Benites, V. De M., Grupos Alquila de cadeia longa identificados por FTIR em ácidos húmicos obtidos de solos sob vegetação rupestre de altitude, VEBSH, **2003**.

## Dinâmica de Fe em uma amostra do horizonte B de um LVAd inundado: Efeitos de um extrato de substâncias húmicas e de uma fonte de carbono orgânico lábil

Airton Luiz Bortoluzzi<sup>1\*</sup>, Cristiane Pereira de Assis<sup>2</sup>, Eduardo de Sá Mendonça<sup>3</sup>, Roberto Ferreira Novais<sup>3</sup>, Jaime Wilson Vargas de Mello<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Escola Agrotécnica Federal do Sombrio (FM), <sup>2</sup> Universidade Federal de Viçosa (PG); <sup>3</sup> Universidade Federal de Viçosa (PQ). \*e-mail: Bortoluz.eafs@ig.com.br

Palavras Chave: ferro amorfo, ferro cristalino, dinâmica de ferro, substâncias húmicas.

### Introdução

A ciclagem de ferro é um processo contínuo, mas com intensidade oscilante, de acordo com a oferta de carbono orgânico lábil e de oxigênio. Ocorre nas interfaces óxicas-anóxicas; ou seja, redução e oxidação ocorrem separadas por microdistâncias (Roden et al., 2001; Sobolev & Roden, 2001a,b).

A dissolução redutiva e não redutiva de óxidos e hidróxidos de ferro permite a reprecipitação de uma matriz oxidada finamente particulada com a incorporação de outras espécies químicas provenientes do processo dissolutivo de minerais e de moléculas orgânicas adsorvidas na superfície desta matriz (Roden et al., 2001; Sobolev & Roden, 2001a,b). Esta reorganização na composição química dos minerais resulta da reprecipitação biótica e abiótica nas interfaces, incluindo as óxicas-anóxicas, onde diversos produtos da dissolução de minerais são ofertados partir dos sítios de dissolução e incorporados nas partículas minerais em crescimento (Mayer & Jarrel, 2000; Brune et al., 2000; Gunnars et al., 2002).

Embora a maioria dos estudos sobre alterações redox tenha sido realizada em condições de inundação, especialmente nos solos inundados para o cultivo do arroz irrigado, surgem evidências experimentais de que estes processos também estão presentes em solos de terras altas com camadas geneticamente adensadas ou com problemas de drenagem no perfil. Solos com camadas adensadas geneticamente ou pelo preparo do solo, ou solos rasos assentados diretamente sobre material de origem de baixa permeabilidade, podem se apresentar saturados com água nas épocas chuvosas e, portanto, em condições redutoras (Willett & Higgins, 1980; Bradley et al., 1984; Ferrando et al., 2002). Neste contexto, o suprimento continuado e abundante de carbono orgânico lábil na camada superficial dos solos (Lemieux, 1997; Lee & Pankhurst, 1992; Grayston et al., 1996) pode acelerar a dissolução redutiva de óxidos e hidróxidos de ferro (Roden et al., 2001; Sobolev & Roden, 2001a,b) e sua reprecipitação em uma matriz finamente particulada (Willett & Higgins, 1980; Bradley et al., 1984;

Ferrando et al., 2002). A sua elevada superfície específica e a deposição como capeamentos sobre as partículas minerais, orgânicas e estruturais, torna esta fração muito reativa, aumentando, especialmente, a capacidade de adsorção de fosfatos. Mesmo os solos relativamente bem drenados podem apresentar gradientes acentuados na concentração de O<sub>2</sub>, sendo comuns microzonas anóxicas de 20 mm de raio ou mais (Sextone et al., 1985; Hojberg et al., 1994; Küsel et al., 2002), que podem permitir a redução de Fe durante os períodos chuvosos. No entanto, a formação de capeamentos hidrofóbicos de matéria orgânica sobre as partículas ou agregados poderá retardar ou bloquear fisicamente a dissolução de óxidos de ferro e a adsorção de fosfatos.

Durante os períodos em que a dissolução redutiva supera a cinética de precipitação de óxidos e hidróxidos de ferro, observam-se aumentos nos teores de P disponível, devido a sua liberação no processo de dissolução desta matriz (Mello et al., 1998; Ferrando et al., 2002). O retorno às condições de oxidação determina diminuições acentuadas nos teores de P em solução, em razão da readsorção deste nutriente sobre a matriz de Fe de baixa cristalinidade ou finamente particulada, recém precipitada. Ferrando et al. (2002) observaram que a adição de fertilizante fosfatado solúvel a solos que haviam passado por um período de anaerobiose resultou em decréscimo acentuado na absorção de P pelo azevém (*Lolium multiflorum*). Isto se explica pela adsorção de P nas superfícies altamente reativas de óxidos de Fe recentemente precipitados em relação às parcelas que não haviam passado por condições de solo com excesso de água no perfil.

A possibilidade da ocorrência de alterações rápidas na cristalinidade e reatividade dos óxidos e hidróxidos de ferro sugere que os teores de Fe reativo (Fe extraível por oxalato, Fe<sub>o</sub>) ou a proporção de Fe amorfo sobre o total de óxidos de Fe (Fe<sub>o</sub>/Fe<sub>d</sub>) podem representar desde condições de drenagem relativamente semelhantes ao longo dos anos até mudanças acentuadas nessas condições.

## Material e Métodos

O estudo foi conduzido em casa de vegetação, no Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, de agosto a novembro de 2000, visando estudar a dinâmica de Fe e P em uma amostra de horizonte B de um LVAd. Testaram-se os efeitos das adições de um extrato de substâncias húmicas (ESH) e de uma fonte de carbono orgânico lábil (FCO) ao longo do período de inundação.

**Tabela 1.** Características físico e químicas do LAVd

argila	C.O.	P	K	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>
660	g.kg <sup>-1</sup> 3,84	mg.dm <sup>3</sup> 0,8	2,3	0,25	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> 0,16	1,41
H+Al	CTC efet.	CTC pH 7,0	Feo <sup>(1)</sup>	Fed <sup>(2)</sup>	Prem	
	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>		g.kg <sup>-1</sup>		mg.L	
11,1	1,82	11,52	9,2	80,5	14,2	

1 Feo = Fe-oxalato; 2 Fed = Fe-ditionito

Os teores de Fe foram determinados, utilizando-se os seguintes procedimentos: (a) ditionito de sódio em citrato de sódio e ácido cítrico 0,2 mol L<sup>-1</sup> em citrato, a pH 4,6 (Coffin, 1963). Os valores obtidos foram denominados Fed; (b) oxalato de amônio com ácido oxálico, 0,2 mol L<sup>-1</sup> em oxalato, a pH 3,0 (McKeague, 1978). Os sobrenadantes foram filtrados em papel filtro lento e armazenados em frascos plásticos para determinação posterior de Fe por colorimetria. Os valores obtidos foram denominados Feo.

O extrato de substâncias húmicas (ESH) utilizado no experimento foi extraído de uma turfa salino-sódica, com teores elevados de ácidos húmicos, coletada em Arraial do Cabo, RJ (Ibraimo, 2000). O método utilizado tem como base Swift (1996).

Como fonte de carbono orgânico (FCO), predominantemente lábil, utilizou-se folhas e colmos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* L.) em franco crescimento vegetativo, seco em estufa a 65 °C, finamente moído em moinho de tecido vegetal.

As amostras de solo com os tratamentos foram acondicionadas em vasos sem drenagem, com volume de 1,7 L, contendo 1,2 dm<sup>3</sup> de solo.

Todas as amostras do solo LVAd receberam uma mistura de CaCO<sub>3</sub> + MgCO<sub>3</sub> na relação Ca/Mg de 3:1, em quantidades suficientes para elevar a saturação por bases de cada solo a 60 %.

Adicionaram-se também, na forma de solução, imediatamente antes da inundação, os seguintes nutrientes, em mg dm<sup>-3</sup> de solo: 11,38 de P, 41,18 de K, 50 de S, 6 de Zn, 3 de Cu, 0,81 de B e 0,15 de Mo.

As determinações de P e Fe na solução do solo foram feitas em amostras com e sem digestão, obtendo-se os teores de P e Fe inorgânicos em solução (Pi e Fe) e com digestão perclórica. As determinações em extratos com digestão perclórica

estimaram os teores de P e Fe totais (Pt e Fet) em solução. As concentrações de P orgânico (Po) e de Fe complexado (Fec) em solução foram obtidas por diferença entre os teores totais e inorgânicos destes elementos em solução. Os teores de Fe e P nos extratos foram determinados pelos métodos colorimétricos da ortofenantrolina do azul do molibdato, respectivamente.

O experimento constou do fatorial com cinco doses de ESH e cinco de FCO, organizado em matriz quadrado duplo (2 x 2<sup>k</sup> + 2k + 1), sendo k = 2 = número de fatores em estudo. O ESH foi aplicado em seis ciclos de umedecimento e secagem com cinco doses (0, 7, 14, 21 e 28 g.kg<sup>-1</sup> de solo). A fonte de carbono orgânico lábil (FCO) foi aplicada nas doses de 0, 6, 12, e 18 g.kg<sup>-1</sup> de solo.

## Resultados e Discussão

De forma geral, os resultados mostraram que a adição da FCO proporcionou considerável redução de ferro e aumento nos teores de Fe em solução (Figuras 1 e 2). Isto demonstra que solos oxídicos bem drenados podem apresentar considerável redução de óxidos e hidróxidos de Fe, quando inundados e com oferta suficiente de carbono orgânico lábil. A estabilidade elevada dos óxidos e hidróxidos de Fe em condições aeróbias (Schwertmann & Taylor, 1989) depende de boas condições de drenagem, podendo sofrer rápidas alterações nesta estabilidade, como observado em outros estudos (Roden et al., 2001; Sobolev & Roden, 2001a,b).

A não adição de palha (FCO; tratamentos 1 e 3, Figura 1) resultou em teores muito baixos de Ferro em solução (Fe), evidenciando que a entrada de energia prontamente metabolizável no sistema é fundamental para a dissolução de Fe (Roden & Sobolev, 2001a,b). Comparando-se os tratamentos 2 e 4 verifica-se que a adição de um extrato de substâncias húmicas (ESH) diminuiu os teores de Fe em solução, sugerindo que estas protegem os óxidos de Fe contra a dissolução reductiva.

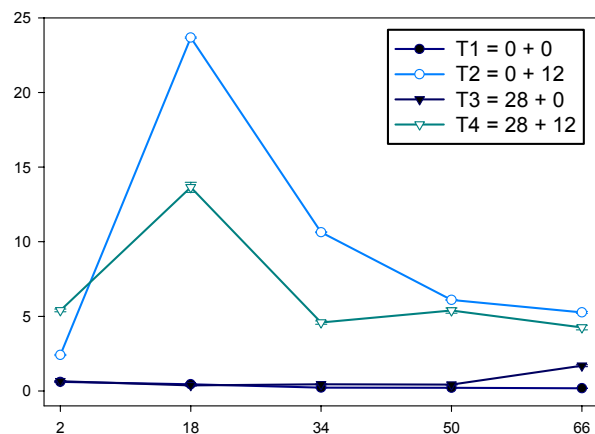
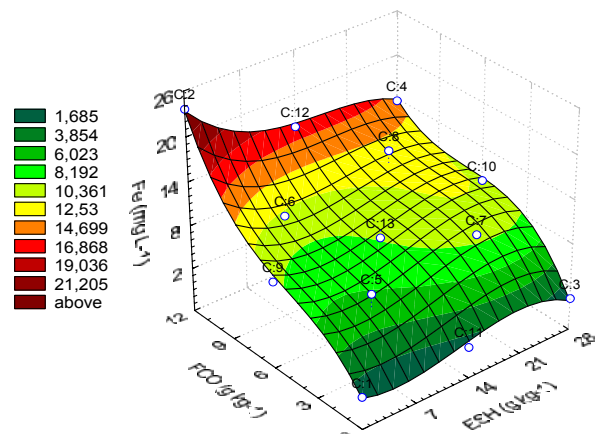


Figura 1. Dinâmica de Fe em solução. T = tratamento, doses de ESH + FCO, em g.kg<sup>-1</sup> de solo.



$$Fe = 0,264691 - 0,359897^{***}ESH + 2,8304^{***}FCO + 0,0482969^{***}ESH^2 - 0,3905683^{***}FCO^2 + 0,0014999^{***}ESH^2FCO - 0,0057983^{***}ESHFCO^2 - 0,0012747^{***}ESH^3 + 0,0262654^{***}FCO^3$$

**Figura 2.** Ferro na solução (Fe) do horizonte B de um LVAd argiloso inundado, em função da adição de um extrato de substâncias húmicas (ESH) e uma fonte de carbono (FCO), aos 18 dias após a inundação.

Não somente os óxidos de ferro amorfos (ou finamente particulados) podem sofrer dissolução redutiva pelos organismos redutores de Fe, mas também óxidos de ferro cristalino ou de estabilidade elevada (goethita, magnetita e hematita) (Arnold et al, 1988; Lovley & Phillips, 1987; Kostka & Nealson, 1995; Little et al., 1997; Zachara et al., 1998; Fredrickson et al. 1998; Dong et al., 2000). A taxa e a extensão da redução microbiana de Fe correlacionam-se, positivamente, com a área superficial dos óxidos (Roden & Zachara, 1996).

O pico de Fe em solução ocorreu cerca de 18 dias após a inundação (Figura 1), sugerindo que a fração prontamente metabolizável contida na FCO foi rapidamente exaurida pelos microrganismos. As frações menos lábeis da MO também são fonte de elétrons para a redução de ferro, mas a cinética de redução, nestas condições, não é competitiva com a de reprecipitação. Neste experimento, a adição de palha (FCO) ocorreu apenas no momento da inundação, não representando um solo de ecossistemas naturais ou cultivados. Nestes, a estação de crescimento apresenta adição expressiva, continuada e com intensidade oscilante de carbono orgânico na rizosfera e outros compostos solúveis e particulados, adicionados, preferencialmente, no espaço interagregados a partir da superfície.

A oxidação microbiana de Fe<sup>2+</sup> é competitiva com a oxidação abiótica (Roden et al., 2001; Sobolev & Roden, 2001a,b) no espaço interagregados e na rizosfera, visto que os microrganismos redutores e oxidantes de ferro se situam nas interfaces óxicas-anóxicas, onde carbono e oxigênio são ofertados de forma preferencial. Nestes subcompartimentos, a

oferta de oxigênio é continuada e relativamente abundante em relação ao interior das partículas estruturais (Madigan et al., 2000; Young & Ritz, 2000) ou as microzonas mais adensadas de 20 mm ou mais que permanecem anóxicas mesmo após a drenagem parcial do solo (Sextone et al., 1985; Hojberg et al., 1994; Küsel et al., 2002).

Peters & Conrad (1996), ao inundarem solos oxidicos de terras altas, observaram que os picos de Fe ocorreram antes dos 50 dias após a inundação. Esse experimento foi conduzido em recipientes com atmosfera redutora (N<sub>2</sub>). No entanto, solos e sedimentos, no ambiente natural ou cultivado comportam-se como semi-abertos para a entrada de oxigênio. Esta oferta restrita de oxigênio, porém, continuada e concentrada na rizosfera e no espaço interagregados (difusão), permite cinética mais rápida de precipitação mediada pela oxidação biótica e abiótica de Fe<sup>2+</sup> e a diminuição dos seus teores em solução. Embora as concentrações de oxigênio nos solos inundados diminuam com a profundidade a partir da camada oxidada na interface lâmina de água e solo, a oferta de oxigênio concentra-se nos macroporos, onde sua difusão é facilitada, e na rizosfera, onde elementos reduzidos como Fe<sup>2+</sup> e Mn<sup>2+</sup> também são drenados (por difusão ou por fluxos laterais) e oxidados, competindo por oxigênio com os microrganismos aeróbios.

A ciclagem acelerada de Fe é um mecanismo que pode aumentar rapidamente a capacidade de adsorção de fosfatos em solos bem drenados que passam por períodos curtos e sucessivos de anaerobiose (Ferrando et al., 2002) ou de inundação, como são os solos de terras relativamente bem drenadas incorporadas ao cultivo do arroz irrigado por inundação ou com presença de camadas adensadas, durante os períodos chuvosos.

As regressões múltiplas para Fe em função da adição de ESH e FCO, ajustadas para cada uma das cinco épocas de avaliação durante o período de inundação (apresentada a dos 18 dias após o início da inundação; Figura 2), mostram efeito positivo da FCO e um efeito negativo de ESH nos teores de Fe em solução (Figura 2).

## Conclusões

As substâncias húmicas são fortes protetoras de óxidos e hidróxidos de ferro contra a dissolução redutiva. A adição de uma fonte de carbono orgânico lábil é determinante nos índices de dissolução redutiva em meio anaeróbico, mesmo em solos com óxidos e hidróxidos de ferro mais estáveis de ambientes bem drenados. A adição de uma fonte de carbono orgânico lábil no momento da inundação resultou em um pico de Fe em solução cerca de 18 dias após a inundação, sugerindo que o recurso é rapidamente esgotado. Em solos com



elevados teores de carbono orgânico lábil tais picos são sustentados por períodos mais prolongados como mostram os dados da literatura.

### Agradecimentos

Agradecemos aos professores do Departamento de Solos da UFV pela orientação e apoio oferecido no desenvolvimento deste trabalho.

ARNOLD, R.G.; DeCHRISTINA, T.J. & HOFFMAN, M.R. Reductive dissolution of Fe(III) oxides By *Pseudomonas* sp. 200. *Biotechnol. Bioeng.*, 32:1081-1096, 1988.

BRADLEY, J.; VIMPANY, I. & NICHOLLS, P.J. Effects of waterlogging and subsequent drainage of a pasture soil on phosphate sorption, extractable phosphate and oxalate-extractable iron. *Aust. J. Soil Res.*, 22:455-461, 1984.

COFFIN, D.E.A. A method for determination of free iron in soils and clays. *Can. J. Soil Sci.*, 43:7-17, 1963.

DONG, H.; FREDRICKSON, J.K.; KENNEDY, D.W.; ZACHARA, J.M.; KUKKADAPU, R.K. & ONSTOTT, T.C. Mineral transformation associated with the microbial reduction of magnetite. *Chemical Geology*, 169:299-318, 2000.

FERRANDO, M.; MERCADO, G. & HERNÁNDEZ, J. Dinámica del hierro y disponibilidad de fósforo durante períodos cortos de anaerobiosis en los suelos. *Agrociencia*, 6:1-9, 2002.

FREDRICKSON, J.K.; ZACHARA, J.M.; KENNEDY, D.W.; DONG, H.; ONSTOTT, T.C.; HINMAN, N.W. & LI, S. Biogenic iron mineralization accompanying the dissimilatory reduction of hydrous ferric oxide by groundwater bacterium. *Geochim. Cosm. Acta*, 62:3239-3257, 1998.

GLINSKI, J. & LIPIEC, J. Soil physical conditions and plant roots. Florida, CRC Press, 1990, 250p.

GRAYSTON, S.J.; VAUGHAN, D. & JONES, D. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Appl. Soil Ecol.*, 5:29-56, 1996.

GUNNARS, A.; BLOMQVIST, S.; JOHANSSON, P. & ANDERSON, C. formation of Fe(III) oxyhydroxide colloids in freshwater and brackish seawater, with incorporation of phosphate and calcium. *Geochim. Cosm. Acta*, 66:745-758, 2002.

HOJBERG, O.; REVSBECH, N.P. & TIEDJE, J.M. Denitrification in soil aggregates analysed with microsensors for nitrous oxide and oxygen. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 58:1691-1698, 1994.

IBRAIMO, M.M. Solos sob caatinga da região dos lagos, RJ: gênese e relações geomorfológicas. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2000.133p. (Tese de Mestrado)

KNAPP, E.P.; HERMAN, J.S.; MILLS, A.L. & HORNBERGER, G.M. Chances in the sorption capacity of Coastal Plain sediments due to redox alteration of mineral surfaces. *Appl. Geochem.*, 17:387-398, 2002.

KOSTKA, J.E. & NEALSON, K.H. Dissolution and reduction of magnetite by bacteria. *Environ. Sci. Tech.*, 29:2535-2540, 1995.

KÜSEL, K.; WAGNER, C.; TRINKWALTER, T. GÖßNER, A.S.; BÄUMLER, R. & DRAKE, H. Microbial reduction of Fe(III) and

turnover of acetate in Hawaiian soils. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 40:73-81, 2002.

LEE, K.E. & PANKHURST, C.E. Soil organisms and sustainable productivity. *Aust. J. Soil Res.*, 30:855-892, 1992.

LEMIEUX, G. Fundamentals of forest ecosystem pedogenetics: an approach to metastability through. *Tellurian Biology*. Quebec, Laval University, 1997, 59p.

LITTLE, B.J.; WAGNER, P.A. & LEWANDOWSKI, Z. Spatial relationships between bacteria and mineral surfaces. *R. Mineral.*, 35:123-159, 1997.

LOVLEY, D.R. & PHILLIPS, E.J.P. Rapid assay for microbially reducible ferric iron in aquatic sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53:1536-1540, 1987.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M. & PARKER, J. Brock biology of microorganisms. 9.ed. New Jersey, Printice Hall, 2000. 991p.

MAYER, T.D. & JARRELL, W.M. Phosphorus sorption during iron(III) oxidation in the presence of dissolved silica. *Water Res.*, 34:3949-3956, 2000.

McKEAGUE, J.A., ed. Manual on soil sampling and methods of analysis. 2.ed. Ottawa, Can. Soc. Soil Sci., 1978. 212p.

MELLO, J.W.V.; BARRÓN, V. & TORRENT, J. Phosphorus and iron mobilization in flooded soils from Brazil. *Soil Sci.*, 167:122-132, 1998.

RODEN, E.E. & ZACHARA, J. Microbial reduction of crystalline Fe(III) oxides: influence of oxide surface area and potential for cell growth. *Environ. Sci. Tech.*, 30:1618-1628, 1996.

PETERS, V. & CONRAD, R. Sequential reduction processes and initiation of CH<sub>4</sub> production upon flooding of oxic upland soils. *Soil Biol. Biochem.*, 28:371-382, 1996.

RODEN, E.E.; SOBOLEV, D.; GLAZER, B. & LUTHER III, G.W. New insights into the biogeochemical cycling of iron in circumneutral sedimentary environments: Potential for a rapid microscale bacterial Fe redox cycle at the aerobic-anaerobic interface, In: COATES, J.D. & ZHANG, C., eds. Iron in the natural environment: biogeochemistry, microbial diversity, and bioremediation, Kluwer, 2001.

SCHWERTMANN, U. & TAYLOR, R.M. Iron oxides. In: Minerals in soil environments. 2.ed. Madison, SSSA, 1989. p.379-438.

SEXTONE, A.J.; REVSBECH, N.P.; PARKIN, T.B. & TIEDJE, J.M. Direct measurement of oxygen profiles and denitrification rates in soil aggregates. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 49:645-651, 1985.

SOBOLEV, D. & RODEN, E.E. Evidence for rapid microscale bacterial redox cycling of iron in circumneutral environments. *Anton. van Leeuw*, 2001a.

SOBOLEV, D. & RODEN, E.E. Suboxic deposition of ferric iron by bacteria in opposing gradients of Fe(II) and oxygen at circumneutral pH. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67:1328-1334, 2001b.

SWIFT, R.S. Organic matter characterization. In: SPARKS, D.L., ed. Methods of Soil Analysis, part 3. Madison, Soil Science Society of America, 1996. p.1011-1069.

WILLETT, I. & HIGGINS, M.L. Phosphate sorption and extractable iron in soils during irrigated rice-upland crop rotations. *Austr. J. Exper. Agric. Animal Husb.*, 20:346-353, 1980.

ZACHARA, J.M.; FREDRICKSON, J.K.; FREDRICKSON, L.; FREDRICKSON, S.-W.; KENNEDY, D.W.; SMITH, S.C. & GASSMAN, P.L. Bacterial reduction of crystalline Fe<sup>3+</sup> oxides in single phase suspensions and subsurface minerals. *Am. Mineral.*, 83:1426-1443, 1998.



## Remoção de ácido húmico da água por flotação com a utilização de surfatantes catiônicos

Mariana Coutinho Brum<sup>1</sup> (PG), Rodrigo dos Santos Borges<sup>1</sup> (IC), Vinícius de Melo Benites<sup>2</sup> (PQ) e José Farias de Oliveira<sup>1</sup> (PQ)\*

1-Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais – COPPE/UFRJ, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ

2- Embrapa Solos, Rio de Janeiro –RJ. \*e-mail: oliveira@metalmat.ufrj.br

Palavras-chave: ácido húmico, flotação, surfatante catiônico

### Introdução

Apesar da complexidade da estrutura do ácido húmico (AH), com seu elevado teor de aromáticos e muitos grupamentos carboxílicos, não se trata de uma substância tóxica. No entanto, a resistência do AH ao ataque de microorganismos afeta a eficiência do tratamento biológico empregado, por exemplo, em lixívias de aterro sanitário. Porém, o foco do presente trabalho está voltado para a remoção de AH de águas de consumo humano. Muitas vezes a baixa qualidade da água, evidenciada por excessiva coloração escura, torna-a indesejável para o consumo. Quando a qualidade da água está muito abaixo dos padrões ou com excesso de matéria orgânica ela é submetida à etapa de desinfecção em uma unidade de tratamento de água. Nesta etapa o desinfetante mais utilizado é o cloro que reage com o AH presente na água formando clorofenóis que são substâncias prejudiciais à saúde.

Devido aos problemas mencionadas acima, várias técnicas vêm sendo utilizadas com sucesso na remoção de AH visando à purificação da água. Uma delas consiste na floculação seguida de sedimentação ou filtração. Os agentes de floculação são divididos em três grupos: (i) floculantes inorgânicos (sulfato de alumínio); (ii) polímeros sintéticos (derivados de poli(acrilamida)); (iii) floculantes naturais como biopolímeros (chitosan). Os três floculantes foram utilizados por (i) Duan *et al.*<sup>1</sup>, (ii) Kam e Gregory<sup>2</sup> e (iii) Zhang e Bai<sup>3</sup> para remover AH. Dentre esses floculantes o sulfato de alumínio é o mais utilizado em processos de tratamento de água e foi utilizado por Cassel *et al.*<sup>4</sup> para remover AH de água através da flotação. Porém, estudos revelam que concentrações residuais de alumínio em água tratada podem provocar problemas de saúde como a doença de Alzheimer. Os polímeros sintéticos orgânicos, utilizados na floculação, também causam danos ao meio ambiente e à saúde, pois alguns não são biodegradáveis. Os trabalhos de Zouboulis *et al.*<sup>5,6</sup> tentam contornar os problemas citados utilizando a técnica da flotação com um surfatante catiônico e biofloculante para a remoção de AH de água de lixívia.

Os trabalhos mencionados acima reforçam que a flotação apresenta um grande potencial na remoção de orgânicos, colóides, íons e macromoléculas no tratamento de água de um modo geral (Rubio *et al.*)<sup>7</sup>.

### Metodologia

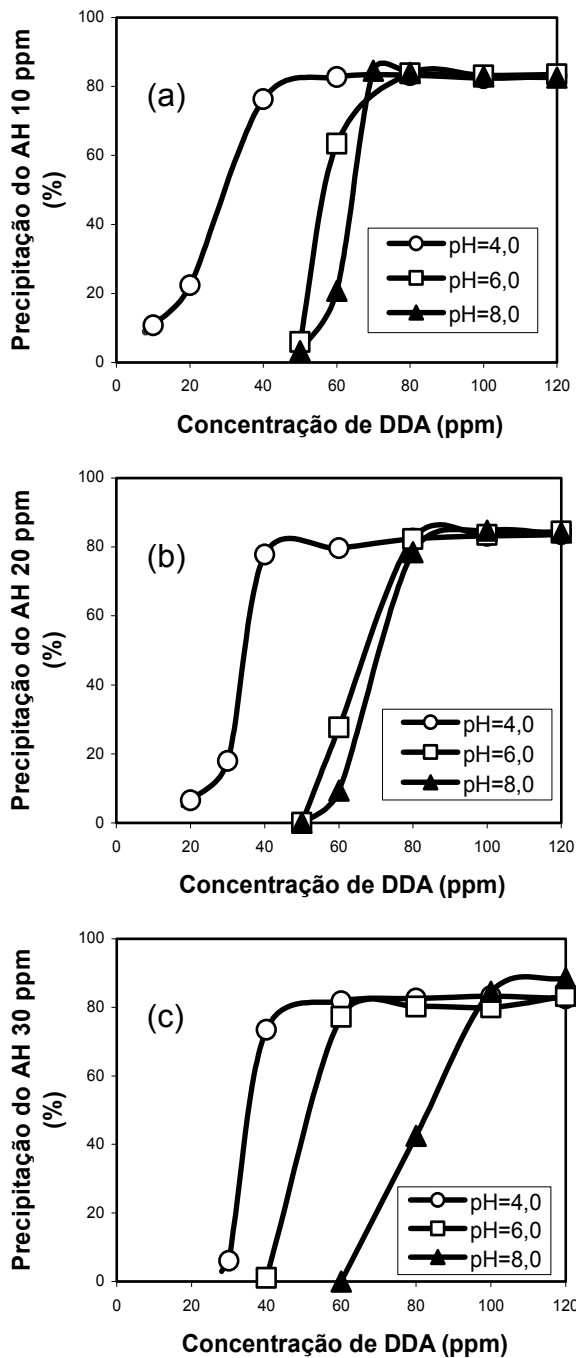
Para quantificar a precipitação do AH com os surfatantes catiônicos, CTAB e DDA, utilizou-se uma centrífuga Centra-CL3, modelo OM 3750 da Thermo IEC. As soluções eram centrifugadas a 4000 rpm durante 20 minutos. O sobrenadante era separado para posterior quantificação da concentração residual de AH através das medidas de absorvância na faixa do UV em um espectrômetro UV-1601PC da Shimadzu Corporation em cubeta de quartzo. Uma correlação linear muito boa foi observada entre a concentração de AH e absorvância na região do UV, no comprimento de onda de 254 nm. Para este comprimento de onda não foi observado nenhum valor de absorvância para os surfatantes CTAB e DDA, sendo assim possível determinar corretamente a concentração residual de AH em solução.

A distribuição de tamanho das partículas foi determinada através da análise em equipamento Malvern Mastersizer Micro "Plus", MAF 5001. Este equipamento utiliza como princípio o espalhamento de luz para determinação da distribuição das partículas na faixa de diâmetro entre 0,05-500 µm.

A flotação foi efetuada em uma célula de flotação EMDEE Microflot onde a mesma fração dos dois reagentes foi utilizada para preparar a amostra para a flotação dos precipitados formados a partir de uma mistura de AH e surfatante catiônico. O tempo de condicionamento da amostra foi de 10 minutos com leve agitação em um agitador magnético. A concentração final de AH em solução foi fixada em 10, 20 e 30 ppm com base nos ensaios de precipitação previamente realizados. Pelo fato do pH inicial médio ser 9,8 para o sistema AH/CTAB e 8,8 para o AH/DDA foi preciso fazer o ajuste com HCl até atingir-se o pH 6,0, utilizando-se um medidor de pH ORION, modelo 710.

## Resultados e Discussão

Os resultados dos testes de precipitação apresentados nas Figuras 1 e 2 mostram a influência da concentração de surfatante em relação à variação do pH ao manter-se constante a concentração de AH em solução. Estes resultados mostram que o efeito do pH é significativo na precipitação do AH. Em pH 4,0 a concentração de surfatante necessária para atingir a precipitação máxima do AH foi mais baixa do que nos outros valores de pH estudados (Fig. 1 e 2).

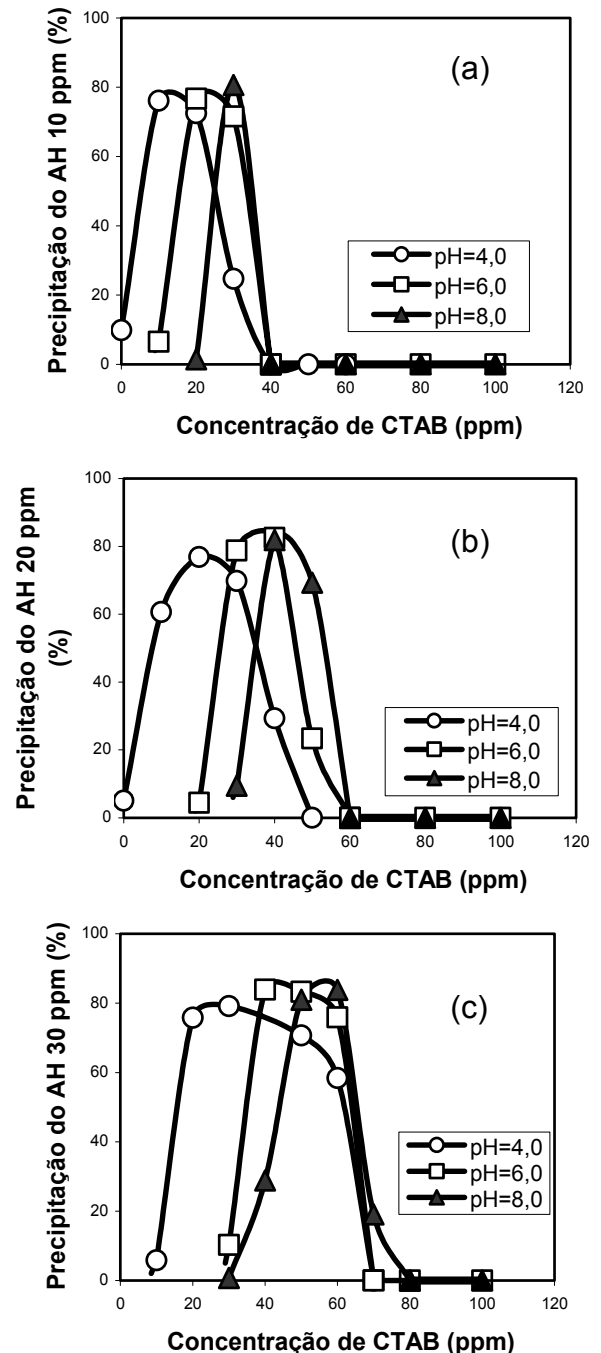


**Figura 1.** Variação da precipitação do AH 10 ppm (a), 20 ppm (b) e 30 ppm (c) em função da concentração de DDA em pH=4,0, 6,0 e 8,0, para um tempo  $t=10$  min.

Isto se deve ao fato do aumento do número de grupamentos carboxílicos do AH dissociados ao aumentar-se o pH de 4,0 para 8,0.

Com relação ao aumento da concentração de AH é possível observar-se claramente que na Fig.2 faz-se necessário 20 ppm de CTAB para a precipitação máxima do AH (10 ppm), 35 ppm para AH (20 ppm) e 40 ppm para AH (30 ppm) em pH 6,0.

Além disso a comparação entre as Figuras 1 e 2 revela que a concentração de surfatante para atingir a precipitação máxima, em torno de 90%, é menor no sistema AH/CTAB para todos os valores de pH.



**Figura 2.** Variação da precipitação do AH 10 ppm (a), 20 ppm (b) e 30 ppm (c) em função da concentração de CTAB em pH= 4,0, 6,0 e 8,0, para um tempo  $t=10$  min.

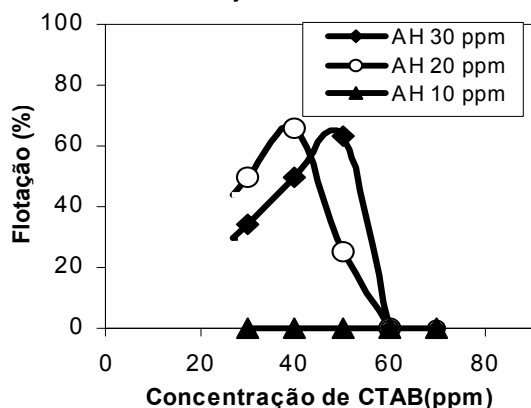
No entanto, os precipitados formados no sistema AH/CTAB são visualmente mais finos do que aqueles formados no sistema AH/DDA nas mesmas condições. A formação de flocos menores no caso do CTAB deve-se provavelmente a um maior impedimento estérico imposto pelas três metilas presentes na porção polar da molécula de CTAB.

A partir desta observação fez-se necessária uma melhor investigação a respeito do tamanho de partícula dos precipitados. Pinheiro *et al.*<sup>8</sup> estudaram o diâmetro de partícula das substâncias húmicas e verificaram para AH na concentração de 30 ppm um diâmetro médio de 148 nm. Portanto, os valores que estão na tabela abaixo para os precipitados formados são significativamente maiores que os das substâncias húmicas precipitadas espontaneamente. Na Tabela I estão apresentados os valores de diâmetro médio das partículas (µm) obtidos no presente trabalho para os dois sistemas nas mesmas concentrações, em função do grau de agitação utilizado. Existe uma redução no diâmetro médio das partículas nos dois sistemas quando uma maior rotação é empregada, revelando a fragilidade dos precipitados formados.

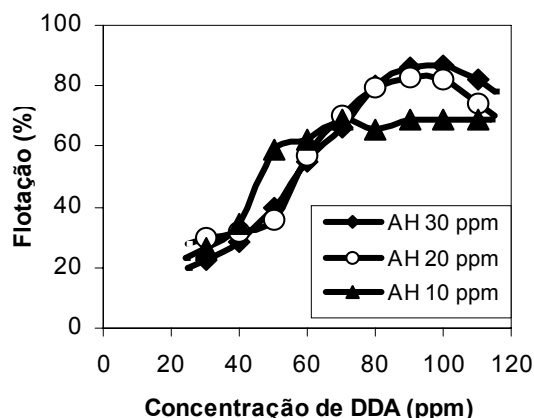
**Tabela I.** Diâmetro médio das partículas precipitadas em função da intensidade de agitação do sistema. Medidas feitas em equipamento Malvern Mastersizer

SISTEMA	ROTAÇÃO (rpm)	DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS (µm)
AH-CTAB (30-50 ppm)	600	43,35
	1000	39,00
	2000	11,43
AH-DDA (30-50 ppm)	600	56,99
	1000	44,08
	2000	29,67

A flotação dos precipitados formados a partir da mistura de ácido húmico e surfatante catiônico foi efetuada em uma célula de flotação EMDEE Microflot que foi originalmente desenvolvida para ser utilizada em testes de flotabilidade de minerais por Chudacek<sup>9</sup> e Ulusoy *et al.*<sup>10</sup>.



**Figura 3.** Variação da remoção do ácido húmico por flotação em função da concentração de CTAB em pH=6,0 na célula EMDEE, para três valores de concentração de ácido húmico.



**Figura 4.** Variação da remoção do ácido húmico por flotação em função da concentração de DDA em pH=6,0 na célula EMDEE, para três valores de concentração de ácido húmico.

É importante enfatizar que, no presente estudo, os surfatantes utilizados apresentam uma tripla função: são agentes precipitantes, coletores e espumantes ao mesmo tempo.

As Figuras 3 e 4 apresentam, respectivamente, a variação da remoção de AH por flotação em função da concentração de CTAB ou DDA, utilizada na etapa de precipitação. Os ensaios foram realizados para 10, 20 e 30 ppm de AH em pH=6,0. Estes valores foram escolhidos visando simular concentrações de AH próximas das encontradas em águas superficiais. Jones e Bryan<sup>11</sup> relatam concentrações típicas da ordem de 40 ppm.

As curvas das Figuras 3 e 4 mostram que a remoção máxima independe da concentração de AH em solução. A remoção de AH com DDA (Fig. 4), da ordem de 90%, apresentou valores mais elevados que a do AH com CTAB (Fig. 3), cujo máximo situa-se em torno de 65%.

Observa-se que a remoção do AH através da flotação caiu de forma brusca com o aumento da concentração de CTAB a partir de 60 ppm (Fig.3). Quando existe um excesso de CTAB, a porção apolar da molécula de CTAB interage, através de forças de van der Waals, com a que fica para fora na ligação entre a molécula de CTAB com AH, afetando a hidrofobicidade do precipitado

Foi feita uma comparação visual dos precipitados formados nos pontos em que se obteve a remoção máxima de AH nos sistemas AH/DDA e AH/CTAB. Esta comparação comprovou que, de fato, o tipo de precipitado formado é fundamental para uma remoção efetiva de AH através da flotação. No sistema AH/DDA o precipitado formado é composto de flocos visivelmente maiores do que aqueles formados no sistema AH/CTAB, que apresenta menor remoção de AH.

## Conclusões

A remoção de AH pelo processo de precipitação e flotação apresentou em escala de laboratório resultados promissores. Utilizando-se a célula EMDEE Microflot os ensaios realizados após precipitação com DDA apresentaram uma recuperação da ordem de 90% para uma concentração inicial de 30 ppm de AH. A concentração de surfatante apresentou-se como uma variável crítica no processo. Os resultados obtidos indicam não ser essencial a adição de espumante.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pelo apoio financeiro.

<sup>1</sup> Duan, J., Wang, J., Graham, N. & Wilson F., Coagulation of humic acid by aluminium sulphate in saline water conditions, *Desalination*, **2002**, v.150, pp.1-14.

<sup>2</sup> Kam, S.K. & Gregory, J., The interaction of humic substances with cationic polyelectrolytes, *Wat. Res.*, **2001**, v. 35, n.15, pp. 3557–3566.

<sup>3</sup> Zhang, X & Bai, R., Mechanisms and kinetics of humic acid adsorption onto chitosan-coated granules, *Journal of Colloid and Interface Science*, **2003**, v. 264, 30–38.

<sup>4</sup> Cassel, E.A., Kaufman, K.M. & Matjevic, E. The Effects of Bubble Size on Microflotation, *Water Research, The Journal of the International Association on Water Pollution Research*, **1975**, v.9, n.12.

<sup>5</sup> Zouboulis, A.I., Jun, W. & Katsoyiannis, I.A., Removal of humic acids by flotation, *Colloids and Surfaces A, Physicochem.Eng.Aspects*, **2003**, v.231, p.181-193.

<sup>6</sup> Zouboulis, A.I., Chai, X.L. & Katsoyiannis, I.A., “The application of bioflocculant for the removal of humic acids from stabilized landfill leachates”, *Journal of Environmental Management*, **2004**, v.70 p.35-41.

<sup>7</sup> Rubio, J., Souza, M.L. & Smith, R.W., Overview of flotation as a wastewater treatment technique, *Minerals Engineering*, **2002** v.15, pp.139–155.

<sup>8</sup> Pinheiro, J.P., Mota, A.M., Oliveira J.M.R. & Martinho, J.M.G., Dynamic Properties of humic matter by dynamic light scattering and voltametry, *Analytica Chimica Acta*, **1996**, v.329, p. 15-24.

<sup>9</sup> Chudacek, M.W., EMDEE Microflot floatability test, *International Journal of Mineral Processing*, **1991** v. 33, p.383-396.

<sup>10</sup> Ulusoy, U. & Yekeler, M., Correlation of the surface roughness of some industrial minerals with their wettability parameters, *Chemical Engineering and Processing*, **2005**, v.44, p.557-565.

<sup>11</sup> Jones, M.N. & Bryan, N.D., Colloidal properties of humic substances, *Advances in Colloid and Interface Science*, **1998**, v.78, p.1-48.

## Avaliação do processo de compostagem de resíduos orgânicos por FTIR

Mariana L. de Calais<sup>1,2\*</sup> (IC), Lucimar L. Fialho<sup>1,3</sup> (PG), Débora M. B. P. Milori<sup>1</sup>(PQ), Wilson T. L. Silva<sup>1</sup>(PQ)

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, 1452, Cp. 741, CEP: 13560-970, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Universidade Federal de São Carlos, (UFSCAR), Departamento de Química, Rodovia Washington Luís (SP-310), Km 235, CEP: 13565-905, São Carlos, SP. <sup>3</sup>Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, Av. Trabalhador São Carlense, 400, Cp. 780, CEP: 13560-970, São Carlos, SP. e-mail: \*e-mail: mari\_calais@yahoo.com.br

Palavras Chave: Compostagem, Substâncias Húmicas, FTIR.

### Introdução

A compostagem é um processo de decomposição aeróbia da matéria orgânica e durante o mesmo, há desprendimento de gás carbônico, água na forma de vapor e energia, devido à ação dos microrganismos. Parte da energia é usada para crescimento e movimento, sendo a restante liberada como calor, que se procura conservar na pilha de compostagem. Como resultado, a pilha se aquece, atinge uma temperatura elevada, resfria e atinge estágio de maturação. O composto final, húmus, é constituído de partes resistentes dos resíduos orgânicos, produtos decompostos e microrganismos mortos e vivos. Em outras palavras, a partir de uma mistura de restos de alimentos, frutas, folhas, esterco, palhadas, etc., obtém-se, no final do processo, um adubo orgânico homogêneo, com cheiro característico, de cor escura, estável, solto, pronto para ser usado em qualquer cultura sem causar dano e proporcionando uma melhoria nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo<sup>1</sup>.

Durante o processo de compostagem a ação e a interação dos microrganismos dependem da ocorrência de condições favoráveis, tais como temperatura, umidade, aeração, pH, tipo de compostos orgânicos existentes e concentração e tipos de nutrientes disponíveis. É importante ter em mente que esses fatores ocorrem simultaneamente, e que a eficiência da compostagem baseia-se na interdependência e inter-relacionamento desses fatores.

A maturidade do composto não deve ser confundida com qualidade. Maturidade é o resultado de uma correta decomposição microbiológica da matéria orgânica, originando nutrientes e húmus. Um composto de qualidade, além de ter perfeita maturidade (estabilidade), deve apresentar características e propriedades que não torne o produto inadequado para uso agrícola<sup>2</sup>.

Os efeitos negativos da aplicação do composto imaturo no sistema solo-planta têm sido discutido na literatura. O composto imaturo induz a elevada atividade microbiana no solo, o que reduz a

concentração de oxigênio no mesmo e diminui a disponibilidade de nitrogênio no solo<sup>3</sup>.

O objetivo deste trabalho é avaliar as propriedades do composto em diferentes níveis de maturidade, sendo que, para tal avaliação, faz-se uso da técnica de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)<sup>4</sup>.

### Resultados e Discussão

Quatro leiras (L) de aproximadamente 3,6 m<sup>3</sup> foram montadas, e nelas colocadas diferentes resíduos de matéria orgânica, apresentadas na Tabela 1. Diariamente, a temperatura das leiras foi monitorada e as mesmas revolvidas no intervalo de 5 a 7 dias durante a fase termofílica. A temperatura no interior da leira 1 ficou em torno de 35 °C durante todo o processo, enquanto nas leiras 2, 3 e 4 alcançaram, na fase termofílica, a faixa de 60, 55 e 60 °C, respectivamente, retornando a fase mesofílica após aproximadamente 95 dias de compostagem.

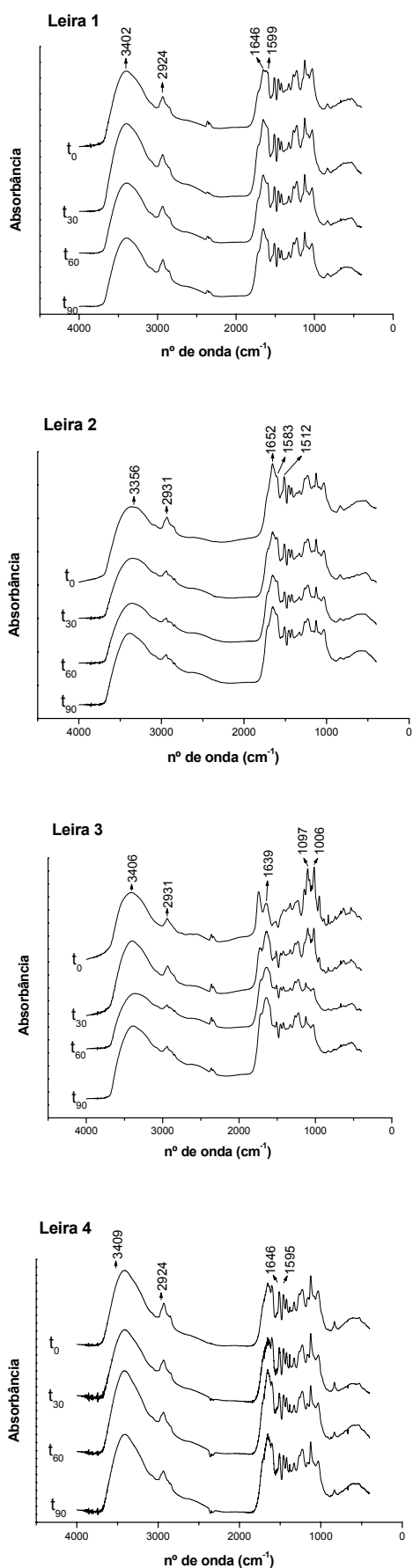
**Tabela 1.** Resíduos de matéria orgânica nas diferentes leiras

Leiras	Resíduos
L1	Poda de árvore
L2	Poda de árvore + esterco bovino fresco
L3	Poda de árvore + bagaço de laranja
L4	Poda de árvore + torta de filtro*

\* Resíduo de usina de cana de açúcar

Os espectros de FTIR obtidos do material extraído segundo a metodologia de extração de ácidos húmicos, sugerida pela IHSS, nos tempos  $t_0$ ,  $t_{30}$ ,  $t_{60}$  e  $t_{90}$  são apresentados na Figura 1. Essas medidas tem mostrado mudanças na estrutura das substâncias húmicas, que varia segundo o tempo e as condições de compostagem.





**Figura 1.** Espectros de FTIR dos compostos com 0, 30, 60 e 90 dias de compostagem.

As atribuições das bandas de absorção de FTIR usualmente observadas nas substâncias húmicas encontram-se na Tabela 2.

**Tabela 2.** Atribuições das principais bandas de absorção no infravermelho de substâncias húmicas<sup>5</sup>

Nº de onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuições
3400-3300	Estiramentos O-H e N-H inter- e intra-molecular
2940-2900	Estiramento C-H alifático
1725-1720	Estiramento C=O de COOH e cetonas (traços)
1660-1630	Estiramento C=O da amida (amida I), C=O de quinona e/ou C=O ligados ao H de cetonas conjugadas
1620-1600	Estiramento C=C aromático
1590-1517	Estiramento COO <sup>-</sup> simétrico, deformação N-H e estiramento C=N
1460-1450	Estiramento C-H alifático e de grupos metila
1400-1390	Deformação OH e estiramento C-O de OH fenólico, deformação C-H de CH <sub>2</sub> e CH <sub>3</sub> , estiramento COO <sup>-</sup> assimétrico
1280-1200	Estiramento C-O e deformação de OH de COOH, estiramento C-O (de aril-éteres, ésteres, aromático, fenólico)
1170-950	Estiramento C-O de estruturas tipo polissacarídeos, estiramento Si-O (impurezas orgânicas)

Nos espectros apresentados para a leira 1, que é constituída somente por poda de árvore, observou-se que não houve grande variação da intensidade das bandas de absorção nos diferentes tempos de compostagem. Isso deve-se, provavelmente, a maior demora no processo de decomposição desse resíduo orgânico.

Na leira 3 foi onde verificou-se grandes mudanças ao longo do processo de compostagem. Nota-se uma nítida diminuição da banda de estiramento C-H de alifático na região de 2940-2900 cm<sup>-1</sup> devido a maior facilidade desse grupo sofrer degradação, e outra diminuição significativa da banda correspondente ao estiramento C-O de estruturas

tipo polissacarídeos, na região de 1170-950  $\text{cm}^{-1}$ , já que um dos constituintes desse resíduo é o bagaço de laranja, responsável pela queda da taxa de açúcar durante o processo.

Na região de 1660-1630  $\text{cm}^{-1}$ , associada ao estiramento C=O de amida, C=O de quinona e/ou C=O ligados ao H de cetonas conjugadas, bem como na região de 1620-1600  $\text{cm}^{-1}$ , onde se encontra o pico de estiramento C=C de aromático, foi observado um aumento da concentração de aromáticos, que ocorre em consequência da diminuição da concentração de alifáticos no decorrer dos 90 dias de compostagem.

## Conclusões

Deste trabalho, conclui-se que após 90 dias de compostagem somente a leira 1, de poda de árvore, apresentou modesta evolução para composto. Também, que as leiras 2, 3 e 4 apresentaram significativa diminuição de estruturas alifáticas e,

simultaneamente, concentração de estruturas aromáticas.

Para uma completa caracterização estrutural do material extraído, a utilização conjunta de diferentes técnicas experimentais é, muitas vezes, necessária, técnicas estas que já estão sendo empregadas.

## Agradecimentos

Apoio financeiro da Embrapa (02.02.2.13.00.07) e Fapesp (03/06097-4).

<sup>1</sup>Bettiol, W. e Camargo, O. A.. Impacto ambiental do uso de lodo de esgoto. Jaguariuna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente. **2000**, 312p.

<sup>2</sup>Kiehl, E. J.. Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto. Piracicaba. **1998**, 172p.

<sup>3</sup>Tiquia, S. M.; Tam, N. F. Y. e Hodgkiss, I. J.. Effects of turning frequency on composting of spent pig-manure sawdust litter. *Bioresource Technology*, **1997**, v. 62, 37-42p.

<sup>4</sup>Jerzykiewicz, M., Drozd, J. e Jezierski, A. Organic radicals and paramagnetic metal complexes in municipal solid waste composts. An EPR and chemical study. *Chemosphere*, **1999**, v. 39, No 2, 253-268p.

<sup>5</sup>Stevenson, F. J.. Humus chemistry: gênese, composition, reactions. 2<sup>nd</sup> ed. New York: John Wiley & Sons. **1994**, 496p.

## Estoques de carbono do solo na mudança de uso da terra em Vilhena (RO)

João Luís Nunes Carvalho\*<sup>1</sup> (PG), Carlos Eduardo P. Cerri<sup>2</sup> (PQ), Carlos C. Cerri<sup>2</sup> (PQ), Brigitte J. Feigl<sup>2</sup> (PQ), Marisa de C. Píccolo<sup>2</sup> (PQ)

<sup>(1,2)</sup> Laboratório de Biogeoquímica Ambiental – Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Universidade de São Paulo. Caixa postal 96, CEP. 13400-970, Piracicaba, SP. \*e-mail: jlncarva@esalq.usp.br

Palavras Chave: Plantio Direto, Cerrado e Carbono.

### Introdução

O Cerrado é uma das últimas fronteiras agrícolas do mundo. Perfis de solo profundos e topografia plana, associados a estações secas e chuvosas bem definidas favorecem o planejamento do plantio e da colheita. Essas condições fazem do Cerrado uma das fronteiras agrícolas mais promissoras do mundo <sup>(1)</sup>.

A conversão da vegetação natural do Cerrado para um agrossistema através da derrubada e queima, resulta na diminuição do estoque de matéria orgânica do solo (MOS) <sup>(2,3)</sup> e emissão de gases do efeito estufa (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub>O) para a atmosfera. Além disso, esta conversão para sistema plantio convencional (SPC), baseado em aração e gradagem é agressiva para o solo, com grande poder de degradação e redução da MOS <sup>(4,5)</sup> e conseqüente liberação dos gases já mencionados anteriormente.

Por outro lado, a adoção de sistema de manejos mais conservacionistas, tais como o sistema plantio direto (SPD), pelo fato do solo não ser revolvido, interfere menos na taxa de decomposição da MOS, favorecendo a manutenção e o acúmulo desta no solo <sup>(4,5)</sup>, podendo ser considerada alternativa de sequestro de carbono e mitigação da emissão de gases do efeito estufa, auxiliando assim, na atenuação dos impactos relativos às mudanças climáticas globais.

Entretanto, pesquisas ainda não são conclusivas sobre o acúmulo de C no SPD. Diversos trabalhos relatam aumento significativo de MOS no SPD em comparação com as práticas convencionais <sup>(4,6,7,8,9,10)</sup>, enquanto outros não detectaram nenhuma diferença <sup>(11,12,13)</sup>. Esta divergência nos resultados é atribuída às condições experimentais e a quais tipos de sistema podem ser considerados como plantio direto. O acúmulo de MOS no SPD ocorre muito lentamente, levando vários anos para se tornar expressivo <sup>(4)</sup>.

O objetivo deste trabalho foi quantificar as alterações no estoque de carbono do solo no processo de conversão do Cerrado em área agrícola sob SPD.

O trabalho foi conduzido na Fazenda União (60°00'W, 12°29'S) no município de Vilhena (RO). O solo da região é classificado como Latossolo

Vermelho Amarelo Distrófico muito argiloso e o clima da região é o Aw (Köppen).

A área foi sistematicamente desmatada desde 1999 para a implantação de culturas anuais. Inicialmente foi cultivado arroz no SPC durante dois anos, depois o sistema passou a ser cultivado com soja em rotação com milho sob SPD, resultando uma cronosequência que constitui as seguintes situações: Cerrado (C), 1 ano de PC com cultivo de arroz (1 PC), 2 anos de PC com cultivo de arroz (2 PC), e após esses 2 anos de preparação sob PC, tem-se: 1 ano de PD cultivado com soja em rotação com milho (1 PD), 2 anos de PD cultivado com soja em rotação com milho (2 PD), 3 anos de PD cultivado com soja em rotação com milho (3 PD).

A amostragem de solo foi realizada em junho de 2004. Para cada situação foram abertas cinco trincheiras, onde se amostrou 0-5, 5-10 cm empregando-se anéis de aço inox com diâmetro de 5 cm e altura de 5 cm. Este tipo de amostragem permite a determinação da densidade aparente do solo após determinação da umidade do solo. Em seguida, para determinação dos teores de C total, as amostras foram secas ao ar, homogeneizadas, moídas, passadas em peneiras a 60 mesh e analisadas por combustão a seco pelo equipamento LECO CN-2000, no Laboratório de Biogeoquímica Ambiental (CENA-USP).

O cálculo do estoque de C corrigido (para comparar a mesma massa de solo em relação a vegetação nativa) baseou-se no teor de C (%), na densidade aparente (g cm<sup>-3</sup>) e profundidade da respectiva camada <sup>(14)</sup>. Os estoques de C foram corrigidos para uma profundidade equivalente, ou seja, uma profundidade no solo sob PC e PD contendo a mesma massa de solo correspondente ao Cerrado (referência), segundo <sup>(15)</sup>.

### Resultados e Discussão

Os valores de densidade aparente do solo nas camadas amostradas foram menores no Cerrado em relação às demais situações. Nas situações 1 PC e 2 PC a densidade na camada de 0 – 10 cm de aproximadamente 0,93 g cm<sup>-3</sup> enquanto que nas que utilizaram SPD ocorreu um aumento na densidade do solo, porém os valores obtidos não apresentaram tendência progressiva de aumento.

O teor de C no Cerradão foi maior que nas demais situações. Em 1 PD houve uma redução nos teores de C, no entanto, nas outras situações houve um aumento dos teores de C, provavelmente resultante do incremento de material vegetal pelas culturas implantadas.

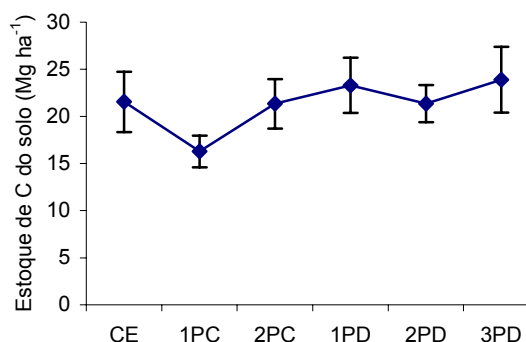
**Tabela 1.** Valores de densidade aparente do solo ( $\text{g cm}^{-3}$ ) e teores de C no solo (%) para Cerradão (C), 1 ano de PC com arroz (1 PC), 2 anos de PC com arroz (2 PC) e 1 PD, 2 PD e 3PD para 1, 2 e 3 anos de PD com soja em sucessão com milho após os 2 anos de PC, respectivamente.

Situações	Prof. cm	Densidade do Solo* $\text{g cm}^{-3}$	Teores de C no solo* %
C	0 – 5	$0,63 \pm 0,04$	$3,82 \pm 0,60$
	5 – 10	$0,73 \pm 0,12$	$2,60 \pm 0,50$
1 PC	0 – 5	$0,90 \pm 0,08$	$2,53 \pm 0,30$
	5 – 10	$0,96 \pm 0,10$	$2,21 \pm 0,35$
2 PC	0 – 5	$0,89 \pm 0,06$	$3,28 \pm 0,48$
	5 – 10	$0,95 \pm 0,06$	$2,98 \pm 0,37$
1 PD	0 – 5	$1,16 \pm 0,11$	$3,51 \pm 0,43$
	5 – 10	$1,20 \pm 0,05$	$3,23 \pm 0,48$
2 PD	0 – 5	$1,03 \pm 0,14$	$3,20 \pm 0,29$
	5 – 10	$1,02 \pm 0,02$	$2,91 \pm 0,32$
3 PD	0 – 5	$1,16 \pm 0,04$	$3,56 \pm 0,54$
	5 – 10	$1,11 \pm 0,12$	$2,93 \pm 0,38$

Média ( $n=5$ )  $\pm$  desvio padrão

Os estoques de C corrigidos foram alterados pela mudança do uso da terra. O Cerradão (CE) continha um estoque de  $21,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ , com a mudança do uso da terra (1 PC) o estoque de C teve uma redução significativa para  $16,3 \text{ Mg ha}^{-1}$ . O estoque de MOS apresenta rápida queda quando o solo é submetido a sistemas e preparo com intenso revolvimento<sup>(16)</sup> decorrente do aumento da oxidação microbiana e ainda pela utilização do fogo para limpeza da área. No segundo ano de cultivo (2 PC) o estoque de C foi  $21,3 \text{ Mg ha}^{-1}$ , praticamente igual ao do Cerradão, que é resultado do aporte de material vegetal que foi adicionado pela cultura do arroz.

Os estoques de C das áreas sob SPD foram  $23,3$ ;  $21,3$  e  $23,9 \text{ Mg ha}^{-1}$ , para as situações 1 PD, 2 PD e 3 PD, respectivamente. Nestas áreas sob PD os estoques de C apresentaram uma tendência de aumento em relação ao Cerradão (Figura 1), mas ocorreu uma oscilação nestes estoques que provavelmente se deve ao pouco tempo de adoção do SPD e possível variabilidade espacial na área de estudo. Esses resultados ilustram a capacidade que o SPD apresenta de recuperar e até estocar C no solo, concordando com outros estudos de<sup>(4,6,7,8,9,10)</sup>.



**Figura 1.** Estoques de C do solo corrigidos ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) da camada 0 – 10 cm nas situações Cerradão (C), 1 ano de PC com arroz (1 PC), 2 anos de PC com arroz (2 PC) e 1 PD, 2 PD e 3PD para 1, 2 e 3 anos de PD com soja em sucessão com milho após o plantio convencional, respectivamente.

## Conclusões

O SPD mostrou uma tendência de aumento dos teores de C do solo, podendo assim atenuar os impactos relativos às mudanças climáticas globais.

## Agradecimentos

Ao Laboratório de Biogeoquímica Ambiental (CENA-USP), pela realização das análises do trabalho.

Ao Departamento de Solos e Nutrição de Plantas (ESALQ-USP).

À FAPESP pelo financiamento do projeto.

Aos proprietários da Fazenda União.

<sup>1</sup> Almeida, S.P. de. Cerrado: aproveitamento alimentar. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 188p. 1998.

<sup>2</sup> Detwiler, R.P. Land use change and global carbon cycle: the role of tropical soils. *Biogeochemistry*, v.2, p67-93, 1986.

<sup>3</sup> Brown, S. & Lugo, A.E. Effects of forest clearing and succession on the carbon and nitrogen contents of soil in Porto Rico and U.S. Virgin Islands. *Plant and Soil*, v.124, p.53-64, 1990.

<sup>4</sup> Bayer, C. & Mieleniczuk, J. *Dinâmica e função da matéria orgânica*. In: Santos, G. A. & Camargo, F.A.O. (eds.), Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo, Ecosistemas Tropicais e Subtropicais. Gênese, Porto Alegre – RS, p. 1 – 26, 1999.

<sup>5</sup> Resck, D.V.S.; Vasconcellos, C.A.; Vilela, L.; Macedo, M.C.M. Impact of conversion of Brazilian Cerrados to cropland and pasture land on soil carbon pool and dynamics. In: Lal, R. Kimble, J.M. & Stewart, B.A., eds. *Global climate change and tropical ecosystems*. Adv. Soil Sci., Boca Raton, CRC Press. p.169-196, 1999.

<sup>6</sup> Sá, J.C.; Cerri, C.C.; Dick, W.A.; Lal, R.; Venzke Filho, S.P.; Piccolo, M.C.; Feigl, B.J. Organic matter dynamics and carbon sequestration rates for a tillage chronosequence in a Brazilian oxisol. *Soil Sci Soc. Am. J.*, 65: 1486-1499, September-October, 2001.

<sup>7</sup> Bayer, C. & Mieleniczuk, J. Características químicas do solo afetadas por métodos de preparo e sistemas de cultura. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. Campinas, v. 21, p. 105-112, 1997a.

<sup>8</sup> Bayer, C. & Mieleniczuk, J. Nitrogênio total de um solo submetido a diferentes métodos de preparo e sistemas de cultura. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. Campinas, v. 21, p. 235-239, 1997b.

## Dinâmica da matéria orgânica em solos sob pastagem na Amazônia

Carlos Eduardo P. Cerri\*, Marisa C. Piccolo, Brigitte J. Feigl, Carlos C. Cerri

Pesquisadores do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, CP.96. Piracicaba, São Paulo. Fax: (19)34294610, Fone: (19) 34294724; \*e-mail: cepcerri@cena.usp.br

Palavras Chave: carbono e nitrogênio do solo, gases do efeito estufa, biomassa microbiana C.

### Introdução

Tem sido crescente a preocupação mundial em relação as mudanças do clima no planeta, decorrentes, principalmente, do aumento das emissões de gases do efeito estufa, tais como o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), o metano (CH<sub>4</sub>) e o óxido nitroso (N<sub>2</sub>O).

Os aumentos das emissões destes gases são decorrentes da queima de combustíveis fósseis pelas indústrias, meios de transporte, máquinas e o uso da terra para fins agrícolas e as mudanças no uso da terra pelo desmatamento e subsequente queima de biomassa<sup>1</sup>.

Recentemente, verificou-se que grande parte dos gases do efeito estufa é oriunda de atividades agrícolas e pecuárias<sup>2</sup>, caracterizando esses setores de produção como vilões na questão de mudanças climáticas globais.

Um exemplo dessa afirmação são as extensas áreas de florestas convertidas em pastagem na Amazônia, notadamente nos Estados do Pará e Rondônia<sup>3</sup>.

O solo se constitui em um compartimento chave no processo de emissão e seqüestro de carbono. Globalmente, há duas a três vezes mais carbono nos solos em relação ao estocado na vegetação e cerca do dobro em comparação com a atmosfera<sup>4</sup>. Portanto, manejos inadequados podem mineralizar a matéria orgânica e transferir grandes quantidades de gases do efeito estufa para a atmosfera<sup>5</sup>.

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a dinâmica da matéria orgânica do solo em áreas sob pastagem na Amazônia. Para tanto, investigou-se as variações sazonais (estações secas e chuvosas) e inter-relações das variáveis: i) carbono e nitrogênio total do solo; ii) biomassa microbiana C do solo; iii) fluxo de gases (CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O e CH<sub>4</sub>); iv) nitrogênio mineral (nitrato e amônia); v) taxas de mineralização e nitrificação em cinco variações de solos (Tabela 1) sob pastagem contidos na Fazenda Nova Vida, Rondônia.

A escolha de tais solos para avaliação da dinâmica da matéria orgânica foi condicionada pelas seguintes razões: i) todos os solos eram cobertos pela mesma vegetação nativa (floresta tropical aberta com palmeiras)<sup>9</sup>; ii) a conversão para pastagem ocorreu em 1983, utilizando o mesmo tipo de técnica para o desmatamento (corte e queima)<sup>10</sup>; iii) as mesmas práticas de implantação da pastagem

e tipo de gramínea utilizada (*Brachiaria brizantha*) foram utilizadas para os cinco solos<sup>11</sup>; iv) os tipos de solos e condições topográficas podem ser consideradas representativas da região<sup>10</sup>; v) nenhum dos solos recebeu fertilizantes ou qualquer outro insumo agrícola<sup>9</sup>. Tais fatores propiciam condições adequadas para que o objetivo do presente estudo pudesse ser atingido.

**Tabela 1.** Classificação dos solos da área de estudo.

Sigla	Classificação do solo		
	Soil taxonomy <sup>6</sup>	FAO-Unesco <sup>7</sup>	Embrapa <sup>8</sup>
RA	Rhodic Acrudox	Geric Ferralsol (rhodic)	Latossolo vermelho distrofico
XA	Xanthic Acrudox	Geric Ferralsol (xanthic)	Latossolo Amarelo distrofico
TA	Typic Acrudox	Geric Ferralsol (Haplic)	Latossolo vermelho-amarelo distrofico
HX	Humic Xanthic Acrudox	Geric Ferralsol (xanthic)	Latossolo Amarelo distrofico
TP	Typic Plinthudult	Plinthic Acrisol	Argissolo Vermelho Amarelo distrofico

Amostras de solo e gases evoluídos do solo foram coletadas nos cinco tipos de solo (Tabela 1) nos meses de abril (final da estação chuvosa) e outubro (final da estação seca). Foram analisados: teores de C e N do solo<sup>11</sup>, biomassa microbiana C<sup>12</sup>, nitrogênio mineral e taxas de mineralização e nitrificação<sup>13</sup>, fluxo de gases CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub>O<sup>14</sup>, além de outros atributos físicos e químicos dos solos<sup>11</sup>, tais como: pH em água e KCl, conteúdos de argila, silte e areia, δ<sup>13</sup>C e δ<sup>15</sup>N para auxiliar na interpretação e discussão dos resultados.

### Resultados e Discussão

Os conteúdos de biomassa microbiana C do solo variaram amplamente, de 258 a 1717 µg C g<sup>-1</sup> solo na estação chuvosa; já para a estação seca a biomassa C apresentou valores entre 86 e 309 µg C g<sup>-1</sup> solo (Figura 1), sendo que tais resultados estão de acordo com outros estudos realizados na Amazônia<sup>15,16</sup>.

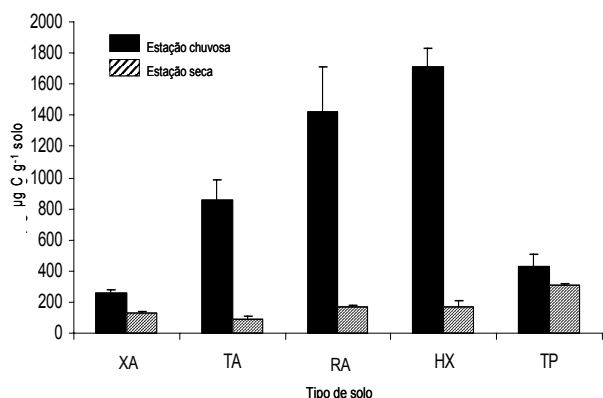
Os solos RA e HX apresentaram os valores mais elevados de biomassa C na estação chuvosa, porém observou-se uma drástica redução (aproximadamente 8 vezes menor) na estação seca. Por outro lado, o solo TP, responsável pelo menor valor de biomassa C, manteve-se quase que constante durante a estação mais seca (Figura 1).

A Figura 2 ilustra os fluxos de CH<sub>4</sub> (a), N<sub>2</sub>O (b), CO<sub>2</sub> (c) nas estações chuvosa e seca para os cinco tipos de solos da área de estudo.

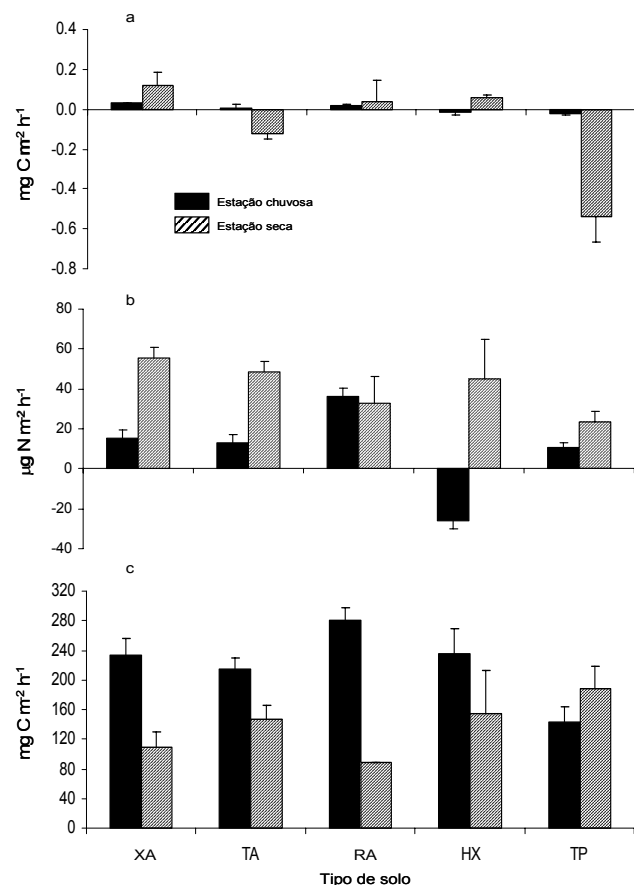
Dióxido de carbono apresentou valores positivos tanto para a estação seca como para a chuvosa,



indicando emissão desse gás para atmosfera. Os resultados desta pesquisa são similares àqueles relatados por outros estudos<sup>14,16</sup> realizados na Fazenda Nova Vida.



**Figura 1.** Biomassa microbiana C do solo para a camada 0-10cm de profundidade.



**Figura 2.** Fluxos de CH<sub>4</sub> (a), N<sub>2</sub>O (b) e CO<sub>2</sub> (c) determinados para os cinco tipos de solos da área de estudo para as estações seca e chuvosa.

Durante a estação chuvosa, a emissão média de CO<sub>2</sub> para os cinco tipos de solos foi de 221,5 mg C m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup> e na estação seca ocorreu uma redução de 1,6 vezes desses valores (137,4 mg C m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>). A maior diferença nos valores de fluxos de CO<sub>2</sub> entre as estações climáticas foi observado para o solo RA, sendo que a emissão na estação chuvosa foi 3 vezes maior do que na seca.

Todos os valores de fluxos de N<sub>2</sub>O foram positivos para a estação seca, indicando a produção desse gás em solos sob pastagem. Todavia, não há diferença significativa entre os diferentes tipos de solos. Em geral, os fluxos de N<sub>2</sub>O foram maiores durante as estações secas e menores nas chuvosas (exceção feita ao solo RA), concordando com estudos já conduzidos em pastagem na região Amazônica<sup>18,19</sup>.

Todos os fluxos de óxido nitroso, independentemente do tipo de solo estudado, apresentaram valores positivos na estação seca. Na estação chuvosa os solos XA, TA e TP apresentaram valores similares de emissões de N<sub>2</sub>O, com variação máxima de 4,5 µg N m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup> entre eles. Nessa mesma estação, o valor mais elevado de emissão de N<sub>2</sub>O (36 µg N m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>) foi obtido para o solo RA. O solo HX mostrou o comportamento mais diferente entre os cinco solos avaliados, funcionando como fonte e sumidouro, de acordo com a estação climática (Figura 2).

Os fluxos de metano apresentaram comportamentos diferentes dos observados para CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O. Na estação das chuvas, os solos XA, TA e RA emitiram cerca de 0,017 µg C m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>, enquanto os solos HX e TP apresentaram valores negativos (absorção) na ordem de 0,02 µg C m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>.

Em condições de baixa umidade, os solos XA, RA e HX funcionaram como fontes de CH<sub>4</sub> para a atmosfera, com valores médios de 0,07 µg C m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>, enquanto que os solos TA e TP funcionaram como sumidouros (valores médios de -0,33 µg C m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>).

A taxa de consumo de metano no solo TP foi, na estação mais seca, aproximadamente 20 vezes maior do que na estação das chuvas. Os resultados obtidos sugerem que a condição de fonte/sumidouro de CH<sub>4</sub> depende não somente da estação climática mas também do tipo de solo.

As concentrações de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N para cada um dos tipos de solos avaliados estão apresentadas na Tabela 2.

Amônia mostrou-se predominante em relação a nitrato nos cinco solos estudados, nas duas camadas avaliadas e para as duas estações climáticas. As concentrações médias de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N na camada 0-5 cm de profundidade (7,3 µg N g<sup>-1</sup> solo seco) foram maiores do que as encontradas para a camada 5-10cm (5,2 µg N g<sup>-1</sup> solo seco), comportamento também relatado por outros estudos realizados na Amazônia<sup>9,13</sup>.

A maior concentração de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N (17,7 µg N g<sup>-1</sup> solo seco) foi observada para o solo TA durante a estação seca na camada 0-5 cm, enquanto que a menor (1,4 µg N g<sup>-1</sup> solo seco) para o solo XA durante a estação chuvosa para a camada 5-10 cm de profundidade.

As concentrações de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N foram menos variáveis do que as apresentadas para NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, mas foram em média 10 vezes mais baixas do que os

valores obtidos para  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ . Os solos XA, TA e HX apresentaram valores similares de  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , variando menos de  $0,3 \mu\text{g N g}^{-1}$  solo seco entre eles. Comparando os valores de  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  entre estações climáticas, pode-se observar que tais concentrações foram maiores na estação chuvosa do que na seca, independentemente do tipo de solo avaliado (Tabela 2), sendo que as duas únicas exceções foram relativas ao solo RA na camada 0-5 cm e solo HX na camada mais profunda.

**Tabela 2.** Concentrações médias de nitrogênio mineral (em  $\mu\text{g N g}^{-1}$  solo seco) para as camadas 0-5 e 5-10 cm de profundidade para os cinco tipos de solos da área de estudo.

Tipo solo	$\text{NH}_4^+\text{-N}$		$\text{NO}_3^-\text{-N}$	
	0-5 cm	5-10 cm	0-5 cm	5-10 cm
<i>Estação chuvosa</i>				
XA	2.98 ± 0.59 b	1.44 ± 0.25 a	0.52 ± 0.11 a	0.83 ± 0.17 a
TA	3.39 ± 0.85 ab	1.55 ± 0.43 a	0.98 ± 0.16 a	1.01 ± 0.15 a
RA	10.24 ± 2.47 a	4.18 ± 1.16 a	0.76 ± 0.12 a	0.53 ± 0.09 a
HX	4.31 ± 1.79 ab	1.63 ± 0.42 a	0.83 ± 0.13 a	0.67 ± 0.08 a
TP	6.39 ± 2.02 ab	3.23 ± 1.52 a	0.85 ± 0.22 a	0.84 ± 0.13 a
<i>Estação seca</i>				
XA	5.17 ± 0.43 b	9.87 ± 5.00 a	0.42 ± 0.10 ab	0.69 ± 0.16 a
TA	17.74 ± 2.85 a	9.13 ± 2.33 a	0.69 ± 0.13 ab	0.78 ± 0.19 a
RA	10.04 ± 0.77 b	6.83 ± 0.83 a	0.95 ± 0.21 a	0.39 ± 0.07 a
HX	6.77 ± 0.62 b	5.81 ± 0.95 a	0.38 ± 0.16 ab	0.83 ± 0.39 a
TP	5.67 ± 0.60 b	8.00 ± 3.43 a	0.22 ± 0.10 b	0.26 ± 0.05 a

Taxas de mineralização e nitrificação proveram índices de disponibilidade de nitrogênio nos primeiros 10 cm de profundidade para os cinco solos estudados. Todos os solos avaliados nas duas camadas amostradas (exceto solo HX na camada 0-5 cm) apresentaram taxas de mineralização de N na estação chuvosa e não apresentaram imobilização de N (Tabela 3).

**Tabela 3.** Taxas de mineralização e nitrificação ( $\mu\text{g N g}^{-1}$  solo seco  $\text{dia}^{-1}$ ) para as camadas 0-5 e 5-10 cm de profundidade, determinadas pela incubação no laboratório (7 dias) das amostras de cinco tipos de solos sob pastagem.

Solo	Mineralização		Nitrificação	
	0-5 cm	5-10 cm	0-5 cm	5-10 cm
<i>Estação chuvosa</i>				
XA	0,24 ± 0,06 a	0,79 ± 0,57 a	0,00 ± 0,03 b	-0,01 ± 0,04 b
TA	0,80 ± 0,63 a	0,15 ± 0,07 a	0,11 ± 0,12 b	-0,02 ± 0,05 b
RA	0,36 ± 0,33 a	0,01 ± 0,06 a	0,86 ± 0,27 a	0,10 ± 0,04 ab
HX	-0,12 ± 0,25 a	0,54 ± 0,13 a	-0,09 ± 0,02 b	-0,06 ± 0,01 b
TP	0,92 ± 0,68 a	0,91 ± 0,29 a	0,21 ± 0,08 b	0,23 ± 0,14 a
<i>Estação seca</i>				
XA	0,77 ± 0,17 a	-0,47 ± 0,70 a	0,79 ± 0,16 ab	0,56 ± 0,11 a
TA	-1,00 ± 0,63 c	-0,30 ± 0,43 a	0,92 ± 0,48 a	0,51 ± 0,18 a
RA	-0,54 ± 0,05 c	-0,20 ± 0,16 a	0,30 ± 0,06 b	0,40 ± 0,06 a
HX	0,39 ± 0,44 b	0,01 ± 0,08 a	0,62 ± 0,13 b	0,53 ± 0,10 a
TP	-0,01 ± 0,10 b	-0,54 ± 0,52 a	0,31 ± 0,09 b	0,31 ± 0,09 a

O solo HX também foi uma exceção quando considerou-se os resultados para a camada 5-10 cm na estação seca, pois todos os demais solos apresentaram processos de imobilização de N. Os solos TA, RA e TP apresentaram valores positivos para as taxas de mineralização de N na estação chuvosa, porém valores negativos (imobilização) na estação seca para ambas camadas amostradas. Tal comportamento também foi observado para o solo XA, porém apenas para a camada 5-10 cm de profundidade. Em contraste, solo HX na camada mais superficial apresentou taxas de imobilização de N na estação chuvosa e taxas de mineralização na estação seca. Finalmente, o solo XA na camada 0-5 cm e o solo HX na camada mais profunda apresentaram taxas de mineralização positivas nas duas estações climáticas estudadas.

Taxas de nitrificação de N variaram de  $-0,09$  a  $0,86 \mu\text{g N g}^{-1}$  solo seco e foram, em geral, maiores para a camada 0-5 cm (valor médio de  $0,4 \mu\text{g N g}^{-1}$  solo seco  $\text{dia}^{-1}$ ) em comparação a camada 5-10 cm de profundidade ( $0,26 \mu\text{g N g}^{-1}$  solo seco  $\text{dia}^{-1}$ ). Todos os valores de taxas de nitrificação para a estação seca foram positivos, enquanto que na estação chuvosa valores negativos foram obtidos para o solo HX na camada 0-5 cm e solos XA, TA e HX na camada 5-10 cm de profundidade (Tabela 3). Em geral, taxas de nitrificação foram maiores do que as de mineralização, fato que concorda plenamente com outros estudos na Amazônia<sup>9,13,18,20</sup>.

## Conclusões

Os resultados referentes a carbono e nitrogênio total do solo, biomassa microbiana C do solo, fluxo de gases ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  e  $\text{CH}_4$ ) nitrogênio mineral (nitrato e amônia) e taxas de mineralização e nitrificação em cinco variações de solos sob pastagem contidos na Fazenda Nova Vida, Rondônia foram apresentados e discutidos. Tais dados estão em concordância com aqueles observados por outros estudos realizados na região. Todavia, os resultados apresentados neste trabalho são baseados em dados obtidos de uma fazenda onde os pastos são manejados de forma adequada. Porém, tal situação pode não ser representativa de toda a Amazônia. Por outro lado, os resultados obtidos da presente pesquisa auxiliam no entendimento da dinâmica da matéria orgânica do solo em situações onde a floresta nativa foi convertida em pastagens. Tais resultados têm implicações importantes, por exemplo, nos cálculos de emissões de gases do efeito estufa para a atmosfera, necessários para a elaboração do inventário nacional brasileiro e também como procedimentos técnicos a serem realizados por exemplo, no cálculo das linhas de base imprescindíveis para a elaboração e condução de projetos de sequestro de C no solo através de

mecanismos de flexibilização, como o Mecanismo de Desenvolvimento Limpo previsto no tão discutido Protocolo de Quioto.

## Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP-99/07103-0) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES-1240/01-3). Ao Sr. João Arantes Jr., proprietário da Fazenda Nova Vida, pelas facilidades prontamente oferecidas.

<sup>1</sup> IPCC. Climate Change 2001: The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 881 pp.

<sup>2</sup> Hansen, J., Nazarenko, L., Ruedy, R., Sato, M., Willis, J., Del Genio, A., Koch, D., Lacis, A., Lo, K., Menon, S., Novakov, T., Perlwitz, J., Russell, J., Schmidt, G.A., Tausnev, N. *Science* **2005**, *308*, 1431.

<sup>3</sup> Dias-Filho, M.B., E.A. Davidson, e C.J.R. Carvalho. 2001. Pp.84-105. In M.E. McClain, R.L. Victoria, and J.E. Richey (eds). *The biogeochemistry of the Amazon basin*. Oxford University Press, New York.

<sup>4</sup> Lal, R. *Environmental pollution* **2002**, *116*, 353.

<sup>5</sup> Six, J., Ogle, S.M., Breidt, F.J., Conant, R.T., Mosier, A.R., Paustian, K. *Global Change Biology*, **2004**, *10*, 155.

<sup>6</sup> Soil Survey Staff. 1990. Keys to Soil Taxonomy, 5<sup>th</sup> edition. Blacksburg, Virginia: Pocahontas Press, Inc.

<sup>7</sup> FAO. 1990. Guidelines for soil description. 3rd editions (Revised). FAO, Rome.

<sup>8</sup> Embrapa. 1999. Sistema brasileiro de classificação de solos. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos, Embrapa Produção de Informação, Brasília. 412 pp.

<sup>9</sup> Neill, C., M.C. Piccolo, C.C. Cerri, P.A. Steudler, J.M. Melillo, e M. Brito. *Oecologia* **1997**, *110*, 243.

<sup>10</sup> Moraes, J.F.L., C.C. Cerri, J.M. Melillo, D. Kicklighter, C. Neill, D. Skole, e P.A. Steudler. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1995**, *59*, 247.

<sup>11</sup> Cerri, C.E.P. 2003. Variabilidade espacial e temporal do carbono do solo na conversão de floresta em pastagem na Amazônia Ocidental (Rondônia). Tese de doutorado do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo. 159p.

<sup>12</sup> Vance, E.D., P.C. Brookes, e D.S. Jenkinson. *Soil Biol. Biochem.* **1987**, *19*, 703.

<sup>13</sup> Piccolo, M.C., C. Neill, e C.C. Cerri. 1994. Net nitrogen mineralization and net nitrification along a tropical forest-to-pasture chronosequence. *Plant and Soil* **1994**, *162*, 61.

<sup>14</sup> Feigl, B.J., P.A. Steudler, e C.C. Cerri. *Biogeochemistry* **1995**, *31*, 1.

<sup>15</sup> Feigl, B. J., G.P. Sparling, D.J. Ross, e C.C. Cerri. *Soil Biol. Biochem.* **1995**, *27*, 1467.

<sup>16</sup> Fernandes, S.A.P. 1999. Propriedades do solo na conversão de floresta em pastagem fertilizada e não fertilizada com fósforo na Amazônia (Rondônia). Tese de doutorado do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo. 131p.

<sup>17</sup> Fernandes, S.A.P., M. Bernoux, C.C. Cerri, B.J. Feigl, e M.C. Piccolo. *Geoderma* **2002**, *107*, 227.

<sup>18</sup> Melillo, J.M., P.A. Steudler, B.J. Feigl, C. Neill, D. Garcia-Montiel, M.C. Piccolo, C.C. Cerri, e H. Tian. *J. Geophys Res.* **2001**, *106*, 34179.

<sup>19</sup> Garcia-Montiel, D.C., P.A. Steudler, M.C. Piccolo, J.M. Melillo, C. Neill, e C.C. Cerri. *Global Biogeochem. Cy.* **2001**, *15*, 1021.

<sup>20</sup> Verchot, L.V., E.A. Davidson, J.H. Cattaneo, I.L. Ackerman, H.E. Erickson, e M. Keller. *Global Biogeochem. Cy.* **1999**, *13*, 31.

## Grau de humificação de ácidos húmicos isolados de diferentes Latossolos brasileiros

Leonardo Barros Dobbss<sup>\*1</sup> (PG), Ary C.X. Velloso<sup>1</sup> (PQ), Luciano P. Canellas<sup>1</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Laboratório de Solos, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, Avenida Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, CEP 28013-600 Campos – RJ. \*e-mail: ldobbss@uenf.br

Palavras Chave: substâncias húmicas, latossolos

### Introdução

Os Latossolos são a principal classe de solos do Brasil abrangendo cerca de 40% do território<sup>1</sup>. São solos profundos, altamente intemperizados, com predominância de minerais secundários na fração argila com baixa capacidade de troca de cátions, tais como, caulinita e “óxidos”. A reatividade química dos Latossolos é, portanto, devida principalmente a sua fração orgânica.

Apesar de constituir uma única classe de solos os Latossolos são bastante heterogêneos em relação aos fatores de formação do solo (material de origem, clima, relevo, vegetação, tempo) e apresentam características distintas de reatividade<sup>2</sup>. A matéria orgânica humificada representa a maior parte da matéria orgânica (MO) desses solos e a sua caracterização química é fundamental para o entendimento das propriedades físicas, químicas e biológicas dos Latossolos<sup>3</sup>. A maior parte da matéria orgânica dos solos (MOS) é composta pelas substâncias húmicas (SH), as quais podem ser separadas no laboratório em ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH) e huminas de acordo com suas características de solubilidade<sup>4</sup>.

Os AH são associações de compostos predominantemente hidrofóbicos (cadeias polimetilênicas, ácidos graxos, esteróides, etc) estabilizados em pH neutro por forças hidrofóbicas dispersivas fracas. De acordo com Piccolo<sup>5</sup>, a conformação dos AH cresce progressivamente de tamanho quando as forças oriundas das ligações hidrogênio aumentam até um valor baixo de pH onde os AH floculam. Os AH são produtos intermediários da humificação e podem ser indicadores da qualidade da matéria orgânica do solo<sup>6</sup>. Orlov<sup>7</sup> verificou uma elevada relação entre a produtividade biológica e o conteúdo de AH. Solos naturalmente mais férteis apresentam acúmulo dessa fração<sup>8</sup>.

O objetivo deste trabalho é o de avaliar o grau de humificação dos AH isolados de sete diferentes Latossolos provenientes de localizações geográficas distintas, através da análise da composição elementar e de técnicas espectroscópicas (UV-Vis e Fluorescência).

### Material e Métodos

Foram coletadas amostras do horizonte superficial de sete perfis diferentes de Latossolos previamente descritos pelo saudoso Prof. Marcelo Nunes Camargo em diferentes regiões do Brasil: Latossolo Amarelo Coeso (LA), Campos, RJ; Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA), Mendes, RJ; Latossolo Vermelho-Amarelo A Húmico, Nova Friburgo, RJ; Latossolo Vermelho-Escuro (LVE), Brasília, DF; Latossolo Ferrífero (LF), Nova Lima, MG; Latossolo Bruno-Álico (LB), Vacaria, RS; Latossolo Roxo Distrófico (LR), Santo Ângelo, RS. A Tabela 1 apresenta algumas das principais características dos Latossolos estudados.

Tabela 1: Características dos Latossolos estudados

Solo	Ki	pH		C orgânico (g/kg)
		água	KCl	
LA	2,05	5,35	4,50	9,30
LRD	1,97	5,30	4,40	12,30
LB	1,77	4,80	3,80	43,30
LH	1,53	4,40	3,80	32,30
LVA	1,53	4,90	3,90	11,50
LVE	0,72	4,80	4,20	27,30
LF	0,11	5,60	4,85	22,10

As SH provenientes dos solos supracitados foram isoladas através do fracionamento da matéria orgânica como descrito pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS)<sup>9</sup>. Resumidamente, os AH foram extraídos dos solos com NaOH 0,1 M e isolados através da acidificação da solução até pH 1,5 com HCl 6 M. A purificação foi realizada através de tratamento com HCl e HF diluídos e diálise contra água. Os AH foram posteriormente secos por liofilização.

A composição elementar foi realizada com analisador elementar automático Perkin Elmer 2400 em amostras de 4 mg de AH.

As análises espectroscópicas de UV foram determinadas em espectrofotômetro Shimadzu em amostras de 4 mg de AH solubilizados em 10 mL de NaHCO<sub>3</sub> 0,05 mol L<sup>-1</sup> e o pH foi ajustado a 8,3 com

NaOH diluído. A relação  $E_4/E_6$  foi obtida através da razão entre a absorvância em 465 e 665 nm.

Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos através de leitura em espectrofotômetro de Fluorescência Shimadzu. Foram registrados espectros de emissão na faixa de 470-650 nm a um comprimento de onda de excitação fixo de 465 nm.

## Resultados e Discussão

A Tabela 2 apresenta os resultados da composição elementar e da relação  $E_4/E_6$  dos AH dos diferentes Latossolos. Pode se Observar que os AH apresentam baixo conteúdo de C variando entre 397 a 456 g.kg<sup>-1</sup>. Os Latossolos são caracterizados pelo estágio avançado de intemperismo e, conseqüentemente, pelo baixo conteúdo de bases trocáveis. De uma forma geral, o baixo conteúdo de bases trocáveis nos solos mais intemperizados pode contribuir para diminuição da intensidade dos processos de humificação (condensação e síntese) refletida no menor conteúdo de C dos AH. Por outro lado, a intensa atividade biológica nos ambientes tropicais e subtropicais favorece a incorporação de N nas substâncias húmicas<sup>11</sup>. Como pode ser observado na Tabela 2, o conteúdo de N está acima da média estabelecida para solos temperados<sup>10</sup>.

**Tabela 2.** Composição elementar, razões atômicas (livres de cinzas e de água) e relação  $E_4/E_6$  de AH extraídos de diferentes Latossolos.

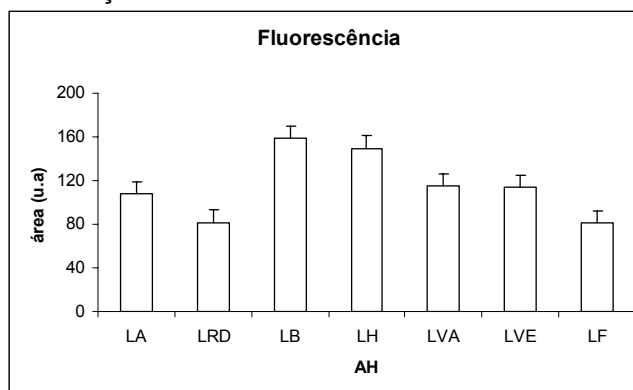
Solos	g/kg				Razão atômica			$E_4/E_6$
	C	H	N	O	C/N	H/C	O/C	
LA	454,5	51,7	42,4	425,7	12,51	1,36	0,70	7,24
LRD	455,8	53,9	49,6	440,8	10,73	1,42	0,73	6,45
LB	396,9	51,7	39,5	512,0	11,72	1,56	0,97	6,92
LH	415,9	50,2	65,1	468,8	7,45	1,45	0,85	4,04
LVA	443,3	53,7	60,1	443,0	8,60	1,45	0,75	5,39
LVE	449,1	52,5	44,3	454,2	11,83	1,40	0,76	8,88
LF	408,5	41,5	40,5	509,5	11,77	1,22	0,93	6,69

Os valores encontrados para a relação C/N são baixos e indicam pronta possibilidade de mineralização secundária desses AH. A razão H/C pode ser utilizada para avaliar indiretamente o grau de insaturação nas SH. Os valores encontrados para essa relação foram elevados e sempre acima da unidade indicando a predominância de compostos alifáticos nos AH. Nesse trabalho, a relação  $E_4/E_6$  foi usada para indicar o grau de humificação uma vez que Kononova<sup>8</sup> postulou que a magnitude do valor da relação  $E_4/E_6$  estava relacionada com o grau de evolução da matéria orgânica humificada. Chen<sup>12</sup> e colaboradores, no entanto, verificaram que a relação  $E_4/E_6$  é governada principalmente pelo tamanho ou pela massa molecular das SH. Os AH isolados dos diferentes Latossolos apresentaram valores

elevados de  $E_4/E_6$ , valores estes, normalmente observados para AF de clima temperado. Foi possível observar uma faixa ampla de  $E_4/E_6$  variando de 4,04 até 8,88 indicando presença de AH com distintas distribuições de massa e tamanho moleculares. Os valores elevados da relação  $E_4/E_6$  estão de acordo com o baixo conteúdo de C nos AH bem como com a elevada relação H/C encontrada, sugerindo a presença de estruturas menores e de caráter alifático típica de SH com baixo grau de humificação.

Millori et al.<sup>13</sup> demonstraram que a intensidade de fluorescência de emissão de AH com excitação na região de 465 nm está relacionada diretamente com o grau de humificação das SH avaliado por RMN e EPR. A Figura 3 apresenta a intensidade de fluorescência emitida com a excitação no azul. É possível observar que a fluorescência apresenta grande poder de discriminação entre AH isolados de uma mesma classe de solo.

De acordo com a intensidade de fluorescência os AH foram agrupados em três categorias: LH e LB com grau elevado de humificação; LA, LVA e LVE com grau intermediário e LRD e LF com menor grau de humificação. É possível relacionar, portanto, a intensidade de intemperismo ( $K_i$ ) (Tabela 1) com o grau de humificação obtido pela espectroscopia de fluorescência. Os Latossolos com valores maiores de  $K_i$  (menos intemperizados) representados por LH e LB, apresentaram AH com maior intensidade de fluorescência. Já o Latossolo mais intemperizado (LF) foi o que apresentou menor grau de humificação dos AH.



**Figura 3.** Intensidade de emissão de fluorescência dos AH com excitação fixa em 465 nm. As barras representam o erro padrão da média.

## Conclusões

Com os resultados obtidos pode-se concluir que os AH dos Latossolos possuem características químicas diferentes. De um modo geral, Latossolos com  $K_i$  mais elevado apresentaram AH com maior grau de humificação.



## Agradecimentos

Ao CNPq 481303/2004-9 e à FAPERJ pelo apoio financeiro e pela concessão da bolsa.

<sup>1</sup>EMBRAPA – EMBRAPA Produção de Informação, **1999**, 412p.

<sup>2</sup>Barreto, W. Tese de Doutorado, UFRRJ, **1986**, 294p.

<sup>3</sup>Peixoto, R. T. dos G. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo / EMBRAPA-CNPS, **1997**. (CD-ROM).

<sup>4</sup>Camargo, F.A.O.; Santos, G.A.; Guerra, J.G.M. Porto Alegre, Genesis, p.27-39. **1999**.

<sup>5</sup>Piccolo, A.; Soil Sci. **1988**, 146, 418.

<sup>6</sup>Kogel-Knaber, I.; Zeck, W.; Hatcher, P.G. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde, v.151, p.331-340, **1988**.

<sup>7</sup>Orlov, P.º Eurasian Soil Sci. 31:1049-1057, 1998.

<sup>8</sup>Kononova, M. 1966. Soil organic matter. 2ª Ed. Pergamon Press, Oxford. 404 p.

<sup>9</sup>Swift, R.S. Madison, Soil Sci. Soc. of American. p.1011-1069. **1996**.

<sup>10</sup>Stevenson, F. J., Humus chemistry: gênese, composition, reactions. 2nd ed. New York, John Wiley & Sons, **1994**. 496 p.

<sup>11</sup>Canellas, L.P.; Santos, G. de A.; Sobrinho, N.M.B. do B. Porto Alegre, Genesis, p.69-89. **1999**.

<sup>12</sup>Chen Y., Senesi N., Schnitzer M. **1977** - Soil Sci. Am. J. 41: 352.

<sup>13</sup>Milori, D.M.B.P., Martin-Neto, L., Bayer, C., Mielniczuk, J., Bagnato. Soil Sci. 167, 739– 749. **2002**.

# Desenvolvimento de metodologia utilizando filtro de papel organomodificado para caracterização “*in-situ*” da labilidade relativa de metais complexados em matéria orgânica natural (MON)

Danielle Goveia<sup>1,2</sup> (PG), André H. Rosa<sup>1</sup> (PQ)\*, Iramaia C. Bellin<sup>1,2</sup> (PG), Luciana C. de Oliveira<sup>2</sup> (PG), Samuel da S. Vaz<sup>1</sup> (IC), Guilherme S. Oliveira<sup>1</sup> (IC) e Felipe M. Antunes<sup>1</sup> (IC)

<sup>1</sup>Departamento de Engenharia Ambiental – Unidade Diferenciada Sorocaba/Iperó – UNESP, Sorocaba-SP

<sup>2</sup>Instituto de Química de Araraquara – UNESP, Araraquara-SP. \*e-mail: ahrosa@sorocaba.unesp.br

Palavras Chave: espécies metálicas, MON, labilidade de metais

## Introdução

Devido suas propriedades físico-químicas polieletrólíticas, a matéria orgânica natural (MON), constituída principalmente por substâncias húmicas (SH), exerce grande influência no comportamento de metais em ambientes aquáticos. Transporte, acúmulo, complexação e (bio)disponibilidade de metais no ambiente dependem da estabilidade do complexo metal-MON. Esta estabilidade é influenciada por uma série de fatores, incluindo o grupo reativo, a natureza e a concentração do íon metálico, concentração da MON, pH e tempo de complexação (ROCHA, ROSA & CARDOSO, 2004).

Basicamente três procedimentos têm sido utilizados no monitoramento da qualidade de água e na caracterização de fenômenos químicos, os quais ocorrem em mananciais (BUFFLE & HORVAI, 2000). A maioria utiliza após a amostragem, o armazenamento, tratamento e análise/estudo em laboratório. Este procedimento é oneroso, podendo alterar as características originais da amostra e levar à formação de artefatos. Um segundo procedimento denominado “*on-site*” consiste em medidas/experimentos feitos próximos, ou seja, às margens do manancial e imediatamente após amostragem manual ou automática (ROCHA & ROSA, 2003). Um terceiro procedimento, o qual tem sido objeto de estudos recentes e desta forma tem sido pouco utilizado, é denominado “*in-situ*”. Neste, os estudos são feitos diretamente no reservatório minimizando ocorrência de produção de artefatos devido às etapas de amostragem, preservação e armazenamento da amostra, além de evitar perturbação do equilíbrio do sistema original.

Do ponto de vista ambiental, os problemas relativos ao estudo da reatividade de metais em sistemas aquáticos não podem ser resolvidos simplesmente pelo desenvolvimento de técnicas extremamente sensíveis, mas também a partir de metodologias e procedimentos analíticos adequados. Neste trabalho foram utilizados filtros de papel para filtração rápida, modificados com tetra-etil-orto-silicato e 3-amino-propil-trietoxi-silano, reagentes contendo grupos funcionais reativos a espécies metálicas, visando o desenvolvimento de

um novo procedimento analítico para caracterização “*in-situ*” da labilidade de espécies metálicas e estabilidade dos complexos metal-MON em águas ricas em matéria orgânica.

## Resultados e Discussão

Amostras com elevados teores de matéria orgânica foram coletadas em abril de 2005, em aflente do rio Ribeira de Iguape (Iguape-SP). Este se localiza próximo à Estação Ecológica da Juréia (Latitude: 24°41'59"S e Longitude: 47°33'05"W), situando-se na 11ª Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos - Ribeira do Iguape-litoral Sul, município de Iguape-SP. Após coleta de cerca de 100 litros de água, foram feitas caracterizações das amostras, através das determinações de pH, temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade, carbono orgânico total e determinação de metais por espectrometria de absorção atômica, conforme mostra a Tabela 1.

**Tabela 1** - Caracterizações preliminares das amostras de água coletadas em aflente do rio Ribeira do Iguape em abril/2005.

Parâmetros analisados	Amostras de água
pH	5,8
Temperatura (°C)	21,0
Condutividade ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	303,0
Oxigênio dissolvido ( $\text{mg L}^{-1}$ )	5,1
Carbono Orgânico Total ( $\text{mg L}^{-1}$ )	37,8
Metal total	
Manganês ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	50,6
Cobre ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	3,2
Cádmio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	1,3
Níquel ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	6,8

Observa-se pela Tabela 1 que a amostra de água apresentou concentração de carbono orgânico total (COT) bem acima dos valores normalmente encontrados em outros mananciais que reconhecidamente possuem elevada concentração de COT, por exemplo, o Rio Negro-AM (em média cerca de  $15 \text{ mg L}^{-1}$ ). Segundo THURMAN (1985), a distribuição de carbono orgânico varia de 5 a  $60 \text{ mg L}^{-1}$  em águas naturais, sendo dependente da vazão do rio, clima, vegetação, atividade

microbiológica e estações do ano. Os teores de metais encontrados (Tabela 1) estão dentro das faixas observadas para mananciais com águas ricas em hidrocolóides húmicos, apresentando Mn como macroconstituente e Cu, Cd e Ni como microconstituente.

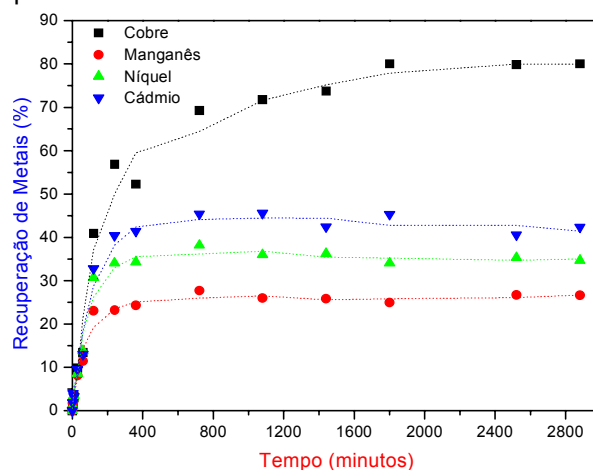
Para o desenvolvimento do novo procedimento analítico a ser aplicado "*in-situ*", inicialmente filtros de papel de filtração rápida foram modificados com solução etanólica 2,2% (v/v) de tetra-etil-orto-silicato (TEOS) em meio ácido. O ancoramento do grupo amino foi feito com solução hexanólica de 3-amino-propil-trietoxi-silano (3-APTS) ( $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ).

O desempenho dos filtros de papel organomodificados em relação ao tempo e concentração de substâncias húmicas aquáticas (SHA) foi avaliado em relação à labilidade das espécies metálicas estudadas. Para isto, foi feita a imersão do filtro de papel em soluções padrões multielementares de metais (Cu, Cd, Mn e Ni)  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  a pH 5,0, com diferentes concentrações de SHA (5, 15,  $60 \text{ mg L}^{-1}$ ), no período de 24 horas. Em função do tempo foram retiradas alíquotas, as quais foram acidificadas e os metais determinados por espectrometria de absorção atômica.

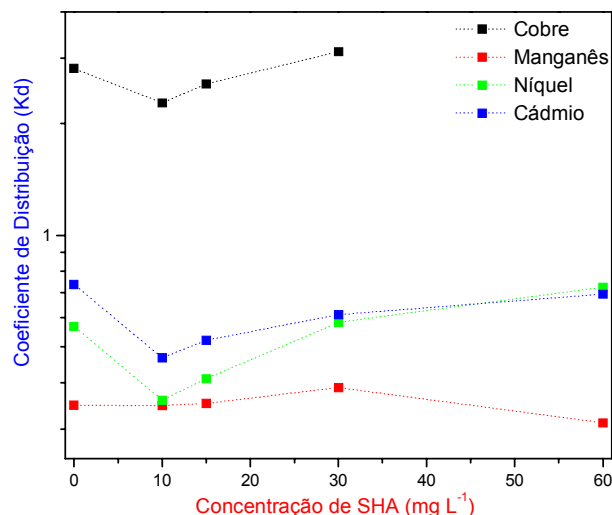
As Figuras 1, 2 e a Tabela 2 mostram a influência da concentração de SHA e do tempo na labilidade dos íons Cu, Cd, Mn e Ni. Na ausência de SHA (Figura 1) observa-se que os íons apresentaram a seguinte ordem crescente de afinidade pelo filtro de papel modificado:  $\text{Cu} \gg \text{Cd} \cong \text{Ni} > \text{Mn}$ . Também se observa diferenças nos tempos de estabelecimento dos equilíbrios entre os metais e os grupos reativos do papel de filtro organomodificado. Verifica-se que o equilíbrio para os metais Mn, Ni e Cd ocorreram em torno de 120 minutos, enquanto que para Cu a máxima complexação ocorreu em cerca de 12 horas.

O coeficiente de distribuição (Kd) é um parâmetro importante que tem sido utilizado para caracterização da labilidade de espécies metálicas complexadas em SHA. No presente estudo o Kd é definido como a relação existente entre as espécies metálicas complexadas no papel de filtro e presentes nas SHA. A Figura 2 apresenta os valores de Kd para os metais na ausência/presença de diferentes concentrações de SHA. Observaram-se maiores valores de Kd na ausência das SHA, devido a inexistência de competição dos metais entre os sítios reativos do filtro de papel e das SHA. Também se observa pela Figura 2 que a concentração de SHA influencia fortemente nos valores de Kd, sendo que os menores valores obtidos foram observados para concentração  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de SHA para todos os metais estudados. As variações observadas estão associadas às alterações nas conformações estruturais da macromolécula húmica, as quais influenciam diretamente nas interações entre as espécies

metálicas e os grupamentos complexantes presentes na estrutura das SHA.



**Figura 1** – Complexação de metais (Cu, Cd, Ni e Mn) pelo filtro de papel modificado em função do tempo. Condições: 250 mL de solução contendo  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de Cu, Cd, Mn e Ni, filtro de papel modificado com APTS, pH 5,0 e agitação mecânica.



**Figura 2** - Coeficiente de distribuição de metais após tempo de complexação de 24 horas na ausência/presença de diferentes concentrações de SHA. Condições: 250 mL de solução contendo  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de Cu, Cd, Mn e Ni, filtro de papel modificado, concentrações de SHA 0, 10, 15, 30 e  $60 \text{ mg L}^{-1}$ , pH 5,0, agitação mecânica e tempo de complexação de 24 horas.

## Conclusões

A partir dos resultados obtiveram-se as seguintes conclusões:

1) a afinidade dos íons pelo filtro de papel organomodificado apresentou a seguinte ordem crescente:  $\text{Cu} \gg \text{Cd} \cong \text{Ni} > \text{Mn}$ ;

2) o tempo influencia no equilíbrio de complexação e varia para cada metal, sendo a cinética mais rápida para os íons Mn, Ni e Cd, em relação aos íons Cu;

3) a concentração de SHA exerce influência na labilidade dos metais complexados pelas SHA devido às alterações em suas conformações estruturais.

4) a aplicação de filtros de papel organomodificados pode ser uma alternativa interessante para estudos “*in-situ*” da labilidade de espécies metálicas.

### Agradecimentos

CAPES, FAPESP, e CNPq.

---

Buffçe, J. & Horvai, G.; In situ monitoring of aquatic systems: Chemical analysis and speciation. New York, John Wiley & Sons, 2000. 569p.

Rocha, J.C. & Rosa, A.H.; In: Substâncias húmicas aquáticas: interações com espécies metálicas. Editora UNESP: São Paulo, 2003. 120p.

Thurman, E. M. Humic substances in groundwater. In: AIKEN, G. R.; McKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L.; MacCARTHY, P. (Ed.). Humic substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation and characterization. New York, John Wiley & Sons, p. 87-104, 1985.

Rocha, J.C.; Rosa, A.H.; Cardoso, A.A.; Introdução à Química Ambiental. Porto Alegre: BOOKMAN, 2004. 151 p.

## Carbono orgânico nas frações granulométricas e fracionamento químico das SHs de um LVA sob diferentes agrossistemas

Eucarlos de Lima Martins<sup>1\*</sup> (PG), Josias do Espírito Santo Coringa<sup>2</sup> (PG), Oscarlina L. dos Santos Weber<sup>3</sup> (PQ), Michely Tomazi<sup>4</sup>

<sup>1\*</sup> Químico, mestrando em Agricultura Tropical - Recursos Naturais/ UFMT/ FAMEV, 78060-900, Cuiabá-MT.

<sup>2</sup> Químico, especialista, mestrando em Agricultura Tropical - Recursos Naturais/ UFMT/ FAMEV, 78060-900, Cuiabá-MT.

<sup>3</sup> Engenheira Agrônomo, doutora, UFMT/FAMEV-DSER, 78060-900, Cuiabá-MT.

<sup>4</sup> Engenheira. Agrônomo, MSc. Doutoranda em Ciência do Solo- UFRGS-RS. \*e-mail: eucarlos@cdp.ufmt.br

Palavras Chave: substâncias húmicas, agrossistemas, carbono orgânico.

### Introdução

A matéria orgânica do solo (MOS) tem sido estudada devido a sua importância na constituição química e física do solo, sendo um componente essencial nos diversos processos químicos, físicos e biológicos que ocorrem nos ecossistemas terrestres, dentre os quais se destacam: a estruturação do solo, o suprimento de nutrientes, a capacidade de troca iônica, o tamponamento do pH do solo, principal fonte de carbono e energia para os organismos do solo, atua na redução da contaminação de água de superfície e subterrânea pelo fenômeno de adsorção de poluentes e fonte de nutrientes para as plantas.<sup>1, 2, 3</sup>

Do ponto de vista agrícola, a estrutura do solo é um dos atributos mais importantes, pois está relacionada com a disponibilidade de ar e água às raízes das plantas, com o suprimento de nutrientes, com a resistência mecânica do solo à penetração, e com o desenvolvimento do sistema radicular<sup>4</sup>, sendo a MOS um fator que proporciona a manutenção destas características. No entanto, a MOS não pode ser considerada um componente simples e homogêneo do solo devido à sua complexidade, diversidade estrutural e interações com a fração mineral do solo<sup>5</sup>. Trata-se de um sistema heterogêneo composto de materiais orgânicos que diferem entre si pela composição, função e grau de acessibilidade a microbiota do solo<sup>6</sup>. Cerca de 10 a 15% da reserva total de carbono orgânico nos solos minerais é constituída por macromoléculas (proteínas e aminoácidos, carboidratos simples e complexos, resinas, ligninas e outras), e 85 a 90% pelas substâncias húmicas propriamente ditas<sup>7</sup>.

No intuito de qualificar e quantificar a MOS, diversas técnicas de fracionamento físico e químico têm sido desenvolvidas para separar e isolar frações de C orgânico total do solo<sup>8</sup>. Em geral, os compartimentos físicos de C são diferenciados pelo tamanho e incluem resíduos facilmente reconhecidos (tamanho > 2 mm), múltiplos compartimentos com diferentes características de decomposição ou taxas de transformação e associação com os elementos minerais do solo<sup>9</sup>. Os

compartimentos químicos de carbono são obtidos com base na solubilidade de componentes do COT, ou seja, as substâncias húmicas, em diferentes soluções básicas e ácidas. Os componentes incluem os ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e as huminas<sup>10</sup>. Neste trabalho foi utilizado o fracionamento físico por granulometria segundo o método proposto por Cambardella & Elliot (1993)<sup>11</sup> e para o fracionamento químico das substâncias húmicas do solo seguiu-se o método descrito por Kononova (1982)<sup>12</sup>. A quantificação do carbono orgânico foi realizada pelo método de oxidação por via úmida<sup>13</sup>.

O objetivo deste trabalho foi quantificar o carbono orgânico nas frações granulométricas e nas frações das substâncias húmicas (ácido fúlvico, ácido húmico e humina) presentes num Latossolo Vermelho Amarelo distrófico de textura argilosa coletados numa área localizada nas coordenadas 10° 21' 14" de latitude Sul e 58° 27' 20" de longitude oeste, no município de Juruena-MT sob diferentes sistemas de uso: floresta (FL), pastagem (PA), sistema agroflorestal (SA) e sistema agrossilvopastoril (SS).

### Resultados e Discussão

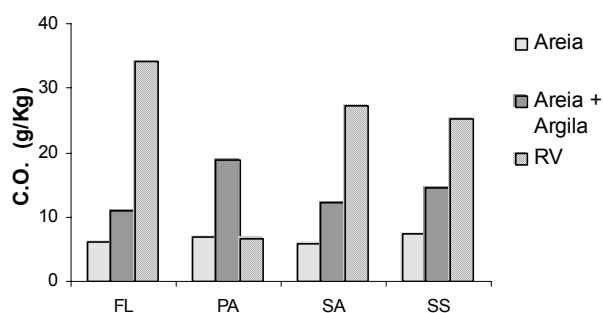
O teor do carbono orgânico contido nas frações granulométricas acha-se apresentados na Figura 1.

A maior quantidade de resíduos vegetais foi observada na floresta, evidenciando a importância deste para a manutenção de uma camada expressiva de matéria orgânica. Além disso, este pode ser devido a maior dificuldade de os microorganismos decompor estes resíduos.

O sistema de pastagem apresenta a menor quantidade de resíduos orgânicos, porém, tem a maior quantidade de carbono orgânico associado a areia+argila. Isto se deve possivelmente a maior degradabilidade dos resíduos vegetais provenientes das plantas que constituem esse sistema.

Os sistemas AS e SS tiveram comportamentos semelhantes, apresentando pequenas diferenças.





**Figura 1.** Distribuição do carbono orgânico nas frações granulométricas do LVA sob diferentes sistemas de uso.

A fração areia apresentou o menor aporte de carbono orgânico total em todos os sistemas de uso do solo. A pouca interação dos compostos húmicos com a areia deve-se possivelmente à inércia química dos silicatos e, conseqüentemente, sua menor interação.

Pode-se observar que o sistema de pastagem apresentou um comportamento diferenciado se comparado com os demais sistemas de manejo quanto à quantidade de resíduos vegetais. Nos sistemas FL, SA e SS a quantidade de resíduos vegetais foram as que apresentaram os maiores teores de carbono orgânico, porém na pastagem o maior teor de carbono orgânico foi encontrado na fração areia e areia + argila, demonstrando a influência da origem dos resíduos no processo de humificação ou mineralização.

**Tabela 1.** Carbono orgânico prontamente oxidável nos diferentes agrossistemas

Agrossistemas	PO <sup>1</sup>	SD <sup>2</sup>
FL	13,29	0,32
PA	17,54	0,23
SA	14,27	0,15
SS	10,48	0,09

<sup>1</sup> Carbono prontamente oxidável.

<sup>2</sup> Desvio padrão (n= 3).

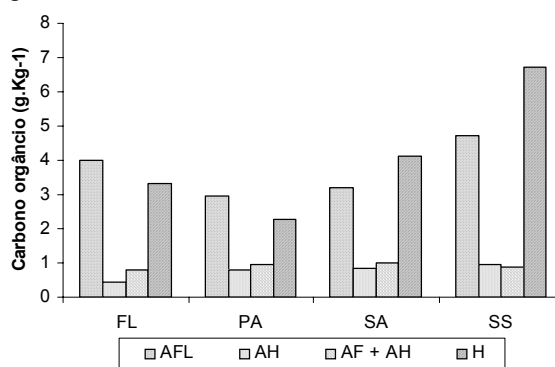
O teor de carbono orgânico prontamente oxidável (Tabela 1) expressa a facilidade de oxidação da matéria orgânica, influenciando diretamente sobre a quantidade e qualidade da MOS. O agrossistema pastagem apresentou o teor mais elevado de carbono orgânico prontamente oxidável, indicando uma menor recalcitrância dos compostos químicos que constituem a matéria orgânica deste sistema. Os agrossistemas FL e SA apresentaram valores semelhantes de carbono prontamente oxidável. Estes dados subsidiam a discussão de que o sistema de manejo SA, onde culturas de interesse são cultivadas em áreas que mantêm a vegetação natural alteram menos as características naturais da área.

A Figura 2 apresenta a quantidade de carbono orgânico das frações provenientes do fracionamento químico para os diferentes sistemas de manejo.

O sistema agrossilvopastoril possui a maior quantidade de humina se comparados às demais frações. Sendo a humina a substância húmica menos recalcitrante, quando comparada com os ácidos húmicos e fúlvicos, a presença desta em quantidade superior aos demais sistemas indica um maior aporte de carbono disponível para a microbiota e uma fonte de carbono para a formação de compostos mais recalcitrantes que permanecerão por um período maior de tempo no solo, proporcionando uma melhor estruturação deste.

O sistema agrossilvopastoril apresentou maior conteúdo de ácidos fúlvicos livre, o que vem corroborar com a menor quantidade de carbono orgânico prontamente oxidável apresentado nesse sistema se comparada com os demais. Uma possível explicação é que o carbono adicionado ao solo tenha sofrido rápida humificação, diminuindo assim, a quantidade de carbono mais facilmente degradável (aminoácidos, polissacarídeos, etc) conseqüentemente, conduzindo no aumento da quantidade de substâncias húmicas como, por exemplo, dos ácidos fúlvicos.

Conquanto a quantidade de substâncias húmicas dependa do equilíbrio dos processos bioquímicos ou biológicos do solo, pode-se verificar a diferenciação no teor das frações químicas da matéria orgânica do solo sob os diferentes sistemas de uso deste recurso. Por esses dados se pode inferir sobre a importância do material que dá origem a MOS.



**Figura 2.** Distribuição do COT quantificados as diferentes frações químicas dos solos amostrados nos sistemas: FL (mata nativa), PA (pastagem), SA (agrossilvopastoril) e SS (agrossilvopastoril).

O menor aporte de ácidos fúlvicos livres apresentado pelo sistema de pastagem, pode ser decorrente da qualidade do resíduo adicionado ao solo que, sendo de fácil oxidação, haveria uma menor quantidade de substâncias orgânicas que poderiam ser convertidas. Conseqüentemente, o solo sobre sob este sistema de manejo apresenta um menor teor de ácidos fúlvicos.

## Conclusões

Os diferentes sistemas de uso do solo influenciaram na qualidade e quantidade de matéria orgânica do solo.

O sistema agrossilvopastoril favoreceu à formação da humina em maior quantidade que os demais sistemas;

A pastagem proporcionou maior aporte de carbono prontamente oxidável e menor quantidade de substâncias húmicas mais recalcitrantes;

O fracionamento químico e físico da matéria orgânica para os diferentes sistemas de uso do solo, permitiu melhor compreender sua dinâmica em ambientes variados.

## Agradecimentos

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

<sup>1</sup> Teixeira, I. R.; Souza, C. M.; Borem, A. et al. *Bragantia*. 2003, 62, 119-126.

<sup>2</sup> Santos, H. P.; Tomm, G. O. *Cienc. Rural*. 2003, 33, 477-486.

<sup>3</sup> Canellas, L. P.; Facanha, A. R. *Natureza. Pesq. agropec. Bras.* 2004, 39, 233-240.

<sup>4</sup> Correa, J. C.. *Pesq. agropec. bras.* 2002, 37, 203-209.

<sup>5</sup> Roscoe, R.; Machado, P. L. O. A. Embrapa Agropecuária Oeste; Rio de Janeiro: *Embrapa Solos*. 2002, 86.

<sup>6</sup> Christensen, B. T. *Tjele: DIAS*. 2000, 95. (DIAS Report. Plant Production, 30).

<sup>7</sup> Zech, Z.; Senesi, N.; Guggenberger, G.; Kaiser, K.; Lehmann, J.; Miano, T.M.; Miltner, A.; Schroth, G. *Geoderma*. 1997, 79, 69-116.

<sup>8</sup> Cheng, H.H. & Kimble, J.M. In: LAL, R.; Kimble, J.M.; Follet, R.F. & Stewart, B.A., eds. *Boca Raton, Lewis Publishers*. 2001, 117-130.

<sup>9</sup> Leite, L. F. C., Mendonca, E. S. e Machado, P. L. O. A. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*. 2004, 28, 347-358.

<sup>10</sup> Bayer, C.; DICK, D. P.; Ribeiro, G. M. et al. *Cienc. Rural*, maio/jun. 2002, 32, 401-406.

<sup>11</sup> Cambardella, C. A.; Elliott, E. T. *Geoderma*. 1993, 56, 449-457.

<sup>12</sup> Kononova, M. M. *Barcelona: Oikos-tau*. 1982, 364.

<sup>13</sup> Walkley, A.; Black, I. A. *Soil Science*. 1934, 37, 29-38.

## Fluorescência induzida por laser aplicada a análises de diferentes tipos de solos brasileiros

Débora M. B. P. Milori<sup>1</sup>(PQ), Helder V. A. Galeti<sup>1,3</sup>(PG), Cleber H. Santos<sup>1\*</sup> (IC), Ladislau Martin-Neto<sup>1</sup>(PQ), Vanessa Z. Antonio<sup>1,3</sup> (IC), Cimélio Bayer<sup>4</sup> (PQ), Wanderley José de Melo<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, 1452, Cp. 741, CEP: 13560-970, São Carlos, SP.

<sup>2</sup>Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, Av. Trabalhador São Carlense, 400, Cp. 780, CEP:

13560-970, São Carlos, SP. <sup>3</sup>Universidade Federal de São Carlos, (UFSCAR), Departamento de Química, Rodovia Washington Luís (SP-310), Km 235, CEP: 13565-905, São Carlos, SP. <sup>4</sup>UFRGS, Departamento de Solos, Cp 776, CEP: 90001-970, Porto Alegre, RS. <sup>5</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP. \*e-mail: debora@cnpdia.embrapa.br

Palavras Chave: Substâncias Húmicas, Fluorescência induzida por Laser, Fluorescência.

### Introdução

A dinâmica da matéria orgânica é um dos aspectos de grande interesse em se estudar devido sua importância tanto do ponto de vista de solos, considerando aspectos relevantes de fertilidade e de estrutura, para evitar processos erosivos, quanto aspectos ambientais, com relação as reações e associações com pesticidas, metais pesados e microorganismos, em solos e águas, e ainda considerando aspectos globais da Terra, como o efeito estufa. Em regiões de clima temperado existe uma quantidade expressiva de informações sobre a dinâmica da MO em solos. Entretanto existe um consenso que não há um entendimento completo desses processos.

Várias técnicas espectroscópicas tem sido utilizadas para se realizar estudos a respeito da matéria orgânica dos solos na tentativa de se entender um pouco a respeito das substâncias que a compõem. Neste sentido a Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE), a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e métodos utilizando Fluorescência de amostras de ácidos húmicos (AH) em solução têm sido muito utilizada. Recentemente, uma nova técnica espectroscópica tem sido aplicada neste tipo de estudo, a Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (FIL)<sup>4</sup>. Neste trabalho serão apresentados resultados de correlação entre a FIL, RPE, e fluorescência convencional para avaliar o desempenho desta nova técnica em diferentes solos.

Foram selecionadas amostras de três diferentes solos, com manejos e profundidades variáveis:

- Solo Argissolo Vermelho (AV) dividido em dois sistemas de manejo: preparo convencional (PC) e plantio direto (PD), além de amostras de referência do mesmo solo em campo nativo (CN). As amostras tratadas em PC são do sistema de culturas A/M (aveia / milho) e as tratadas em PD são do sistema A+V/M+C (aveia + ervilhaca / milho + caupi). As amostras de cada sistema de manejo e de campo nativo, provenientes de um experimento de campo da UFRGS na cidade de Eldorado do Sul - RS,

foram coletadas em profundidades 0-2,5 cm; 2,5-5 cm; 5-7,5 cm; 7,5-12,5 cm e 12,5-17,5 cm.

- Solo Argissolo Vermelho Amarelo (AVA) dividido entre um sistema de cultivo de citrus (T) e amostras de referência do mesmo solo sob mata nativa (M). As amostras são provenientes de um experimento de campo da UNESP (Campus Jaboticabal) na cidade de Monte Azul Paulista – SP e foram coletadas em profundidades 0-10 cm; 10-20 cm; 20-40 cm; 40-60 cm.

- Solo Latossolo Vermelho (LV) dividido em dois sistemas manejo : plantio direto (PD) e plantio convencional (PC) e amostras de referência do mesmo solo sob mata nativa (M). As amostras são provenientes de um experimento de campo da UNESP (Campus Jaboticabal) na cidade de Jaboticabal – SP e foram coletadas em profundidades 0-10 cm; 10-20 cm; 20-40 cm; 40-60 cm.

Para cada amostra de solo intacto, em suas respectivas profundidades e sistemas de manejo, foram preparadas duas pastilhas de solo. Inicialmente o solo foi peneirado (peneira 0,5 mm) e depois prensado em uma forma de aço (8 ton).

Todas as amostras de solos, exceto as amostras T(20-40 cm e 40-60 cm) e M(20-40 cm e 40-60 cm) do solo AVA, foram submetidas a um processo de extração e fracionamento químico das SH por diferença de solubilidade, seguindo a metodologia recomendada pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS).

A montagem experimental do sistema de FIL é a mostrada em Milori e colaboradores<sup>4</sup>. Após a obtenção dos espectros, o grau de humificação das amostras de solo intacto foi calculado segundo metodologia proposta por Milori e colaboradores<sup>4</sup>. Este índice foi denominado  $H_{FIL}$ .

Cada amostra de AH foi dissolvida em uma solução de  $\text{NaHCO}_3$  0.05 mol L<sup>-1</sup> com concentração de 20 ppm. O pH final esteve em torno de 8. Após a preparação das soluções, os espectros de fluorescência nos modos de emissão e varredura sincronizada foram obtidos.

Os espectros de emissão foram medidos com excitação em 240nm e 465 nm. Através desses espectros, o grau de humificação das amostras foi calculado usando as metodologias propostas por Zsolnay et al.<sup>3</sup> e Milori et. al.<sup>2</sup> A proposta de Zsolnay é que, se as moléculas fluorescentes tornam-se mais condensadas, seus espectros de emissão (com excitação em 240 nm) tenderão a exibir um deslocamento sobre comprimentos de onda mais largos e, portanto, a área sobre o maior quarto da emissão (570-641nm) dividido pela área do menor quarto (356-432 nm), denominado  $A_4/A_1$ , pode ser usado como índice de humificação.

O método proposto por Milori consiste em usar comprimento de onda azul (465 nm) como fonte de excitação. Esta absorção é mais ressonante com estruturas cuja concentração aumenta com o grau de humificação de amostras em AH. Então a área total sobre o espectro de fluorescência resultante da luz de excitação azul, feita em mesmas condições experimentais (concentração de  $20\text{mgL}^{-1}$ ,  $\text{pH}=8$ ) e denominada  $A_{465}$  é proporcional ao grau de humificação.

O espectro de varredura sincronizada, medida com diferença constante entre excitação e emissão ( $\Delta\lambda = 55 \text{ nm}$ ), permite avaliar o grau de humificação foi através da metodologia proposta por Kalbitz et al.<sup>1</sup>. De acordo com essa proposta, os espectros de fluorescência sincronizados das SH apresentam dois picos em torno de 360 e 400 nm, e um ombro em torno de 470 nm. Esses perfis mudam dependendo do grau de humificação. Quanto mais humificado o material maior será a razão entre os picos de maior e menor comprimento de onda. Em nossos espectros utilizamos os picos em 459 e 399 nm para calcular o grau de humificação, gerando o índice  $I_{459}/I_{398}$ .

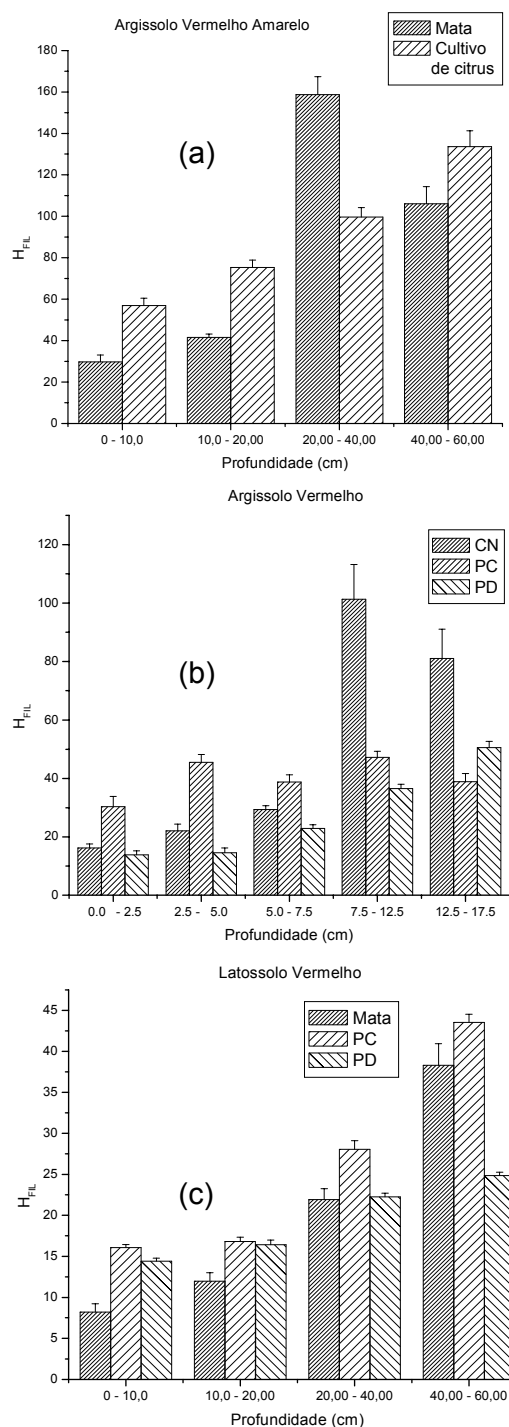
Com um espectrômetro de EPR de banda X de onda contínua da Bruker EMX, foram obtidos espectros à temperatura ambiente e, a partir deles, o nível de radicais livres semiquinona foi medido utilizando o método de aproximação  $I\Delta H_2$ . Conseqüentemente, o grau de humificação das SH pode ser determinado usando metodologia bem conhecida<sup>6</sup>, que caracteriza a humificação com o aumento do número de spins por grama de AH.

## Resultados e Discussão

A figura 1 abaixo apresenta os resultados da FIL das amostras de solo intacto e seu comportamento em função da profundidade com relação à superfície.

As amostras de SI de AV apresentam resultados coerentes com aqueles esperados para os sistemas de cultivo submetidos. As amostras de CN apresentam um aumento na humificação com a profundidade do solo, ou seja, o material da superfície é pouco humificado, ocorrendo o mesmo para as amostras de PD. Este comportamento é

coerente com a deposição de resíduos vegetais pela vegetação nativa (CN) ou pela forma de colheita do sistema de manejo (PD). Já as amostras de PC apresentam uma humificação uniforme no perfil estudado (0 - 17,5 cm). Os valores altos para HFIL dessas amostras indicam a presença de estrutura molecular rica em fluoróforos e seu comportamento uniforme dentro dessa profundidade é devido ao revolvimento causado pela aragem do solo nesse tipo de cultivo.



**Figura 1** - Valores de  $H_{FIL}$  obtidos para todas as amostras de solo intacto no perfil da amostragem, separados em (a) Argissolo vermelho, (b) Argissolo Vermelho Amarelo e (c) Latossolo Vermelho.

Para o AVA as amostras também apresentam comportamento coerente. Para as amostras de M há maior humificação com aumento da profundidade, havendo exceção somente no caso da amostra M3 (20-40 cm), que exibe uma variação abrupta da humificação se comparada com M2 e M4. As amostras cultivadas também exibem maior humificação com a profundidade, que se deve a permanência do solo sem revolvimento na área do pomar.

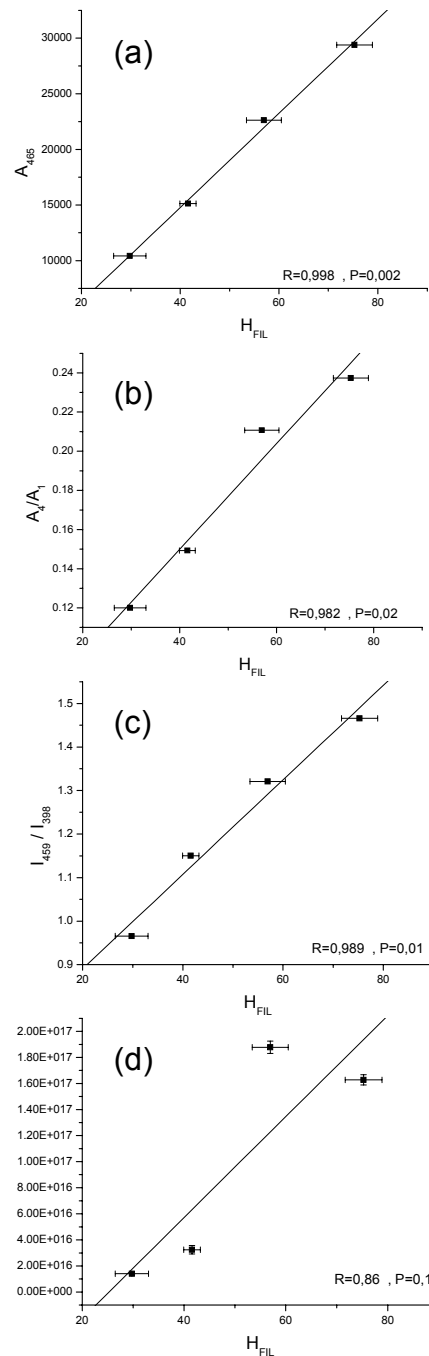
O resultados para o LV também se mostram bastante adequados para os cultivos estudados. Mata e PD apresentam maior humificação com aumento da profundidade e o PC apresenta humificação uniforme até a profundidade de 20 cm, onde ocorre aragem do solo, e valor crescente de humificação para profundidades entre 20 e 60 cm, onde o solo permanece em repouso e mantém estruturas mais humificadas.

A análise espectroscópica dos AH permitiu a obtenção de índices de humificação pelas técnicas de fluorescência (utilizando as metodologias de Milori ( $A_{465}$ ), Zsolnay ( $I_4/I_1$ ) e Kalbitz ( $I_{459}/I_{398}$ )) e EPR (utilizando os valores de número de spins do radical-livre semiquinona por grama de AH). Os valores obtidos para cada solo são apresentados nas figuras 1, 2 e 3 na forma de correlação com o índice de humificação HFIL do solo intacto.

O Argissolo vermelho amarelo apresentou valores altos para o coeficiente de correlação R (entre 0,86 e 0,99), sendo também bastante significativo. Neste solo, somente 4 amostras de AH foram possíveis de serem extraídas. Assim, somente 4 amostras destes solos puderam analisados em termos da correlação entre os índices de humificação do AH e a humificação do SI.

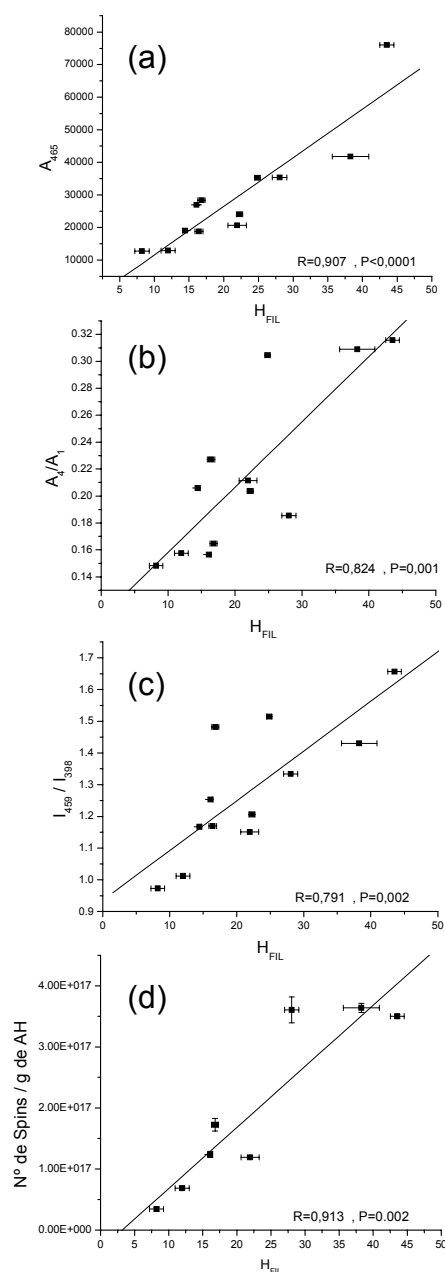
As amostras de solo LV também apresentaram boa correlação entre os índices de humificação (variando entre 0,79 e 0,91) o que indica boa correlação entre os índices obtidos por diferentes técnicas. Esse foi o único conjunto completo de amostras em que todos os solos e todos os AH analisados puderam correlacionados completamente.

Baseados nessas correlações é possível verificar que os resultados obtidos pelo índice de humificação  $H_{FIL}$  de solos intactos refletem de maneira satisfatória as características da MO humificada presente no solo. É preciso enfatizar que as correlações e estudos comparativos apresentados neste trabalho foram feitos entre amostra de um mesmo tipo de solo. Caso contrário não seria possível obter resultados satisfatório. Isso indica que as análises usando FIL também sofrem a influência do tipo de solo estudado.



**Figura 2** - Correlações entre o índice de humificação  $H_{FIL}$  e os índices (a)  $A_{465}$ , (b)  $A_4/A_1$ , (c)  $I_{459}/I_{398}$  e (d) Spins / g de AH para o solo argissolo vermelho-amarelo.





**Figura 3** - Correlações entre o índice de humificação HFIL e os índices (a)  $A_{465}$ , (b)  $A_4/A_1$ , (c)  $I_{459}/I_{398}$  e (d) Spins / g de AH para o solo latossolo vermelho.

## Conclusões

Os resultados demonstram que a espectroscopia de FIL aplicada a solos intactos fornece resultados coerentes acerca do grau de humificação da MO. A adoção da excitação das amostras com luz de 458 e a utilização do índice de humificação são adequados para a avaliação dos solos intactos, o que é uma alternativa aos procedimentos de extração e fracionamento químico de SH nos estudos da MO em sua forma natural. A utilização deste comprimento de onda de excitação e as correlações com a técnica de EPR são resultados inéditos que corroboram para a boa aceitação da técnica de FIL na avaliação da MO de solos intactos, facilitam ainda mais sua aplicação e disponibiliza uma ferramenta eficiente para avaliação da MO em seu estado natural.

Considerações acerca das características da MO como quantidade de carbono e humificação extremamente elevada são fatores que devem também ser levados em conta na aplicação da técnica a diferentes solos. As análises de amostras em tais situações extremas devem ser avaliadas com considerações adicionais àquelas apresentadas como metodologia de aplicação geral.

## Agradecimentos

Fapesp, CNPq.

<sup>1</sup>Kalbitz, K.; Geyer, W.; Geyer, S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances – a reflection of land use history in a fen area. *Biogeochemistry*, v. 47, p. 219-238, 1999.

<sup>2</sup>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* 2002.

<sup>3</sup>Zsolnay, A., E. Baigar, M. Jimenez, B. Steinweg, and F. Saccomandi, 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* 38:45-50.

<sup>4</sup>Débora M. B. P. Milori, Helder V. A. Galetti, Ladislau Martin-Neto, Martha González-Pérez, Cimélio Bayer, João Mielniczuk, Júlio Salton. Study of whole soil using laser-induced fluorescence spectroscopy; Aceito para publicação no *Soil Science Society of America Journal* em junho de 2005.

<sup>5</sup>Martin-Neto, L., Rosell, R.; Sposito, G. Correlation of spectroscopic indicators of humification with mean annual rainfall along a temperate grassland climosequence. *Geoderma*, v. 81, p. 305-311, 1998.

# Matéria orgânica e substâncias húmicas em solos antrópicos da Amazônia Central

Adônis Moreira<sup>1</sup>(PQ)\*, Márcia Pereira de Almeida<sup>1</sup>(IC)

<sup>(1)</sup>Embrapa Amazônia Ocidental, Caixa Postal 319, 69011-970 Manaus, AM. \*e-mail: adonis@cmaa.embrapa.br.

Palavras Chave: ácidos fúlvicos, ácidos húmicos, humina, "Terra Preta do Índio", carbono total.

## Introdução

Apesar da existência de grandes áreas potencialmente agricultáveis, os solos da Amazônia, na sua maior parte, são ácidos, com baixa capacidade de troca catiônica e, conseqüentemente, baixa fertilidade. Dos poucos solos que apresentam alta fertilidade, incluem-se os antrópicos, normalmente chamados de "Terra Preta do Índio" (TPI), denominação dada aos de origem antropogênica, existentes na Região Amazônica (Smith, 1980). Esses solos, geralmente, estão localizados próximo aos rios e na sua maioria são distribuídos em áreas de dois a cinco hectares (Teixeira & Martins, 2003), apresentando elevados níveis de nutrientes, principalmente Ca e P, altos teores de matéria orgânica e mais elevada atividade biológica que os solos adjacentes, na sua maioria caulíníficos e fortemente intemperizados.

Essa capacidade de manter o alto teor de carbono ocorre, possivelmente, devido as características químicas e da resistência do material à decomposição microbiana. A matéria orgânica do solo (MOS) é constituída, em sua maior parte, por substâncias húmicas mais estáveis, de difícil degradação. Essas substâncias são formadas a partir da transformação dos resíduos orgânicos realizada pela biomassa microbiana presente no solo e pela polimerização dos compostos orgânicos processados até a síntese de macromoléculas resistentes à degradação biológica (Camargo et al., 1999). As substâncias húmicas (humina, ácidos fúlvicos e ácidos húmicos) são consideradas a parte final da evolução da MOS e representam cerca de 70% do C presente no solo; são diferenciadas, principalmente, através dos grupos funcionais (fenólicos, carboxílicos, entre outros) e grau de polimerização. Os ácidos húmicos são insolúveis em meio ácido e solúveis em meio básico e apresentam estrutura grande e complexa (8Å), quando comparados com os ácidos fúlvicos, completamente hidrossolúveis, com tamanho pequeno (2Å), maiores grupamentos carboxílicos e de oxigênio e menor concentração de C, favorecendo a sua percolação no solo. No caso da humina, esta é insolúvel em meio ácido e básico e tem maior grau de polimerização que os ácidos fúlvicos e húmicos (Schnitzer et al., 1991).

O objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações no estoque de carbono e nos ácidos fúlvicos e

húmicos e humina decorrentes das atividades antrópicas, comparado-as com classes de solos representativos da Região Amazônica.

## Material e Métodos

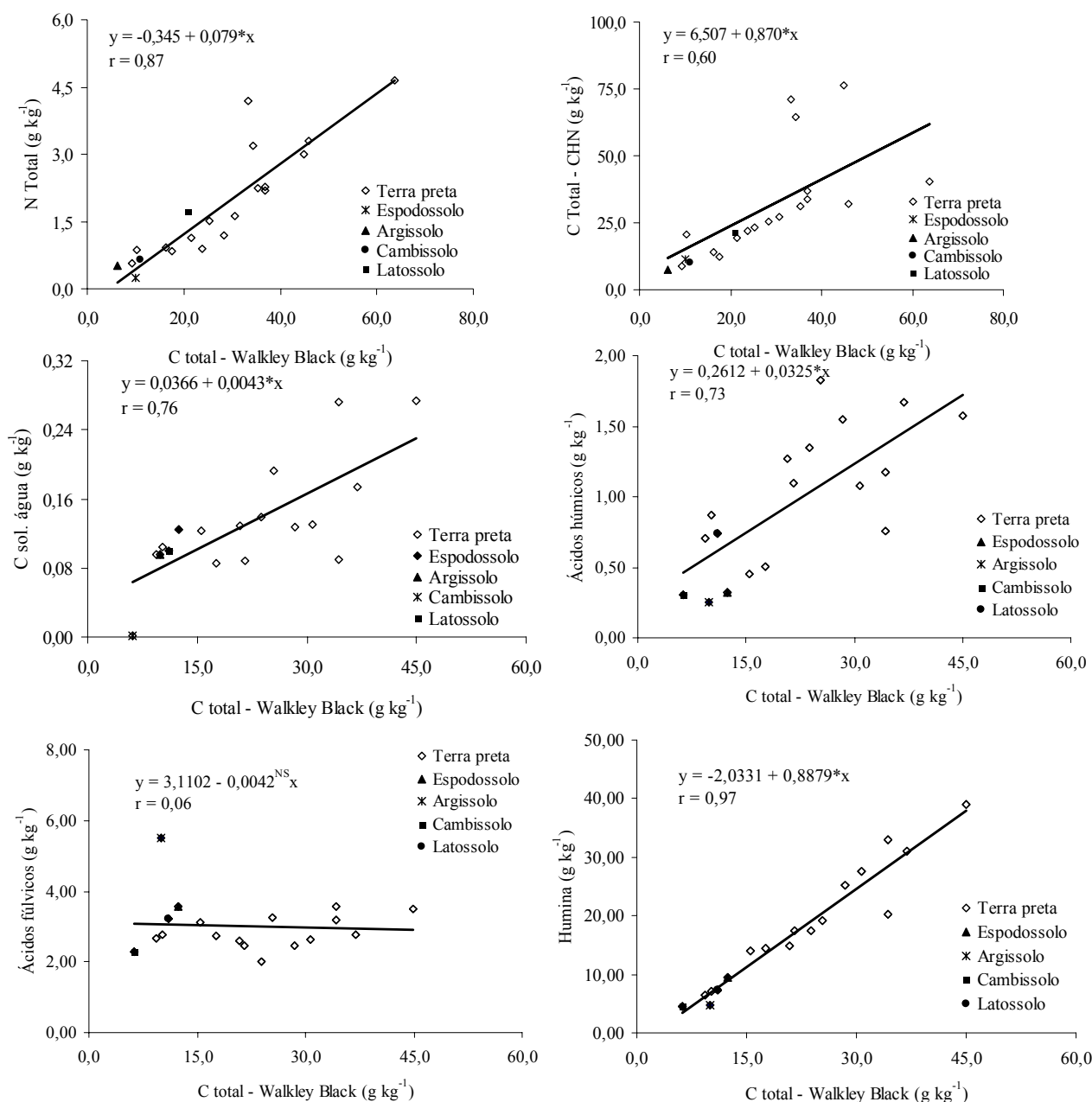
Foram utilizadas 19 amostras de terra com diferentes profundidades provenientes de onze sítios arqueológicos [Costa do Açutuba nas margens do rio Negro, Iranduba (AM); Hatahara nas margens do rio Solimões, Iranduba (AM); Caldeirão nas margens do rio Solimões, Iranduba (AM); Jiquitaia nas margens do rio Preto da Eva, Rio Preto da Eva (AM); Costa do Laranjal nas margens do rio Solimões, Manacapuru (AM); Itapeçu nas margens do rio Amazonas, Urucurituba (AM); Caburi, nas margens do rio Amazonas, Parintins (AM); Serra Baixa nas margens do rio Solimões, Manacapuru (AM) e Rio Preto da Eva (AM), na margem do rio Urubu] e de quatro solos representativos da região [Espodossolo (Presidente Figueiredo, AM), Latossolo (Manaus, AM), Argissolo (Rio Preto da Eva, AM) e Cambissolo (Coari, AM)].

O C total foi determinado por Walkley Black, e também com o analisador CHNS (Vario el, Alemanha). O N total foi obtido através do analisador CHNS enquanto que o P orgânico foi analisado de acordo com a metodologia descrita por Olsen & Sommers (1982). Para extração e fracionamento químico da matéria orgânica [C solúvel em água - CSA, matérias húmicas (ácidos fúlvicos - CAF, ácidos húmicos, CAH) e humina - CHU], foi utilizado os seguintes procedimentos: 10 g de TFSA foram colocados em tubo de centrifuga com 50 mL de água desionizada e agitado por 30 minutos e posterior centrifugação por 20 minutos a 13232g. Posteriormente, transferiu-se o sobrenadante para um frasco (C solúvel em água), o material retido no tubo foi ressuspenso com NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> em agitador horizontal por uma hora e centrifugado por 12 minutos a 10131g. Em seqüência, 100 mL do sobrenadante (matérias húmicas) foram novamente colocados no tubo de centrifuga e ajustou-se o pH com HCl 6 mol L<sup>-1</sup> até 2,0, deixando a solução em repouso por 30 minutos e posterior centrifugação por 10 minutos a 5168g. O sobrenadante (ácidos fúlvicos) foi transferido em frascos e o precipitado (ácidos húmicos) foi ressuspenso com 25 mL de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A fração humina foi calculada pela diferença entre o C total (Walkley Black) e C encontrado na fração

matérias húmicas. As análises descritivas (média, mediana, desvio padrão, coeficientes de curtose, assimetria e de variação e o teste de Shapiro Wilks a 5% de significância). Na comparação dos solos amostrados foi realizada a análise de variância (Teste F) e correlações a 5% de significância.

## Resultados e Discussão

Os resultados do teste de normalidade de Shapiro Wilks ( $p \leq 0,05$ ) indicaram distribuição normal para os teores de C total, P orgânico e relação C/N, o mesmo não ocorreu com o N total, que apresentou desvio padrão e coeficiente de variação altos, com valores de mínimo e máximo variando de  $0,58 \text{ g kg}^{-1}$  no sítio arqueológico do Açutuba (Iranduba) a  $5,19 \text{ g kg}^{-1}$  no Cajutuba (Santarém). Apesar dos baixos teores encontrados, os teores de N total apresentaram correlação positiva e significativa com o C total determinado pelo método Walkley Black (Figura 1).



**Figura 1.** Correlações entre o C total (Walkley Black) com N e C Total (CHNS), C solúvel em água, ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e fração humina. \*significativo a 5% de probabilidade. <sup>NS</sup> não significativo.

Os teores de C total, obtidos na TPI por Walkley Black e pelo analisador CHNS foram, na média dos dois métodos, 194% maiores que nos dos demais solos representativos da região. Zech et al. (1990) encontraram nos solos antrópicos materiais originados da matéria orgânica na forma estável com alto peso molecular e estruturas de anéis aromáticos unidos, situação diferente da encontrada nos Latossolos, que representam 41% dos solos da região, com os polissacarídeos totalmente degradados, sendo essa característica da MOS na terra preta, provavelmente, devida a atividade microbiana do solo. Apesar dessa estabilidade, a relação C/N nos solos de TPI foi apenas 20% maior do que o encontrado na média do Latossolo, Cambissolo e Argissolo e 158% menor que no Espodossolo. Os teores de fósforo orgânico apresentaram a mesma tendência que o disponível, indicando que o incremento do teor de P no solo na TPI pode estar diretamente relacionado à ocupação humana nessas localidades.

O C total determinado pelo Walkley Black e analisador CHNS apresentou correlações significativas. Apesar da significância, o método Walkley Black mostrou ser menos sensível na determinação em solos com altos teores de carbono total ( $> 64,0 \text{ g kg}^{-1}$ ) que o analisador CHNS (Figura 1), provavelmente, em decorrência da grande quantidade de carbono no solo na forma de carvão de difícil digestão com ácido sulfúrico concentrado.

O C solúvel em água (CSA) e as substâncias húmicas (CAF, CAH e CHU) na TPI apresentaram maior contribuição no C total quando comparado com os solos referências (Tabela 1), e exceto o CSA, o CAF, CAH e CHU apresentaram distribuição normal, com coeficientes de assimetria e curtose próximos de 0 e 3. Baseados nas características de solubilidade, os solos antrópicos mostraram maiores quantidades de ácidos húmicos e humina e menor contribuição dos ácidos fúlvicos com maior relação CAH/CAF (0,43) quando comparados com as outras classes de solos típicas da região (CAH/CAF = 0,1).

**Tabela 1.** Carbono solúvel em água (CSA), ácidos fúlvicos (CAF), ácidos húmicos (AH) e fração humina (CHU) nos solos e estatística descritiva.

Sítio	Localização	Prof cm	CSA	CAF ( $\text{g kg}^{-1}$ )	CAH	CHU ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
Rio Urubu	R. Preto da Eva (AM)	0-10	0,274	3,512	1,574	39,04
Rio Urubu	R. Preto da Eva (AM)	0-20	0,105	2,764	0,870	7,11
Hatahara	Irاندوبا (AM)	0-20	0,130	2,643	1,079	27,49
Hatahara	Irاندوبا (AM)	20-40	0,128	2,445	1,546	25,20
Hatahara	Irاندوبا (AM)	40-60	0,138	2,022	1,346	17,44
Serra baixa	Manacapuru	0-20	0,123	3,101	0,451	14,09
Jiquitaia	R. Preto da Eva (AM)	0-20	0,193	3,262	1,828	19,08
Jiquitaia	R. Preto da Eva (AM)	20-40	0,174	2,767	1,671	31,05
Açutuba	Irاندوبا (AM)	0-20	0,096	2,680	0,702	6,43
Jiquitaia	R. Preto da Eva (AM)	0-10	0,088	2,467	1,098	17,35
C. Laranjal	Manacapuru (AM)	0-20	0,085	2,748	0,506	14,42
Caburi	Parintins (AM)	0-20	0,129	2,588	1,268	14,81
Itapeçu	Urucurituba (AM)	0-20	0,090	3,552	1,170	20,31
Caldeirão	Irاندوبا (AM) - capoeira	0-20	0,272	3,184	0,759	32,95
Média			0,145	2,838	1,133	20,482
Mediana			0,128	2,756	1,134	18,220
Desvio padrão			0,063	0,433	0,435	9,568
Assimetria			1,124	0,300	-0,085	0,250
Curtose			0,224	0,393	-1,160	-0,774
Shapiro Wilks <sup>(1)</sup>			0,84*	0,95 <sup>NS</sup>	0,97 <sup>NS</sup>	0,96 <sup>NS</sup>
CV (%)			43,348	15,247	38,374	46,713
Espodossolo	P. Figueiredo (AM)	0-20	0,125	3,583	0,319	9,43
Argissolo	R. Preto da Eva (AM)	0-20	0,096	5,503	0,249	4,73
Cambissolo	Coari (AM)	0-10	0,002	2,282	0,307	4,55
Latossolo	Manaus (AM)	0-20	0,100	3,224	0,739	7,35
Média			0,081	3,648	0,404	6,515
Mediana			0,067	2,501	0,315	4,421
Desvio padrão			0,054	1,353	0,226	2,328
CV (%)			67,249	37,098	55,946	35,795

<sup>(1)</sup> \*Significativo a 5% de probabilidade. <sup>NS</sup> Não-significativo.

O aumento na quantidade de CAH nos antrópicos, quando comparado com outras classes de solos, pode ser indicador da melhor eficiência na humificação ocasionada pelo aumento da atividade microbiana, responsável pela síntese de substâncias húmicas mais condensadas. Esse incremento na humificação da TPI quando comparado com os outros solos analisados também pode ser devido aos altos teores de Ca ( $8,2 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ) presente no complexo de troca, que favorecem as atividades dos anelídeos e térmitas fornecendo uma matéria orgânica menos solúvel com agregados mais estáveis (Lima et al., 2002).

Nas classes de solos estudadas, o conteúdo de ácidos fúlvicos no solo independe do teor de matéria orgânica ( $\text{CAF} \approx 3,1 \text{ g kg}^{-1}$ ), o mesmo não ocorre com o C solúvel em água, ácidos húmicos e humina, que apresentaram coeficientes de correlação significativos (Figura 1). Os pontos abaixo da reta na equação de regressão obtida entre o carbono solúvel em água e C total, que alguns solos de TPI tem pouco CSA; o inverso ocorre com as frações ácidos húmicos e humina. Esses resultados, segundo Lima et al. (2002), é decorrência do caráter eutrófico dos solos antrópicos, o que favorece o acúmulo de formas mais estáveis à decomposição da matéria orgânica do solo.

## Conclusões

A ação antrópica ocasiona o incremento do conteúdo de ácidos húmicos e humina e diminuição de ácidos fúlvicos, com conseqüente melhoria na qualidade da matéria orgânica do solo. O caráter eutrófico da Terra Preta do Índio contrasta com as outras classes de solos representativas da região.

## Agradecimentos

Aos pesquisadores Wenceslau Geraldes Teixeira e Gilvan Coimbra Martins, da Embrapa CPAA, pela amostras de terra, e a Embrapa, pelo financiamento através do projeto "Terra Preta Nova".

- CAMARGO, F.A.O., et al. Macromoléculas e substâncias húmicas. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. (Eds.) *Fundamentos da matéria orgânica do solo; ecossistemas tropicais e subtropicais*. Porto Alegre: Gênese, 1999. p.27-39.
- LIMA, H.N., et al. Pedogenesis and pre-Colombian land use of "Terra Preta Anthrosols" ("Indian black earth") of Western Amazonia. *Geoderma*, v.110, p.1-17, 2002.
- OLSEN, S.R.; SOMMER, L.E. Phosphorus. In: MILLER, R.H.; KENNEY, D.R. (Eds.) *Methods of soil analysis*. Madison: ASA, 1982. p.403-430.
- SCHNITZER, M., et al. Determination of the aromaticity of humic substances by X-ray diffraction analysis. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, v.55, p.745-750, 1991.
- SMITH, N.J.H. Anthrosol and human carrying capacity in Amazonia. *Annals Assoc. Am. Geo.*, v.70, p.553-566, 1980.
- TEIXEIRA, W.G.; MARTINS, G.C. Soil physical characterization. In: LEHMANN, J., et al. (Eds.) *Amazonian dark earths; origin, properties and management*. Dordrecht: Kluwer Acad. Pub., 2003. p.271-286.
- ZECH, W., et al. Ecological aspects of soil organic matter in tropical land use. In: MAcCARTHY, P., et al. (Eds.) *Humic substances in soil and crop sciences; selected reading*. Madison: American Society of Agronomy, 1990, p.187-202.



## Avaliação do grau de humificação de ácidos húmicos extraídos de um argissolo tratado com lodo de esgoto por espectroscopia de fluorescência e Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

Kelly Mayumi Narimoto<sup>1,2\*</sup> (PG), Cléber Hilário dos Santos<sup>1</sup> (IC), Débora Marcondes Bastos Pereira Milori<sup>1</sup> (PQ), Ladislau Martin-Neto<sup>1</sup> (PQ), Wanderley José Melo<sup>3</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, 1452, Cp. 741, CEP: 13560-970, São Carlos, SP.

<sup>2</sup>Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, Av. Trabalhador São Carlense, 400, Cp. 780, CEP:

13560-970, São Carlos, SP. <sup>3</sup>Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,

Departamento de Tecnologia, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, Km 05, CEP: 14870-900, Jaboticabal, SP.

\*e-mail: kelly@cnpdia.embrapa.br

Palavras Chave: lodo de esgoto, matéria orgânica, substâncias húmicas.

### Introdução

A matéria orgânica (MO) é imprescindível para a qualidade dos solos de regiões tropicais. Ela desempenha papel relevante na produtividade das culturas por ser importante reservatório de N, P e S e por influenciar fatores como pH, capacidade de troca iônica, atividade microbiana e estrutura do solo<sup>1,10</sup>.

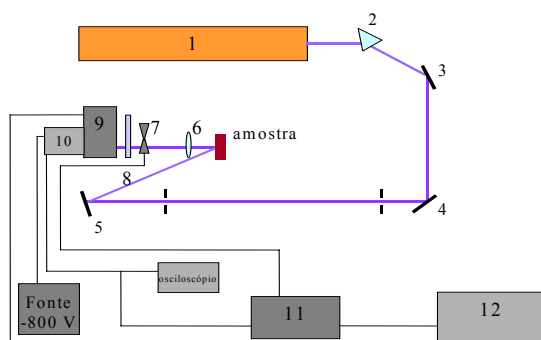
O lodo de esgoto é uma fonte de nutrientes e MO e sua aplicação em solos agrícolas é uma forma de disposição final desse resíduo, já que a produção desse resíduo vem aumentando a cada dia. Seu destino ainda é um problema a ser resolvido, tendo em vista seu potencial poluidor devido ao elevado conteúdo em matéria orgânica e metais pesados. Pela composição em nutrientes das plantas, o uso na agricultura, como fertilizantes, tem sido um grande atrativo. Desse tipo de disposição se pode obter benefícios. Borges et al. (2004) mostraram que a adição de lodo de esgoto promoveu alterações em alguns atributos químicos dos solos e que ocorreram aumentos lineares nos teores de MO.

Considera-se a MO como um conjunto de substâncias altamente heterogêneo que inclui numerosos compostos de carbono, variando de açúcares, proteínas e outros constituintes biológicos, ácidos orgânicos de baixas massas moleculares, como os ácidos acético e oxálico, quase todos facilmente mineralizáveis, até o conjunto complexo de produtos recalcitrantes resultantes de transformações químicas e microbianas da matéria orgânica do solo (MOS)<sup>2</sup>.

A MOS é constituída basicamente de dois tipos de substâncias, as húmicas (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina) e não húmicas (biopolímeros como lignina, peptídios, polissacarídeos, ácidos orgânicos de baixo peso molecular, lipídios e outros, presentes em fragmentos de resíduos). As substâncias húmicas (SH) são componentes estáveis da MO e são constituídas de uma mistura heterogênea de compostos orgânicos. São

formadas através do processo de humificação, caracterizado por alterações nas estruturas químicas dos resíduos orgânicos e são controladas por variáveis como temperatura, regime de água do solo, pH e disponibilidade de nutrientes. Durante a humificação, geralmente ocorre aumento na concentração de C carboxílico e C aromático e uma diminuição na concentração de C O-alkil<sup>10</sup>. O grau de humificação da MOS pode ser medido através da espectroscopia de fluorescência e da Fluorescência Induzida por Laser (FIL), uma metodologia nova e eficiente que fornece resultados de maneira rápida e em condições próximas das naturais, pois as amostras de solo não necessitam ser submetidas a tratamento prévio<sup>8,9</sup>.

O sistema para medir a FIL (Figura 1) é constituído de um laser de argônio (1), de um prisma para separação da emissão laser da fluorescência do gás (2), de espelhos para condução da excitação até a amostra de solo (3, 4 e 5), de uma lente para coletar a fluorescência (6), de um modulador óptico (optical chopper) (7), de um filtro para suprimir a excitação no sistema de detecção (8), de um monocromador (CVI, L=25 cm) (9), de uma fotomultiplicadora (10), de um amplificador lock-in (11) e de um microcomputador dotado de placa de aquisição e software de controle e aquisição de dados (12). O laser de argônio foi sintonizado na linha de 458 nm com potência de 300 mW. A resolução espectral do sistema foi avaliada em 4 nm. Neste sistema, a emissão de fluorescência espalhada é medida e fornece informações sobre as estruturas orgânicas presentes na superfície da amostra. Para cada amostra, foram obtidos quatro espectros e a média da área desses espectros foi utilizada para calcular o grau de humificação.



**Figura 1** – Sistema para medição de Fluorescência Induzida por Laser para amostras de solo inteiro.

O grau de humificação da MO ( $H_{FIL}$ ) foi obtido através da razão entre a área do espectro de emissão da fluorescência com excitação em 458 nm (ACF) e a concentração de carbono orgânico total (COT), ou seja  $H_{FIL} = (ACF/COT)$ . A razão entre ACF e COT visa normalizar a concentração de fluoróforos pela concentração de C orgânico na amostra. A excitação no azul é mais ressonante com estruturas humificadas, conforme observado por Milori et al. (2002) e por isso foi utilizada neste estudo com FIL.

A porcentagem de carbono foi determinada por COT (Carbono Orgânico Total), utilizou-se o equipamento Total Organic Carbon Analyzer, modelo TOC-V CPH, marca Shimadzu, acoplado ao Solid Sample Module, SSM-5000, marca Shimadzu.

A espectroscopia de fluorescência por luz UV-Visível fornece informações que podem ser usadas para diferenciar e classificar a MO natural de acordo com a sua origem, gênese e natureza, também para identificar estruturas moleculares e funcionalidades, sendo sensível a presença de metais pesados e contaminantes orgânicos.

As principais vantagens são alta sensibilidade e seletividade, somente aqueles grupos funcionais que fluorescem podem ser observados. A intensidade da fluorescência aumenta com o decréscimo do tamanho molecular e o incremento de grupos C=O, COOH e C aromático. Essa técnica é utilizada para estudar a idade das substâncias húmicas e mostra que o conteúdo de grupos COOH é maior para ácidos húmicos “mais velhos”.

Baseado nestes fatos, é possível propor a fluorescência como técnica para estudar os processos de humificação<sup>7</sup>.

Amostras das camadas de 0-10, 10-20 e 20-30 cm de um Argissolo Vermelho Amarelo distrófico de textura média, submetido a cinco tratamentos com lodo de esgoto, foram coletadas num pomar de citros da Fazenda Retiro (Monte Azul Paulista, SP). Os tratamentos constituíram-se de uma testemunha (adubação mineral com base na análise do solo) e 4 doses de lodo de esgoto (T1 = 4,5, T2 = 9,0, T3 =

13,5 e T4 = 18,0 Mg ha<sup>-1</sup>, base seca). O solo da mata nativa próxima ao pomar e o lodo de esgoto também foram amostrados. O lodo de esgoto foi obtido na Estação de Tratamento de Esgoto da SABESP, em Franca, SP, e aplicado em sulcos abertos ao lado das plantas, sendo a metade da dose aplicada em novembro, no sulco aberto na parte superior da linha de plantio, e a outra metade no mês de dezembro, no sulco aberto da linha de plantio. O lodo de esgoto foi aplicado por três anos consecutivos.

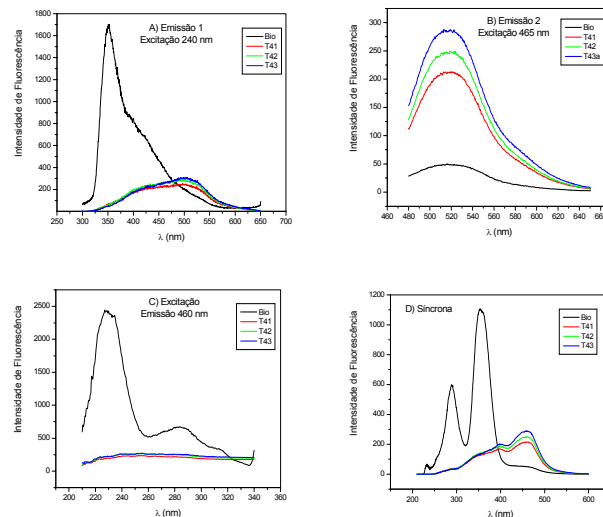
Para obtenção do ácido húmico (AH) foi realizada a extração e fracionamento dos componentes húmicos do solo, utilizando o procedimento padrão sugerido pela Interantional Humic Substances Society (IHSS).

Os experimentos de fluorescência em solução foram realizados com soluções de NaHCO<sub>3</sub> 0,05 mol L<sup>-1</sup> do AH em concentração entre 10 e 20mgL<sup>-1</sup>.

Para FIL, as amostras de solo foram secas ao ar, moídas e peneiradas em malha de 0,5 mm. Antes de serem submetidas à espectroscopia de FIL, as amostras foram prensadas em pastilhas com 1 cm de diâmetro, 2 mm de espessura e 0,5 g de massa, a fim de facilitar a colocação das mesmas no sistema utilizado para análise.

## Resultados e Discussão

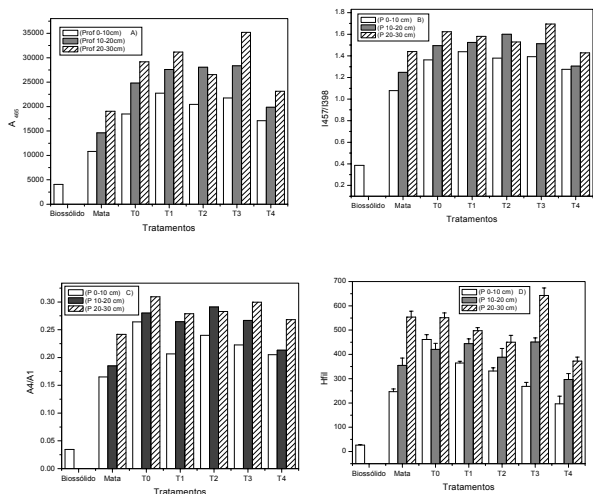
Os espectros obtidos através da espectroscopia de fluorescência em solução das amostra do tratamento T4 estão representados na figura 2.



**Figura 2:** A) espectro de emissão, com excitação em 240nm; B) espectro de emissão, com excitação em 465 nm; C) espectro de excitação, com emissão em 460 nm; D) espectro de varredura sincronizada,  $\Delta\lambda=55$ nm.

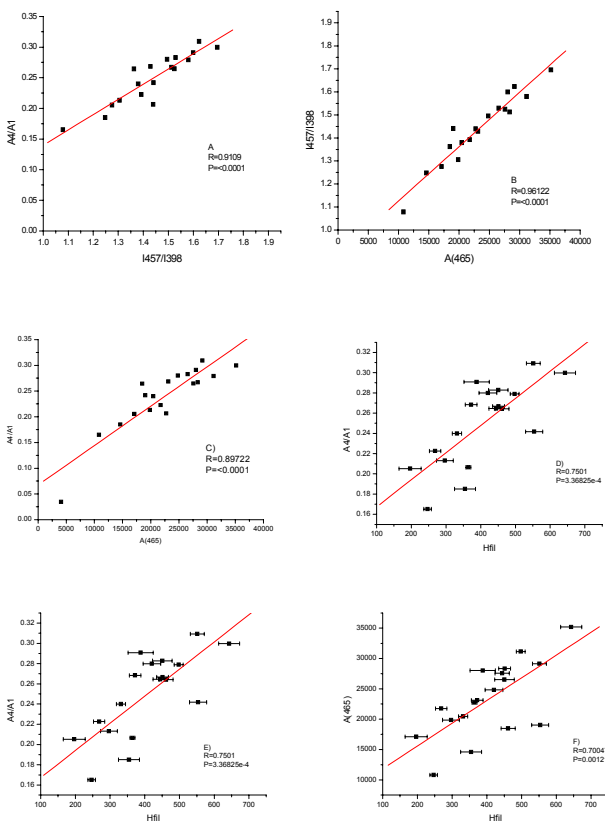
A análise espectroscópica dos ácidos húmicos permitiu a obtenção de índices de humificação pelas técnicas de fluorescência, utilizando as metodologias de Milori et al. (2002), Zsolnay et al. (1999) e Kalbitz et al. (1999). Os valores dos índices

de humificação obtidos por fluorescência, calculados para cada método, inclusive por FIL, estão representados na figura 3.



**Figura 3:** diagramas representativos dos índices de humificação obtidos através da fluorescência por diferentes metodologias: A) Milori, B) Zsolnay, C) Kalbitz e D) FIL.

As correlações entre as metodologias utilizadas estão apresentadas na figura 4.



**Figura 4:** Correlações entre as metodologias utilizadas: A) Zsolnay x Kalbitz, B) Kalbitz x Milori, C) Zsolnay x Kalbitz, D) Kalbitz x FIL, E) Zsolnay x FIL e F) Milori x FIL.

Os índices de humificação para os AHs extraídos do argissolo apresentaram boa correlação entre as metodologias utilizadas neste trabalho. Nas

correlações entre fluorescência em solução e FIL, os índices de humificação refletem de maneira satisfatória as características da MO, já que as medidas são realizadas com solo intacto. Os valores dos coeficientes de correlação obtidos foram significativos.

Através dos diagramas apresentados na figura 3 foi possível observar que o grau de humificação da MO diminui gradualmente com o incremento da dose de lodo de esgoto, sendo que for FIL o grau de humificação observado no T4 (18 Mg ha<sup>-1</sup> lodo de esgoto) foi menor inclusive do que o observado no solo de mata. Essa diminuição no grau de humificação pode ser atribuída à incorporação de compostos alifáticos menos humificados procedentes do lodo de esgoto<sup>4</sup>. Na mata, o baixo grau de humificação pode ser atribuído à elevada adição de resíduos vegetais pela vegetação nativa.

De maneira geral, em cada tratamento observou-se um incremento do grau de humificação em profundidade, o que é explicado pelo fato do resíduo vegetal ou do lodo de esgoto acumular-se na superfície do solo, porém a diminuição do grau de humificação também foi observada na segunda e terceira profundidades e não somente na superfície onde foi aplicado o lodo de esgoto.

## Conclusões

Os resultados demonstraram que a espectroscopia de fluorescência tanto em solução como a Induzida por Laser fornece dados coerentes à cerca do grau de humificação da matéria orgânica do solo.

O Hfil por Fluorescência Induzida por Laser se mostrou eficiente, pois é adequada para avaliação de solos intactos, o que poderia servir como alternativa aos procedimentos de extração e fracionamento químico de SH nos estudos de MO em sua forma natural.

## Agradecimentos

Embrapa Instrumentação Agropecuária - São Carlos, SP.

Instituto de Química de São Carlos - USP – SP.

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Departamento de Tecnologia - UNESP – Jaboticabal, SP.

Engenheiro-agrônomo, MS, Antonio B. J. Franco, que forneceu a área experimental de sua Dissertação de Mestrado para obtenção das amostras utilizadas neste estudo.

<sup>1</sup>Balesdent, J.; Chenu, C.; Balabane, M. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil & Tillage Research*, v. 53, p. 215-230, 2000.

<sup>2</sup>Bduziak, C. R.; Maia, C. M. B.; Mangrich, A. S. Transformação química da matéria orgânica durante a compostagem de resíduos da indústria madeireira. *Quím. Nova*, v. 27(3), p. 399-403, 2004.

- <sup>3</sup>Borges, M. R.; Coutinho, E. L. M. Metais pesados do solo após aplicação de lodo de esgoto: I – Fracionamento. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 28, p. 557-568, 2004.
- <sup>4</sup>González-Pérez, M.; Martin-Neto, L.; Saab, S. C.; Novotny, E. H.; Milori, D. M. B. P.; Bagnato, V. S.; Colnago, L. A.; Melo, W. J.; Knicker, H. *Geoderma*, v. 118, p. 181-190, 2004.
- <sup>5</sup>Kalbitz, K.; Geyer, W.; Geyer, S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances – a reflection of land use history in a fen area. *Biogeochemistry*, v. 47, p. 219-238, 1999.
- <sup>6</sup>Martin-Neto, L.; Bayer, C.; Mielniczuk, J.; Colnago, L. A.; Saab, S. C. E.; Conceição, M. Estudos espectroscópicos de substâncias húmicas e matéria orgânica em amostras de solos intactas, fracionadas fisicamente e quimicamente. In: *Encontro Brasileiro sobre Substâncias Húmicas*, 2º, São Carlos-SP, 1997. Anais...São Carlos: Embrapa-CNPDIA. P. 79-86, 1997.
- <sup>7</sup>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 Sci.*, v.167 (11), p.739-749, 2002.
- <sup>8</sup>Milori, D. M. B. P.; Galeti, H. V. A.; Martin-Neto, L.; González-Pérez, M.; Bayer, C.; Mielniczuk, J.; Salton, J. “Humification degree of organic matter in whole soil determined by laser-induced fluorescence” *Humic Substances and Soil and Water Environment*, São Carlos, Rima editora, p. 609. 2004.
- <sup>9</sup>Milori, D. M. B. P.; Galeti, H. V. A.; Martin-Neto, L.; Diekow, J.; González-Pérez, M.; Bayer, C.; Salton, J. “Organic matter study of whole soil samples using laser-induced fluorescence spectroscopy”, aceito para publicação na *Soil Science Society of America Journal*, 2005.
- <sup>10</sup>Zech, W.; Senesi, N.; Guggenberger, G.; Kaiser, K.; Lehmann, J.; Miano, T. M.; Miltner, A.; Schroth, G. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. *Geoderma*, 79, p. 117-161, 1997.
- <sup>11</sup>Zsolnay, E.; Baigar, M.; Jimenez, B.; Steinweg, N. A.; Saccomandi, F. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere*, v. 38, p. 45-50, 1999.

## Detecção de complexos formados por substâncias húmicas aquáticas e $\text{Cu}^{2+}$ em águas através de sensores poliméricos

Alessandra Firmino Nascimento<sup>\*(1,2)</sup> (PG), Carlos Eduardo Borato<sup>(1,2)</sup> (PG), Wilson Tadeu Lopes da Silva<sup>(1)</sup> (PQ), Osvaldo Novais de Oliveira<sup>(1)</sup> (PQ), Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>(2)</sup> (PQ)

<sup>1</sup> PPG – Programa de Pós Graduação Interunidades em Ciência e Engenharia de Materiais – IFSC (Instituto de Física de São Carlos)– São Carlos – USP – SP/BRASIL

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária – CNPDIA – São Carlos/SP – Brasil, C.P. 741.

\*e-mail: firmino@cnpdia.embrapa.br

Palavras Chave: Polímeros Condutores, SHA e  $\text{Cu(II)}$

### Introdução

A detecção das substâncias húmicas nas águas é muito importante na medida em que elas são o fator preponderante na interação com metais pesados como o  $\text{Cu}^{2+}$ . Os metais pesados, por não serem química nem biologicamente degradados, representam um potencial risco ao meio ambiente [1,2]. Em ecossistemas aquáticos, íons metálicos e SHA apresentam variadas ligações e os metais distribuem-se em complexas trocas entre solução e fase sólida. Experimentos sobre a mobilidade de metais em solos têm indicado dependências entre o teor metálico, acidez e a capacidade tamponante do solo. Nestas condições, grande quantidade de íons metálicos ligados às SHA estariam passíveis de dissociação. As conseqüências são águas com baixos valores de pH e altos teores de metais livres, os quais apresentam elevada toxicidade [3]. Além disso as substâncias húmicas podem alterar o grau de complexação dos íons metálicos, podendo imobilizá-los no ambiente [4,5].

O objetivo deste trabalho foi a avaliação da eletroatividade, sensibilidade e seletividade dos sensores poliméricos através da caracterização elétrica dos mesmos (medidas de impedância elétrica AC), avaliação do desempenho e reprodutibilidade dos sensores em amostras de água contendo substâncias húmicas aquáticas complexadas com  $\text{Cu}^{2+}$  e análise dos padrões de resposta por Análise de Componentes Principais (PCA).

### Resultados e Discussão

A caracterização elétrica dos sensores para detecção de complexos de substâncias húmicas aquáticas com  $\text{Cu(II)}$  foi realizada através de medidas de impedância em corrente alternada (AC), a fim de analisar a eletroatividade, sensibilidade e seletividade dos sensores poliméricos. A aquisição e o tratamento final dos dados (medidas de Capacitância (C(F)) na frequência de 1kHz) foram realizados utilizando o método estatístico de PCA que correlaciona e diferencia os dados indicando diferenças e semelhanças de uma resposta com

relação a outra, sendo possível distinguir amostras de águas com diferentes composições químicas.

Na Figura 1 observamos a mudança na resposta progressiva do sinal elétrico de um arranjo de seis sensores formados por polímeros condutores e materiais sensíveis (Poli *o*-etoxi anilina (POEA)), lignina sulfonada (LS) e substâncias húmicas aquáticas (SHA)) a partir do início da adição padrão de uma solução estoque de  $10^4 \text{ mgL}^{-1}$  de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{Cu}^{2+}$ ) (no gráfico, medida 80) em água ultra-pura para que a concentração final do meio resultasse em (1; 2; 4; 6; 8 e 10)  $\text{mgL}^{-1}$  de  $\text{Cu}^{2+}$  em meio aquoso. Antes disso são apresentadas as medidas de estabilização da água ultra-pura (no gráfico, medidas de 1 a 80).

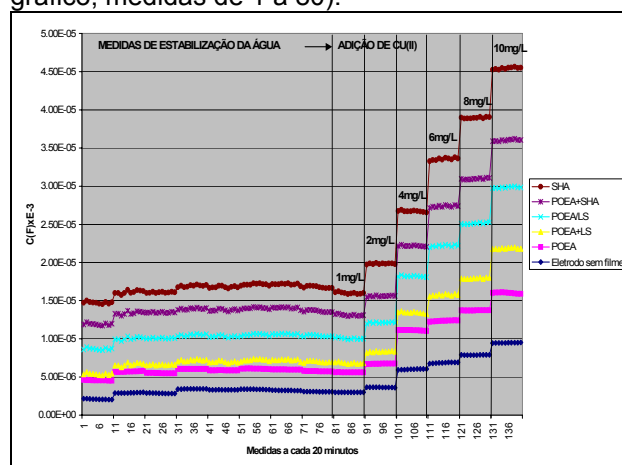
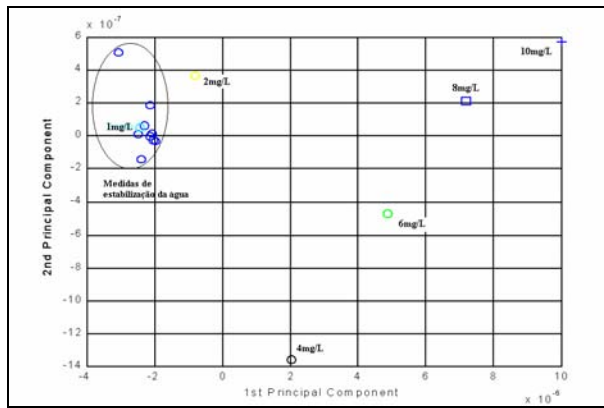


Figura 1. Adição de Padrão de  $\text{Cu}^{2+}$  em água ultra-pura.

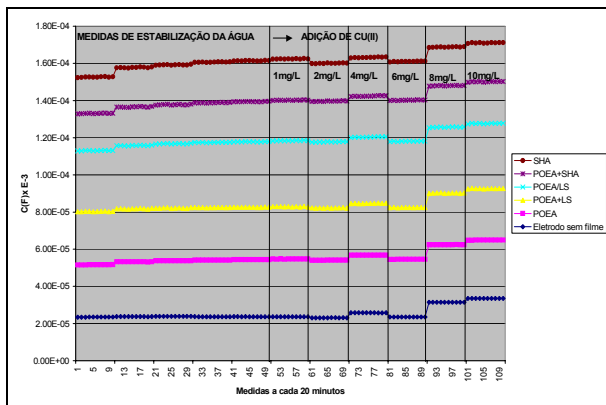
Na Figura 2 é mostrado o gráfico de PCA para o mesmo experimento descrito acima demonstrado na Figura 1, ou seja a adição padrão de alíquotas de uma solução estoque ( $10^4 \text{ mgL}^{-1}$ ) de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{Cu}^{2+}$ ) em água ultra-pura para que a concentração final do meio resultasse em (1; 2; 4; 6; 8 e 10)  $\text{mgL}^{-1}$  de  $\text{Cu}^{2+}$ . A PCA mostra que o sensor é capaz de detectar e diferenciar o  $\text{Cu}^{2+}$  em água mesmo sem complexar com a SHA, mostrando que o polímero não somente interage com o complexo  $\text{SHA/Cu}^{2+}$  mas também com íons livres de  $\text{Cu}^{2+}$  em concentrações na faixa de parte por milhão (ppm ou  $\text{mg L}^{-1}$ ), o que é bom quanto à sensibilidade do sensor para esse tipo de detecção.





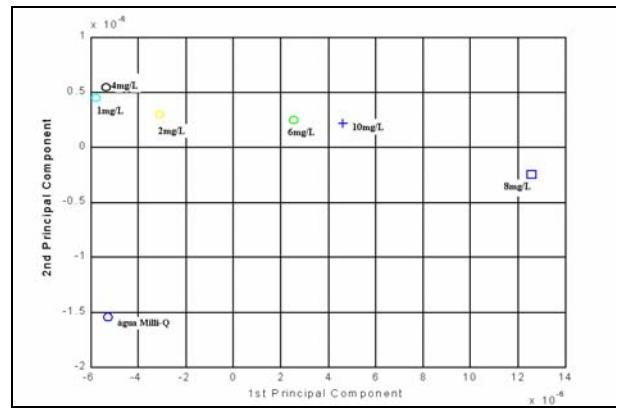
**Figura 2.** Gráfico de Componentes Principais para as medidas de adição padrão de  $\text{Cu}^{2+}$ .

Na Figura 3 temos as respostas de C(F) para os sensores em meio SHA ( $50\text{mgL}^{-1}$ ). Observa-se que a quantidade de  $\text{Cu}^{2+}$  adicionada não altera de maneira significativa ou linear as respostas elétricas dos sensores, isto é, em comparação a grande quantidade de SHA ( $50\text{mgL}^{-1}$ ) a complexação ocorre em baixa quantidade, a qual não é diferenciada pelos. Esse resultado vem mostrar que o quanto maior a quantidade de complexos presentes no meio, maior a sua estabilidade, maior complexação, maior “proteção” dos íons lábeis de  $\text{Cu}^{2+}$  pelas SHA.



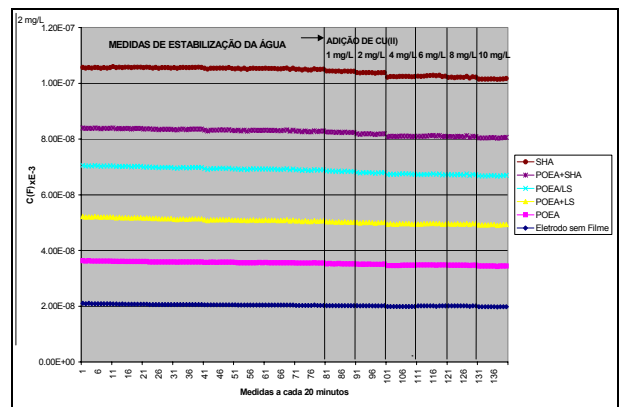
**Figura 3.** Adição de Padrão de  $\text{Cu}^{2+}$  em solução aquosa de SHA  $50\text{mgL}^{-1}$ .

Esse fato também foi percebido na análise de componentes principais da Figura 4, na qual amostras com concentrações diferentes de  $\text{Cu}^{2+}$  apresentam-se em regiões muito próximas não tendo uma boa separação nos componentes principais.



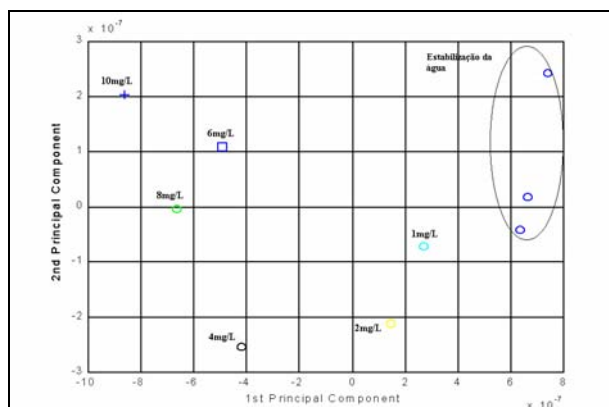
**Figura 4.** Gráfico de Componentes Principais para a adição padrão de  $\text{Cu}^{2+}$  em SHA  $50\text{mgL}^{-1}$ .

Quando a concentração de SHA é diminuída para SHA ( $20\text{mgL}^{-1}$ ) observa-se melhor diferenciação por parte dos sensores através da medidas elétricas por C(F). Na Figura 5 isso é observado a partir da medida 80, quando começa a adição padrão de alíquotas de uma solução estoque de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ( $10^4\text{mgL}^{-1}$ ) em SHA ( $20\text{mgL}^{-1}$ ) para que a concentração final resultasse em (1; 2; 4; 6; 8 e 10)  $\text{mgL}^{-1}$  de  $\text{Cu}^{2+}$  em meio húmico. Os valores de capacitância apresentam-se menores devido a complexação de SHA com  $\text{Cu}^{2+}$ .



**Figura 5.** Adição de Padrão de  $\text{Cu}^{2+}$  em SHA  $20\text{mgL}^{-1}$ .

Na Figura 6 é mostrado o gráfico de PCA para o experimento descrito acima demonstrado na Figura 5. A distinção entre as amostras é notada à medida que se adiciona  $\text{Cu}^{2+}$  em SHA, mostrando que o sensor é capaz de detectar a complexação de  $\text{Cu}^{2+}$  com SHA, em diferentes concentrações dentro da faixa de concentração em parte por milhão (ppm ou  $\text{mgL}^{-1}$ ).



**Figura 6.** Gráfico de Componentes Principais para as medidas de adição padrão de  $\text{Cu}^{2+}$  em SHA 20  $\text{mgL}^{-1}$ .

## Conclusões

Os resultados de PCA obtidos através das medidas elétricas vieram demonstrar que o sensor é eficiente para avaliar e diferenciar amostras de águas contendo substâncias húmicas e  $\text{Cu}^{2+}$  em diferentes concentrações através da interação do polímero com os analitos. Através de resultados obtidos da análise do desempenho dos sensores na diferenciação de amostras de água, concluímos que os sensores poliméricos são sensíveis, seletivos aos tipos de águas analisados e reprodutíveis quanto a resposta elétrica de cada amostra. A sensibilidade do arranjo depende da concentração

de substância húmica dissolvida no meio aquoso, sendo que  $50 \text{ mgL}^{-1}$  “mascara” a resposta elétrica dos sensores.

Estes resultados vieram demonstrar que a língua eletrônica é uma inovação no desenvolvimento de uma variedade de sensores químicos simples, de baixo custo e eficientes para avaliar, diferenciar e classificar tipos de amostras de águas contendo substâncias húmicas e mostrando-se útil na detecção destas espécies químicas que interagem com metais pesados, formando resíduos ligados de difícil degradação e alta contaminação ambiental.

## Agradecimentos

Ao CNPq, à Embrapa Instrumentação Agropecuária – CNPDIA/São Carlos e à Rede Nanobiotec.

- [1] Branco, S.M., In: A Água e o Homem. In Porto, R.L.L. Et Al., Hidrologia Ambiental. Editora Da Universidade De São Paulo: Associação Brasileira De Recursos Hídricos: V.3. 414p., (1991).
- [2] Meybeck, M., River Quality Global Ranges, Time And Space Variabihes, Proposal For Some Redefinitions. Verth Internat. Verein Lininol. Stuttgart. P. 81-96, (1996).
- [3] Zhang, M. and Florence, T.M., Anal. Cuim. Acta, V. 197, P. 137 – 148, (1987).
- [4] da Silva, W. T. L.; Thobie-Crouter, C.; Rezende, M.O.O., Electroanalysis, 14(1), p. 71-77, (2002).
- [5] Crespilho, F.N.; Zucolotto, V.; Siqueira Jr., J.R.; Constantino, C.J.L.; Nart, F.C.; Oliveira Jr., O.N.; Environmental Science & Technology, in press.

## Estudo comparativo dos sistemas de plantio direto e convencional com diferentes rotações de cultura em um Latossolo Vermelho-Escuro através de fracionamento químico

Luciana da C. Rios<sup>1(\*)</sup>, Mauro da Conceição<sup>2</sup>, Henrique P. dos Santos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>(PG) - Embrapa Solos, CEP: 22460-000, Rio de Janeiro, RJ, e-mail: luciana\_rios@ig.com.br; <sup>2</sup>(PQ) - Embrapa Solos; <sup>3</sup>(PQ) - Embrapa Trigo.

Palavras Chave: *Matéria orgânica, fracionamento químico, plantio direto.*

### Introdução

O uso intensivo e o manejo inadequado das diversas áreas exploradas têm acelerado a erosão, causando alteração em algumas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Esses fatores também contribuem para o processo de degradação da matéria orgânica, com conseqüente decréscimo da fertilidade natural dos solos e diminuição potencial produtivo das culturas<sup>1</sup>.

A matéria orgânica é responsável pela sustentabilidade de muitos agroecossistemas porque torna o solo resiliente e elástico. O conhecimento dos seus teores e sua dinâmica nos diversos processos naturais tem sido objeto de muitos estudos, uma vez que, há enorme preocupação dos cientistas no que se refere à atenuação dos efeitos negativos do efeito estufa sobre os processos naturais do globo terrestre, pois a mesma tem sido reconhecida como um importante fonte de imersão no ciclo do carbono global<sup>3</sup>.

Dessa forma, a avaliação das alterações edáficas, dos estoques de carbono e qualidade da matéria orgânica, em que a qualidade do solo se traduz em determinar e quantificar as substâncias húmicas do solo, em função do cultivo, é de grande importância para melhor compreensão da dinâmica da matéria orgânica e da evolução estrutural do solo. Os conhecimentos sobre parâmetros físicos e químicos de solo em sistemas de manejo, em rotação de culturas e em integração lavoura + pecuária podem auxiliar nas informações dessas alterações.

O uso adequado do solo tem exigido uma melhor compreensão dos processos físicos, químicos e biológicos que dinamizam o seu comportamento. Os conhecimentos desses processos são enormes em condições de manejo intensivo do solo, através de sistemas convencionais, que além de exigir o uso cada vez maior de insumos, tem sido considerados os responsáveis pela intensa degradação do solo e redução da capacidade produtiva das culturas e pastagens.

Entretanto, a procura e adoção de sistemas alternativos de manejo do solo tem aumentado

muito nos últimos anos. Neste sentido, os sistemas de alicerçados no plantio direto, associados com outras práticas agroecológicas, como rotação de culturas, a adubação verde com leguminosas e gramíneas, entre outros, tem se mostrado como possível alternativa concreta.

Foram coletadas amostras de solo referentes aos horizontes Ap e AB, BA, em experimento de campo instalado em 1986, de um Latossolo Vermelho-Escuro distrófico, textura muito argilosa, localizado no Campo Experimental da Embrapa Trigo no município de Passo Fundo-RS.

Os tratamentos do experimento constam de dois sistemas de manejo do solo: 1) Preparo Convencional, com arado de disco mais gradagem (PC); 2) Plantio Direto (PD), e dois sistemas de rotação para trigo: 1) Sistema I (trigo/soja e ervilha/milho); 2) Sistema II (trigo/soja, aveia branca/soja e ervilha/milho).

O delineamento experimental é de blocos ao caso, em parcelas subdivididas, com três repetições. As parcelas principais são constituídas pelos sistemas de manejo de solo e as subparcelas, pelos sistemas de rotação de culturas para trigo.

A extração e fracionamento das substâncias húmicas foram realizadas segundo metodologia proposta por Kononova<sup>2</sup>

O presente trabalho foi conduzido com a finalidade de quantificar o efeito do manejo na matéria orgânica e seus componentes – substâncias húmicas – de um Latossolo Vermelho-Escuro distrófico, em diferentes sistemas de cultivo: Plantio Direto (PD) e Plantio Convencional (PC), com diferentes rotações de culturas.

### Resultados e Discussão

Na tabela 1 são apresentados os valores de carbono orgânico total (COT) e das diversas frações húmicas para os diferentes sistemas de preparo do solo e rotações de culturas, onde: PD (Plantio Direto), PC (Plantio Convencional), mct (monocultivo de trigo), 1 is/t (1 inverno sem trigo) e 2 is/t (dois invernos sem trigo). Pode-se observar que os resultados no PC, houve uma tendência de diminuição gradativa do COT em profundidade. No PD, o COT apresentou a tendência de diminuição significativa em profundidade, possivelmente em

razão do menor aporte de matéria orgânica, que em realidade é uma das características deste sistema de manejo do solo.

**Tabela 1.** Distribuição das frações húmicas de um LE sob diferentes sistemas de cultivo.

Trat	Horiz	COT*	Frações humificadas*					
			AFL	AFlig.	Aft.	AH	AS	H
PD-mct	Ap	29,2	0,8	3,1	3,9	0,5	3,5	14
	AB	17,4	0,7	1,9	2,6	0,2	2,1	5,7
	BA	13,4	0,8	1,2	2	0,1	1,3	5,1
PD-1is/t	Ap	27,5	0,9	3,7	4,6	0,7	4,4	11
	AB	17,4	0,7	2,3	3	0,5	2,8	5,4
	BA	14,4	0,8	1,7	2,6	0,4	2,1	4,5
PD-2is/t	Ap	30,9	0,9	3,5	4,4	0,3	3,8	15
	AB	17,1	0,8	1,9	2,6	0,2	2,1	6,7
	BA	13,4	0,8	1,3	2,2	0,1	1,4	5,1
PC-mct	Ap	18,6	0,9	2,4	3,3	0,3	2,7	5,7
	AB	18,7	0,9	2,5	3,3	0,5	2,9	5,6
	BA	13	0,9	1,6	2,5	0,2	1,8	3,6
PC-1is/t	Ap	19	0,8	2,2	0,3	0,3	2,5	6,5
	AB	18,3	0,8	2,1	0,3	0,3	2,4	6
	BA	13,5	0,7	1,5	0,2	0,1	1,6	4,6
PC-2is/t	Ap	19	0,7	2,2	3	0,3	2,6	6,8
	AB	18,6	0,8	2,5	3,3	0,3	2,8	6,6
	BA	13	0,8	1,3	2,1	0,3	1,6	4,7
Mata	Ap	73,4	1,6	8,9	10,5	1,9	11	56
	AB	19,4	1,1	2,8	3,9	0,4	3,2	4,9
	BA	12,5	0,9	1,6	2,5	0,1	1,7	2,9

(\*) g kg<sup>-1</sup>; COT – carbono orgânico total

AFL – ácido fúlvico livre; AFlig. – ácido fúlvico ligado; Aft. – ácido fúlvico total; AH – ácido húmico; AS - alcalino solúvel; H – humina

O conteúdo de COT ocorre em maiores proporções no sistema PD em relação ao sistema PC, no horizonte Ap, enquanto que nos demais horizontes não houve diferenças significativas entre os sistemas de plantio.

O solo sob mata apresenta maiores concentrações de COT somente no horizonte AP, quando comparado aos demais sistemas de produção, enquanto nos horizontes subjacentes não há muita diferença em relação ao conteúdo de carbono.

Pode-se verificar um efeito significativo do preparo do solo nos teores de COT na camada superficial, indicando menores teores de matéria orgânica para PC, conseqüência da intensa mineralização da matéria orgânica.

O sistema PD proporcionou, um aumento significativo com relação ao acúmulo de carbono apenas na camada superficial (horizonte Ap).

As concentrações de carbono mostram que o sistema de PD supera o sistema de PC, quando é considerado somente a camada superficial (horizonte Ap) do solo. Nas demais camadas (horizonte AB e BA), não houve diferença marcante.

O fracionamento da matéria orgânica. Com base nas características de solubilidade das frações humificadas mostrou domínio da fração humina – fração que está intimamente associada a fração mineral – em relação à contribuição das frações ácidos fúlvicos livres, ácidos fúlvicos “ligados” (complexados e ácidos húmicos nos horizontes do solo em si.

As maiores proporções de humina ocorrem no sistema de PD, enquanto que no PC as mesmas se mostraram quase que constantes ao longo dos horizontes.

Os ácidos fúlvicos livres aumentam em profundidade e se efetuam sempre no mesmo sentido. Pode-se então dizer que há uma dinâmica da matéria orgânica. Enquanto que as frações alcalino solúveis (ácido húmico e ácido fúlvico extraídos pelo pirofosfato e soda) permanecem quase que constantes nos dois sistemas de manejo.

O húmus dos horizontes subsuperficiais (AB e BA), é mais rico em ácidos fúlvicos livres que o húmus do horizonte superficial (Ap), evidenciando uma migração de frações orgânicas pouco polimerizadas da superfície para os demais horizontes subjacentes, em ambos os sistemas de PD e PC.

As frações alcalino-solúveis apresentam-se como constituídos por frações fracamente polimerizadas, onde a proporção de ácido fúlvico se mostra dominante.

De um modo geral, a humina encontra-se em maiores proporções nos horizontes Ap, sendo provável que nesta parte do perfil do solo ela seja constituída principalmente de humina herdada, que geralmente desaparece em profundidade, enquanto que as outras formas de humina – a de condensação e a residual – associadas à humina herdada no horizonte Ap permanece e torna-se predominante na humina nos horizontes subsuperficiais (horizontes AB e BA). Segundo Stevenson <sup>4</sup>, a maior riqueza em humina e a menor contribuição dos ácidos húmicos e fúlvicos sugerem a ocorrência de húmus pouco transformado, que tende a se acumular em condições desfavoráveis ao desenvolvimento de fungos basidiomicetos, responsáveis pela decomposição dos tecidos lignificados.

## Conclusões

As concentrações de COT mostram evidências promissoras como indicadores das mudanças causadas pelos sistemas de manejo e o fracionamento químico mostrou-se promissor na diferenciação das frações orgânicas do solo estudado.

A natureza da matéria orgânica do solo estudado é caracterizada pela presença significativa de matéria orgânica não humificada, baixa presença de ácidos húmicos e ácidos fúlvicos livres, domínio da fração ácido fúlvico “ligado” (complexado) na fração alcalina e domínio da fração humina em relação às demais frações húmicas.

Práticas agrícolas conservacionistas, como o plantio direto, tendem a aumentar a concentração de carbono orgânico na camada superficial do solo, quando comparadas com preparo convencional (aração e gradagem).

## Agradecimentos

À Empresa de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), pela oportunidade concedida para realização deste estudo e pelo apoio financeiro, em especial ao Centro Nacional de Pesquisa de Solos – Embrapa Solos e ao Centro Nacional de Pesquisa de Trigo – Embrapa Trigo.

Em especial ao pesquisador da Embrapa Trigo, Henrique Pereira dos Santos .

---

<sup>1</sup>Calegari, A. Plantas de cobertura/adubos verdes para formação de cobertura no sistema de plantio direto. *Guia para Plantio Direto*. Federação Brasileira de Plantio Direto na palha – FEBRAPDP. Julho de 2000.

<sup>2</sup>Kononova, M.M. *Soil organic matter*. 2 ed. New York, Pergaon Press, 1966.

<sup>3</sup>Post, W.M.; Peng, T.H.; Emanuel, W.R.; King, A.W.; Dale, V.H.; Dangelis, D.L. The global carbon cycle. *Am. Sci.*, v.78, p.310-326, 1990.

<sup>4</sup>Steverson, F.J. *Humus Chemistry: genesis, composition, reactions*. New York: J. Wiley, 1982. 443p.



## Correlação entre a acidez carboxílica e o grau de humificação de ácidos húmicos

Cleber H. Santos<sup>1\*</sup> (IC), Débora M. B. P. Milori<sup>1</sup>(PQ), Kelly M. Narimoto<sup>1,2\*</sup> (PG), Ladislau Martin-Neto<sup>1</sup> (PQ), Vanessa Z. Antonio<sup>1,3</sup> (IC), Helder V. A. Galeti<sup>1,3</sup>(PG), Wilson T. L. Silva<sup>1</sup> (PQ), Cimélio Bayer<sup>4</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, 1452, Cp. 741, CEP: 13560-970, São Carlos, SP.

<sup>2</sup>Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, Av. Trabalhador São Carlense, 400, Cp. 780, CEP:

13560-970, São Carlos, SP. <sup>3</sup>Universidade Federal de São Carlos, (UFSCAR), Departamento de Química, Rodovia

Washington Luís (SP-310), Km 235, CEP: 13565-905, São Carlos, SP. <sup>4</sup>UFRGS, Departamento de Solos, Cp 776, CEP:

90001-970, Porto Alegre, RS. \*e-mail: cleber@cnpdia.embrapa.br

Palavras Chave: Substâncias Húmicas, Acidez, Fluorescência.

### Introdução

A matéria orgânica do solo (MO) é constituída de uma mistura heterogênea de compostos em vários estágios de decomposição, resultantes da degradação biológica de resíduos de plantas e animais, e da atividade sintética de microorganismos.

A MO inclui todos os constituintes orgânicos do solo, inclusive plantas e tecidos de animais não decompostos, biomassa do solo e produtos de decomposição parcial (Stevenson, 1994). Os compostos presentes na MO do solo podem ser convenientemente agrupados em substâncias húmicas (SH) e não húmicas.

O grande interesse em se estudar as substâncias húmicas deve-se ao fato de que elas estão diretamente relacionadas com a fertilidade do solo, sendo de enorme importância para o aumento da produção de alimentos.

Segundo a Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas e a literatura internacional, classificam-se as substâncias húmicas com base na sua solubilidade, afirmando que podem ser divididas em três frações principais: ácido húmico (AH) que é solúvel em extrato alcalino mas precipita-se sobre acidificação, com sua coloração variando desde marrom escuro até preto; ácido fúlvico (AF) que é a fração que permanece em solução quando o extrato alcalino é acidificado e sua coloração varia desde amarelo até amarelo-marrom; e a humina que é a fração que não pode ser extraída dos solos e sedimentos por diluição básica ou ácida (Stevenson, 1994).

A dissociação de grupamentos funcionais ácidos presentes nas substâncias húmicas é a principal responsável pela capacidade de troca de cátions do solo. Cerca de 90% da acidez total das substâncias húmicas é devida aos grupamentos COOH e OH. Nos valores de pH normalmente encontrados no solo, não é possível dissociar OH fenólico, somente OH de grupamentos mais ácidos como as carboxilas (COOH). As carboxilas são, portanto, os grupamentos funcionais que governam a

polaridade, solubilidade e reatividade química dos ácidos húmicos (AH).

O método mais utilizado para a determinação de acidez de AH é o de Schnitzer e Gupta (1965), e é baseado em titulações potenciométricas. Por este método, observam-se duas reações distintas. Uma para determinação da acidez total e outra para acidez carboxílica. A acidez fenólica é obtida pela diferença entre a acidez carboxílica e total.

Pode-se utilizar as técnicas espectroscópicas para determinar o grau de humificação dos solos, as quais fornecem índices e informações importantes a respeito da estrutura das moléculas das substâncias húmicas. As técnicas mais utilizadas são Espectroscopia de fluorescência, Espectroscopia de absorção de ultravioleta-visível, Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Espectroscopia de infravermelho.

O objetivo deste trabalho foi o de correlacionar os métodos do acetato de cálcio e espectroscópicos para a determinação da acidez carboxílica em diferentes AH isolados de solo e correlacionar estes parâmetros com o grau de humificação de ácidos húmicos de solos.

A espectroscopia na região do infravermelho, com transformada de Fourier (FTIR), dos AH foi realizada na faixa de  $400\text{cm}^{-1}$  a  $4.000\text{cm}^{-1}$ , utilizando-se pastilhas com  $1,0\pm 0,1\text{mg}$  de AH em  $100,0\pm 0,1\text{mg}$  de KBr seco num espectrofotômetro Shimadzu (modelo FTIR-8300). Cada amostra de ácido húmico foi dissolvida em uma solução de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ )  $0,05\text{molL}^{-1}$  com concentração de 20ppm. Essa concentração foi utilizada para minimizar o efeito de reabsorção de fluorescência e reduzir interação entre moléculas. O pH final das soluções ficou em torno de 8,0. Após a preparação das soluções, os espectros de emissão de fluorescência, excitação, e varredura sincronizada foram medidos utilizando-se o espectrofotômetro de luminescência Perkin Elmer LS-50B. A abertura das fendas de entrada e de saída foi 10nm e a velocidade de aquisição foi de 500nm/min.

Os espectros de emissão foram medidos com excitação em 240nm e 465nm. O grau de humificação foi determinado através das metodologias propostas por Milori et al. (2002), Zsolnay et al. (1999) e Kalbitz et al. (1999).

As mesmas soluções que foram usadas na espectroscopia de fluorescência foram utilizadas na absorção de ultravioleta-visível, onde foi avaliada a razão  $E_4/E_6$  para respaldar a metodologia de infravermelho. Os dados foram obtidos com um espectrofotômetro de absorção de luz UV-Visível Shimadzu, modelo UV-1601PC.

Foram utilizadas 10 amostras do solo argissolo vermelho, divididas sobre dois sistemas de manejo: preparo convencional (PC) e plantio direto (PD). As amostras do tratamento de PC são do sistema de culturas A/M (aveia/milho) e as do tratamento de PD são do sistema A+V/M+C (aveia+ervilhaca/milho+caupi), ambas com aplicação de 180 kg/ha de N mineral na forma de uréia. As amostras foram coletadas em profundidades 0-2,5cm; 2,5-5cm; 5-7,5 cm; 7,5-12,5cm; 12,5-17,5cm). Amostras retiradas do mesmo solo sob campo nativo foram utilizadas como referência.

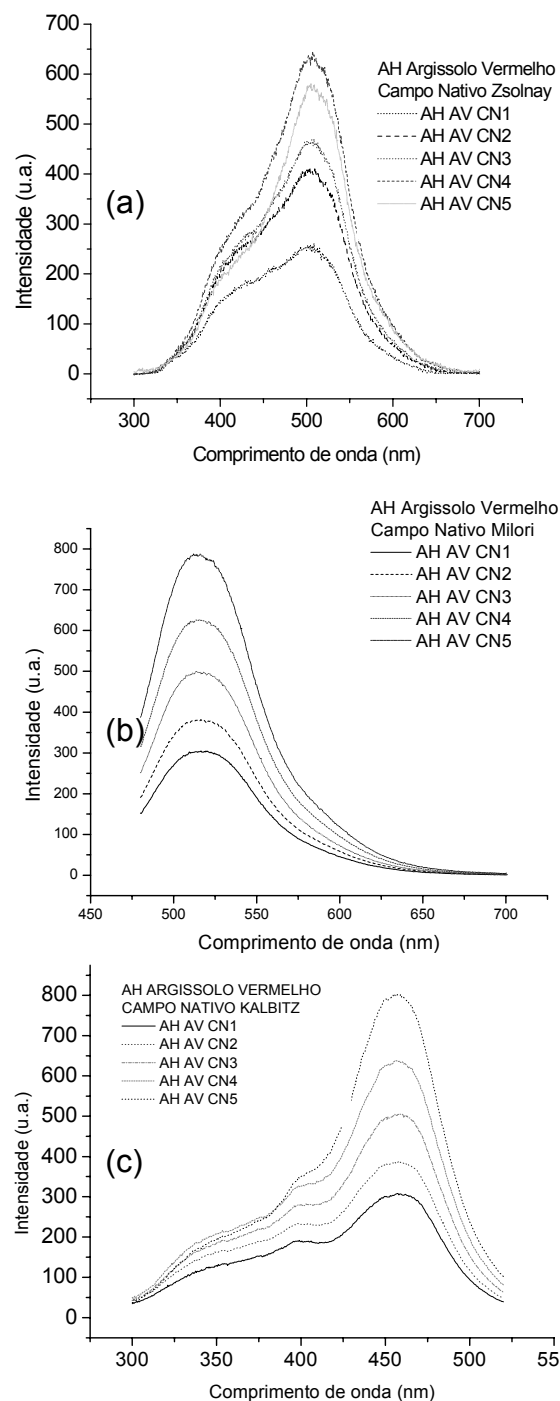
Todas as amostras de solos foram submetidas a um fracionamento químico das substâncias húmicas por diferença de solubilidade, seguindo a metodologia recomendada pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS).

## Resultados e Discussão

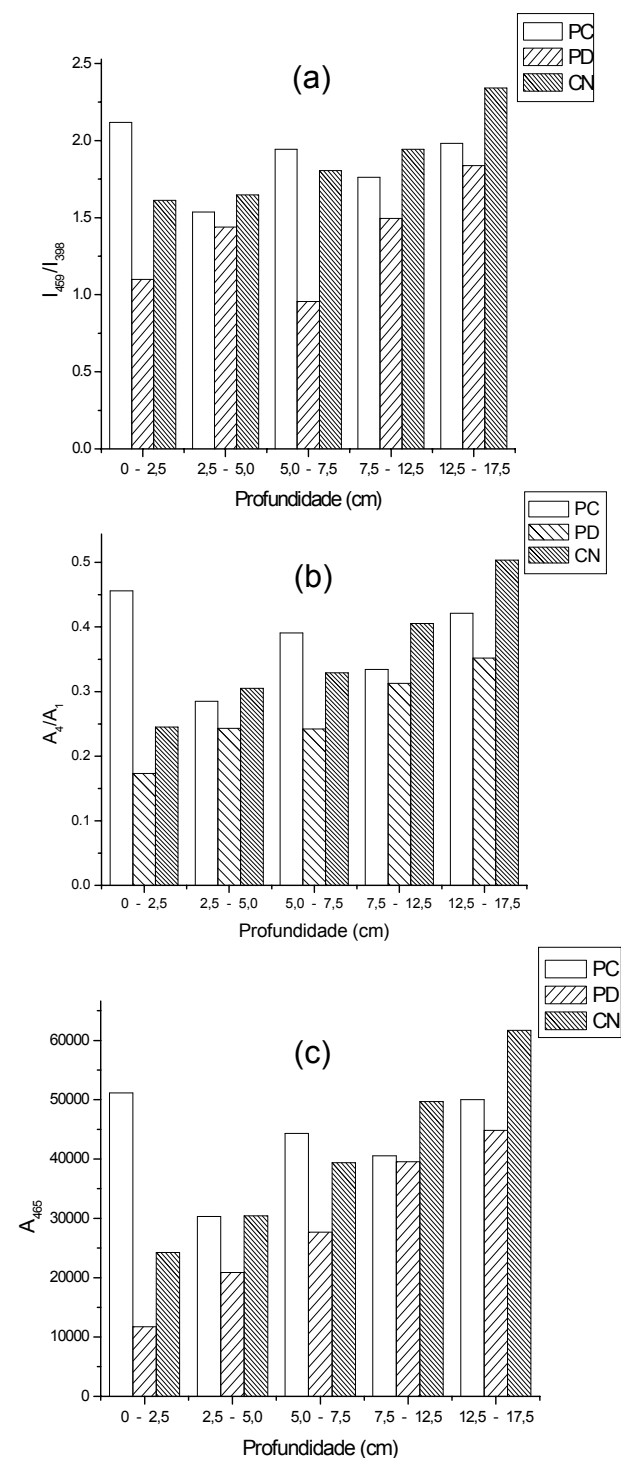
A análise espectroscópica dos AH permitiu a obtenção de índices de humificação pelas técnicas de fluorescência (utilizando as metodologias de Milori ( $A_{465}$ ), Zsolnay ( $A_4 / A_1$ ) e Kalbitz ( $I_{459}/I_{398}$ )).

Os espetros obtidos através da espectroscopia de fluorescência em solução estão representados na figura 1.

A figura 2 apresenta os resultados dos índices de humificação obtidos pelas técnicas de fluorescência (utilizando as metodologias de Milori ( $A_{465}$ ), Zsolnay ( $A_4/A_1$ ) e Kalbitz ( $I_{459}/I_{398}$ )) das amostras de solo de Argissolo Vermelho e seu comportamento em função da profundidade com relação à superfície.



**Figura 1:** Espectros de Fluorescência adquirido em modo de emissão com excitação em 240nm (a), em modo de emissão com excitação em 465nm (b) e em modo de varredura sincronizada com  $\Delta\lambda=55$ nm (c).

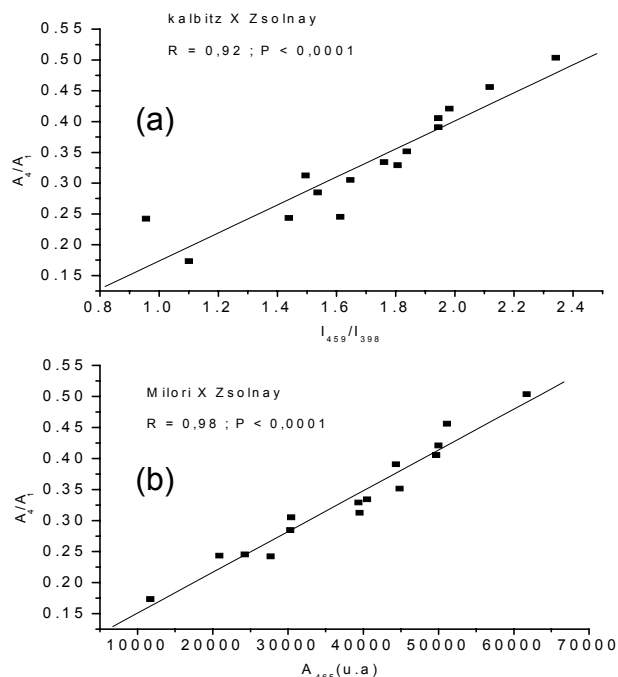


**Figura 2:** Grau de humificação de ácidos húmicos de Argissolo Vermelho sob diferentes sistemas de manejo avaliados a partir dos índices  $I_{459}/I_{298}$  (a),  $A_4/A_1$  (b) e  $A_{465}$  (c). PC=preparo convencional, PD=plantio direto, CN=campo nativo.

No Preparo convencional a aração e gradagem, acabam por homogeneizar a matéria orgânica em profundidade, o que pode ser também observado através das medidas espectroscópicas que revelam um comportamento quase uniforme sem grandes variações entre o grau de humificação na superfície e na camada mais profunda avaliada.

Tanto no processo de plantio direto como em campo nativo, observa-se um gradiente bem definido do grau de humificação com a profundidade.

Os índices de humificação para os ácidos húmicos extraídos do argissolo vermelho apresentaram excelentes correlações entre as metodologias. As correlações estão representadas na figura 3.



**Figura 3:** Correlação entre os valores dos índices  $I_{459}/I_{298}$  e  $A_4/A_1$  (a) e  $A_{465}$  e  $A_4/A_1$  (b) de amostras de ácidos húmicos de Argissolo Vermelho submetidos a diferentes sistemas de manejo.

Pela metodologia de Schnitzer e Gupta (1965), a determinação da acidez carboxílica é realizada com um sistema de filtração e titulação para a determinação da acidez carboxílica de ácidos húmicos sem a presença de  $N_2(g)$ , não exige maiores cuidados em sua execução, sendo facilmente reprodutível, mas para a determinação da acidez total não é muito reprodutível, exigindo assim maiores cuidados.

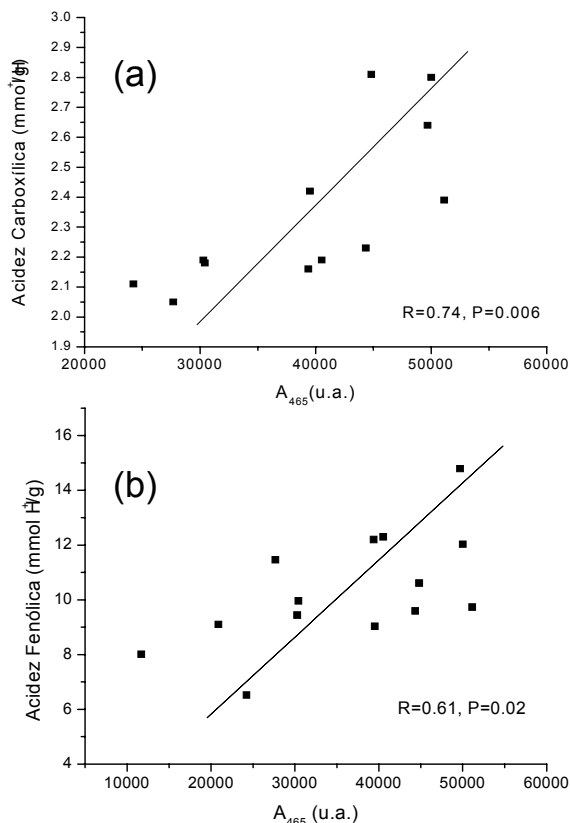
Um dos problemas encontrados nas medidas de acidez total de ácidos húmicos com a utilização do sistema sem  $N_2(g)$ , deve-se à formação de carbonato de bário ( $BaCO_3$ ), pela presença do  $CO_2$  do ar durante a filtração e titulação.

Para resolver este problema de formação de  $BaCO_3$  na determinação da acidez total, desenvolveu-se em um laboratório um sistema de filtração e titulação para a determinação da acidez de ácidos húmicos com  $N_2(g)$  (Prado A.G.S., et al., 1999), que apresentou uma excelente reprodutibilidade e exatidão dos resultados.

Obteve-se um coeficiente de correlação chamado de R, enquanto que P indica somente o quanto esse

coeficiente de correlação é significativo, e quanto for menor o valor de P, mais significativo será o R. Quanto mais próximo de um dos coeficientes de correlação estiverem, mais próximo do ideal estarão as correlações.

A figura 4 apresenta as correlações entre os valores de acidez carboxílica, fenólica e o índice de humificação de fluorescência de Milori ( $A_{465}$ ) das amostras de argissolo vermelho em diferentes manejos separados em: (a) Acidez Carboxílica e (b) Acidez Fenólica.



**Figura 4:** Correlação do grau de humificação e a acidez carboxílica (a) e fenólica (b) de ácidos húmicos extraídos de Argissolo Vermelho sob diferentes sistemas de manejo.

## Conclusões

Os sistemas de uso e manejo afetaram o grau de humificação da matéria orgânica do solo. O sistema de preparo convencional apresentou um grau de humificação da matéria orgânica mais elevado em todo perfil, enquanto menor grau de humificação e um gradiente com elevação do grau de humificação da superfície para camadas mais profundas foram observados no PD e Campo nativo. Houve uma boa concordância entre os três índices de humificação calculados a partir dos resultados obtidos por três diferentes técnicas.

O grau de humificação apresentou uma correlação significativa com a acidez carboxílica e fenólica dos ácidos húmicos.

As correlações entre os valores de acidez carboxílica e fenólica usando o sistema com  $N_2(g)$  e o índice de humificação de fluorescência de Milori ( $A_{465}$ ) foram razoáveis, mostrando uma aplicação satisfatória destas técnicas para avaliação da acidez de substâncias húmicas.

## Agradecimentos

Embrapa Instrumentação Agropecuária - São Carlos, SP.

Universidade Federal de São Carlos – São Carlos, SP.

<sup>1</sup>Kalbitz, K.; Geyer, W.; Geyer, S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances – a reflection of land use history in a fen area. *Biogeochemistry*, v. 47, p. 219-238, 1999.

<sup>2</sup>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* 2002.

<sup>3</sup>Prado, A. G. S.; Souza, S. M.; Silva, W. T. L.; Rezende, M. O. O.; *Química Nova*, 1996, 22, 894-896.

<sup>4</sup>Schnitzer, M & Gupta, U.C. Determination of Acidity in Soil Organic Matter. *Soil Science Society Proceedings*, Madison, v. 1, p. 274-277. 1965.

<sup>5</sup>Stevenson, F.J. *Humus chemistry: genesis, composition, reaction*. New York: Wiley Interscience, 443 p. 1994.

<sup>6</sup>Zsolnay, A., E. Baigar, M. Jimenez, B. Steinweg, and F. Saccomandi, 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* 38:45-50.

## Estudo da fração recalcitrante da matéria orgânica em área degradada pela extração de argila revegetada com *Acacia mangium* Willd

Jolimar Antonio Schiavo\*<sup>1</sup>(PQ), Luciano Pasqualoto Canellas<sup>2</sup>(PQ), Marco Antonio Martins<sup>2</sup>(PQ), Carlos Roberto Ribeiro Matos<sup>2</sup>(PQ)

<sup>1</sup>UEMS-Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul. Rodovia Aquidauana, KM 12, CEP:79200-000, Aquidauana/MS.

<sup>2</sup>UENF-Universidade Estadual do Norte Fluminense. Av. Alberto Lamego, 2000, Campos dos Goytacazes/RJ, CEP: 28013-600. e-mail :schiavo@uems.br.

Palavras Chave: Humina, Leguminosas, Espectrometria de massa.

### Introdução

De modo geral, as substâncias húmicas são divididas em três categorias: os ácidos fúlvicos, solúveis tanto em meio ácido como básico; os ácidos húmicos, insolúveis em meio fortemente ácido e as huminas que representam a matéria orgânica intimamente ligada à fração mineral do solo e considerada insolúvel em meio aquoso em qualquer valor de pH [14]. O termo humina normalmente refere-se à fração orgânica insolúvel remanescente após a extração dos ácidos húmicos e fúlvicos. Há quase um consenso em considerar a fração humina como não reativa ou com seus sítios de reação bloqueados pela interação com a fração mineral do solo [15]. No entanto, assume um papel central no destino de poluentes orgânicos (pesticidas, herbicidas, hidrocarbonetos poliaromáticos, clorados) e na biodisponibilidade de nutrientes [3]. Além disso, sua suposta natureza inerte, não corresponde às rápidas mudanças observadas no seu conteúdo em experimentos de curta [5, 16] ou longa duração [6]. A limitação metodológica para remoção da humina do solo é a principal responsável pelo reduzido número de investigações a respeito da origem e constituição química desses compostos húmicos insolúveis. No entanto, com a utilização do metanol trifluorato de boro é possível a remoção gradativa de constituintes presentes na humina, possibilitando o diagnóstico molecular e identificação dos mesmos [2]. Grande parte dos trabalhos sobre a natureza química da humina indica que a sua composição é similar a das outras frações humificadas do solo permanecendo insolúvel devido à elevada proporção de resíduos de plantas pouco decomposto, presença de material humificado de elevada massa molecular e a forte associação com a fração mineral do solo [2, 13]. Leguminosas arbóreas como a *Acacia mangium* têm apresentado elevado potencial de produção de serapilheira, depositando sobre o solo 9 Mg ha<sup>-1</sup> por ano [1]. A decomposição da serapilheira dessas espécies pode provocar alterações no conteúdo das substâncias húmicas do solo. [16], observaram rápidas variações no conteúdo de humina em substrato de áreas de mineração de argila

revegetadas com *Acacia mangium*. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar a natureza química dos compostos da humina extraída do substrato de área degradada pela extração de argila, revegetada com *Acacia mangium* Willd.

### Material e Métodos

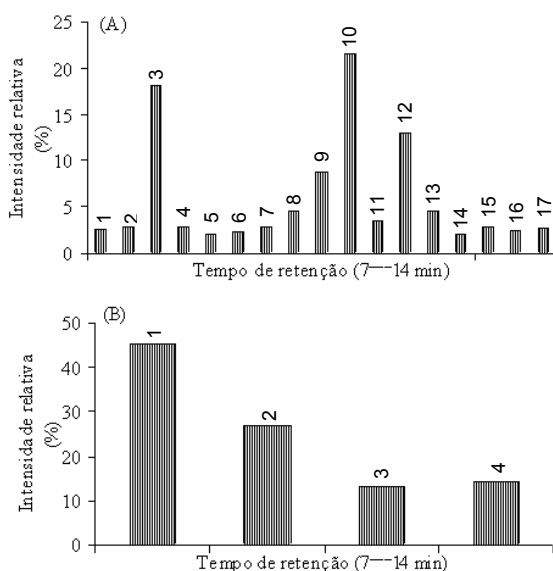
O trabalho foi realizado numa cava de extração de argila pertencente à cerâmica Stilbe, localizada no distrito de Poço Gordo, Município dos Campos dos Goytacazes, RJ, revegetada há 4 anos com a leguminosa arbórea *Acacia mangium* Willd. Como controle foi utilizada uma área dentro da cava sem o plantio da leguminosa e com vegetação espontânea de *Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf. Nas duas áreas foram coletadas dez amostras simples de solo na profundidade de 0,00-0,10 m, que constituíram as amostras compostas para a realização das análises. Após a coleta, as amostras foram secas e peneiradas (2 mm), constituindo a terra fina seca ao ar (TFSA). O fracionamento da matéria orgânica foi realizado a partir da simplificação do método de Belchikova-Kononova descrito em detalhes em [9]. Resumidamente, as amostras de TFSA sofreram pré-tratamento com ácido ortofosfórico 2 mol L<sup>-1</sup>, que separou por densidade a fração leve e solubilizou a fração ácidos fúlvicos livres. Em seqüência sobre a amostra de TFSA foi colocada a mistura extratora de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> + Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>, na proporção 1:10 (v/v), que solubilizou os ácidos fúlvicos e os ácidos húmicos. O resíduo sólido insolúvel resultante do processo de fracionamento foi denominado de humina. A extração e purificação da humina foram realizadas de acordo com metodologia descrita em detalhes por [2]. Resumidamente, o resíduo com humina foi lavado com água destilada e suspenso em líquido de densidade 1,8 g cm<sup>-3</sup> (NaI) e submetido à agitação. A fração herdada da humina foi recuperada por filtração após centrifugação. A purificação foi realizada com uma mistura (1:1) de HCl e HF 1% durante uma noite à temperatura ambiente, para posterior extração com metanol e tricloro metano (CH<sub>3</sub>OH, CHCl<sub>3</sub>). Após purificação, a humina foi submetida a transesterificação com metanol trifluorato de boro (BF<sub>3</sub>-MeOH). Em balão com rolha rosqueada foram adicionados 200 mg de



amostra de H e 10 ml de  $\text{BF}_3\text{-MeOH}$  20 %. O complexo foi aquecido a  $90^\circ\text{C}$  durante 12 horas, livre de  $\text{N}_2$ , coletando-se o sobrenadante. Após cinco repetições do processo, o sobrenadante foi centrifugado a 2000 rpm por 3 minutos. O sobrenadante foi coletado e a fase aquosa separada da orgânica através da extração líquido-líquido com  $\text{CHCl}_3$ . A fase orgânica foi tratada com  $\text{KOH}$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  para obtenção das subfrações alifáticas e aromáticas de acordo com [10]. A subfração aromática foi acidificada e extraída com éter etílico. Ambas subfrações (alifáticas e aromáticas) foram concentradas, desidratadas com  $\text{NaSO}_4$  e evaporadas para posterior análise de cromatografia gasosa (Shimadzu GC-17A) combinada com a espectrometria de massa (Shimadzu GC-MS-qp5050A). A identificação dos picos cromatográficos e dos compostos presentes foi realizada através de comparações com espectros de compostos conhecidos (tempo de retenção) e por similaridade com a biblioteca matriz Nist.

## Resultados e Discussão

Nas Figuras 1 e 2 são apresentadas as intensidades relativas de cada pico do cromatograma, e nas Tabelas 1 e 2 os prováveis compostos orgânicos, com suas respectivas composições elementares, obtidos das subfrações alifáticas e aromáticas nas duas coberturas da cava de extração de argila.



**Figura 1.** Porcentagem relativa dos compostos orgânicos da sub fração alifática presentes na humina extraída de solo degradado pela extração de argila, revegetado com *Acacia mangium* Willd (A) e com vegetação espontânea [*Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf] (B). Os números nas barras dos gráficos referem-se aos picos correspondentes dos cromatogramas. O tempo de retenção de cada pico é dado na Tabela 1.

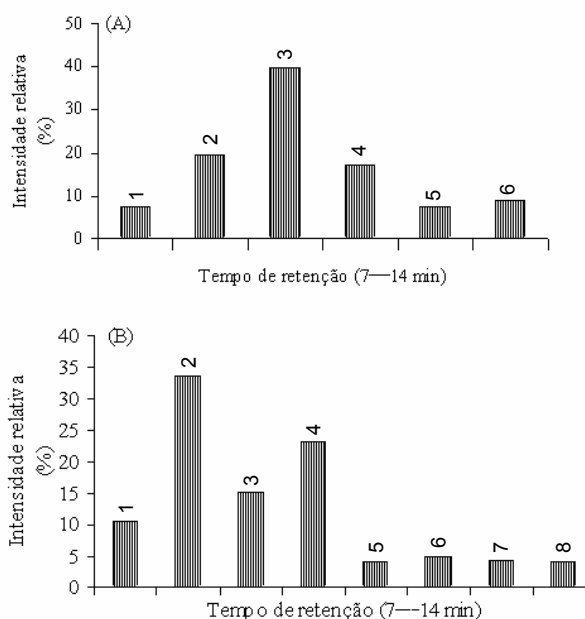
**Tabela 1.** Compostos orgânicos da sub fração alifática presentes na humina extraída de solo degradado pela extração de argila, revegetado com *Acacia mangium* Willd e com vegetação espontânea [*Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf].

<i>Acacia mangium</i> Willd			
NP	TR	CP	CPS
1	7,56	Nonadecanoato de metila	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$
2	8,25	14-metilpentadecanoato de metila	$\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$
3	8,51	Hexadecanoato de metila	$\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$
4	8,78	12-metiltetradecanoato de metila	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}$
5	8,91	15-metilexadecanoato de metila	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$
6	9,16	15-metilexadecanoato de metila	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$
7	9,35	2-hidroxidodecanoato de metila	$\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{O}$
8	9,65	Octadecanoato de metila	$\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_2$
9	9,77	Octadecanoato de metila	$\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_2$
10	10,21	Heptadecano	$\text{C}_{17}\text{H}_{36}$
11	10,29	11-ciclopentilundecanoato de metila	$\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{O}_2$
12	10,55	2-Hidroxidodecanoato de metila	$\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{O}_3$
13	10,93	Eicosanoato de metila	$\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{O}_2$
14	11,83	Heptafluorobutanoato de pentadecila	$\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{F}_7\text{O}_2$
15	12,00	Docosanoato de metila	$\text{C}_{23}\text{H}_{46}\text{O}_2$
16	12,16	1,2 Benzenodioato de ditridecila	$\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{O}_4$
17	13,21	Tetracosanoato de metila	$\text{C}_{25}\text{H}_{50}\text{O}_2$
<i>Brachiaria mutica</i> (Forsk.) Stapf			
1	8,49	14-metilpentadecanoato de metila	$\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$
2	9,76	Nonadecanoato de metila	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$
3	10,54	7-cicloexiltridecano	$\text{C}_{39}\text{H}_{78}$
4	12,16	Ftalato de dinocila	$\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_4$

NP= N<sup>o</sup> do pico; TR= tempo de retenção (Min); CP= composto; CPS= composição.

Na subfração alifática sob a cobertura com acácia os picos 3, 9, 10 e 12 apresentaram a maior intensidade relativa (Figura 1A), sendo identificados como ésteres de ácidos graxos de cadeia relativamente longa com um padrão de distribuição com predominância de compostos de  $\text{C}_{16}$  até  $\text{C}_{24}$  como hexadecanoato de metila (3), octadecanoato de metila (9) de origem predominantemente vegetal e alcanos como heptadecano (10) e 2-hidroxidodecanoato de metila (12) (Tabela 1). Os n-alcanos com maior número de carbonos na estrutura são tipicamente provenientes de produtos de plantas [11]. Na cobertura com braquiaria também os ésteres metílicos de ácidos graxos de origem vegetal foram predominantes, porém com uma intensidade relativa maior de 14-metilpentadecanoato de metila (1) e nonadecanoato de metila (2) (Tabela 1).

Na subfração aromática na cobertura da acácia os picos de maior intensidade foram 2, 3 e 4 (Figura 2A), sendo os compostos identificados em 14-metilpentadecanoato de metila (2), 1,2-benzenodioato de 2-etilexila e butila (3) e nonadecanoato de metila (4), respectivamente (Tabela 2). De maneira, semelhante, na cobertura com braquiaria os picos 2, 3 e 4 apresentaram maior intensidade (Figura 2B), obtendo-se os mesmos compostos, exceto para o pico 4 que foi identificado como octadecanoato de metila (4) (Tabela 2). [2], trabalhando com humina extraída de três solos diferentes, verificaram que da amostra enriquecida com humina, apenas 6% a 8% foi solúvel em  $\text{CH}_3\text{Cl}_3$ , apresentando a mesma proporção das subfrações alifáticas e aromáticas. Esses mesmos autores observaram grande variedade de compostos orgânicos extraídos da humina proveniente dos três solos, onde o ácido benzenocarboxílico dimetoxi foi o mais abundante na subfração aromática, e o ácido graxo mono e dienóico na subfração alifática. No presente trabalho, a porcentagem de material extraído da amostra enriquecida com humina foi de aproximadamente 20%. Essa maior porcentagem pode ser justificável, uma vez que em condições tropicais o processo de adição de material ao solo é maior, bem como sua decomposição e humificação são mais intensas, onde a fração humina representa 70% das frações humificadas da matéria orgânica do solo [4]. Foi constatada a presença abundante de ésteres de ácidos graxos nos compostos obtidos da humina (Tabelas 1 e 2). Nas huminas isoladas da área com cobertura com acácia, além da diversidade maior de compostos na fração subalifática, foi observada a presença de n-alcenos de cadeia curta típico do metabolismo de microrganismos. Na fração alifática da humina obtida da área de gramíneas, observou-se predomínio de composto com cadeias carbônicas mais numerosas típicos de resíduos vegetais alifáticos como produtos da decomposição parcial da cutina e da suberina. De uma forma geral, é possível indicar que o maior aporte de serapilheira na área de cava com acácia e o maior conteúdo de N nesse material proveniente da fixação biológica de nitrogênio permite uma atividade biológica mais intensa. A incorporação de unidades alifáticas mais variadas nessa humina é um reflexo direto dessa atividade maior. Independente da cobertura da cava, a presença de compostos de cadeias longas, principalmente na subfração alifática, podem estar relacionados, como observado por [2], a polímeros típicos encontrados em plantas superiores como cutina e suberina. Por outro lado, com a ação microbiológica sobre os resíduos mais resistentes das plantas, compostos como ésteres podem ser incorporados promovendo transformação do material da humina.



**Figura 2.** Porcentagem relativa dos compostos orgânicos da sub fração aromática presentes na humina extraída de solo degradado pela extração de argila, revegetado com *Acacia mangium* Willd (A) e com vegetação espontânea [*Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf] (B). Os números nas barras dos gráficos referem-se aos picos correspondentes dos cromatogramas. O tempo de retenção de cada pico é dado na Tabela 2.

**Tabela 2.** Compostos orgânicos da sub fração aromática presentes na humina extraída de solo degradado pela extração de argila, revegetado com *Acacia mangium* Willd e com vegetação espontânea [*Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf].

<i>Acacia mangium</i> Willd			
NP	TR	CP	CPS
1	5,6	Benzenodioato de dimetila	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$
2	8,49	14-metilpentadecanoato de metila	$\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$
3	8,80	1,2-benzenodioato de 2-etilexila e butila	$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_4$
4	9,76	Nonadecanoato de metila	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$
5	11,32	Cicloexanol	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$
6	12,15	1,2-benzenodioato de diisooctila	$\text{C}_{38}\text{H}_{74}\text{O}_3$
<i>Brachiaria mutica</i> (Forsk.) Stapf			
1	5,62	2,6-di-tert-butil-4-metilfenil metilcarbamato	$\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_3$
2	8,50	14-metilpentadecanoato de metila	$\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$
3	8,80	1,2-benzenodioato de 2-etilexila e butila	$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_4$
4	9,77	Octadecanoato de metila	$\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_2$
5	9,88	Octadecanoato de metila	$\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_2$
6	11,32	Cicloexanol	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$
7	11,84	Cicloexanol	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$
8	12,38	Octadecanoato de 2-hexadecanoiloxi-1-tetradecanoiloximetil	$\text{C}_{50}\text{H}_{102}$

NP= N° do pico; TR= tempo de retenção (Min); CP= composto; CPS= composição.

Ainda, devido a diferentes tipos de resíduos de plantas, ao complexo processo de origem e diagênese da fração do húmus do solo e às reações de proteção física da humina com as argilas minerais contra o ataque microbiano é compreensivo a preservação na fração recalcitrante da matéria orgânica do solo de compostos como cutina e suberina. Frequentemente, os polifenóis presentes na serapilheira são correlacionados negativamente com a velocidade de decomposição, considerando a capacidade de tal grupo de substâncias se complexarem com as formas de N, tornando este elemento menos disponível para a comunidade decompositora [7]. Dentre os fatores relacionados com a qualidade química da serapilheira, a concentração e polifenóis acima de 40 g kg<sup>-1</sup> é considerada capaz de limitar a decomposição [12], na qual estão incluídas folhas e estruturas reprodutivas da acácia [8]. Dessa maneira, mesmo com elevado teor de polifenóis no material formador da serapilheira sob cobertura com acácia, a fração mais recalcitrante da matéria orgânica do solo sofreu alterações, apresentando maior diversidade de compostos alifáticos, que provavelmente são devidos às características químicas dos resíduos da leguminosa. Nesse trabalho foi verificado que a composição da fração humina é modificada pela alteração da cobertura da cava, mas a sua natureza química é essencialmente preservada, isto é, com acúmulo de ésteres metílicos de ácidos graxos e n-alcanos na fração subalifática e ácidos graxos e ácidos benzocarboxílicos na fração subaromática.

## Conclusões

A presença da leguminosa arbórea *Acacia mangium* proporcionou mudanças na composição química da fração mais recalcitrante (humina) das substâncias húmicas extraídas da cava de extração de argila com abundância relativa de compostos alifáticos muito maior do que compostos extraídos da sub-fração aromática. De modo geral, os compostos orgânicos obtidos da fração humina apresentaram elevada quantidade de ésteres metílicos de ácidos graxos.

## Agradecimentos

Ao técnico Wallace, do LCQUI/CCT, pelo auxílio na realização das análises deste trabalho.

## Referências bibliográficas

- <sup>1</sup>Andrade, A.G.; Costa, G.S. e Faria, S.M. R. Bras. Ci. Do Solo.2000, 24: 777-785.
- <sup>2</sup>Almendros, G. e SANZ, J. Soil Biol. Biochem. 1991, 24:1147-1154.
- <sup>3</sup>Alvarez-Puebla, R.A.; Valenzuela-Calahorra, C. e Garrido, J.J. Journal of Colloid and Interface Science.2004, 277: 55-61.
- <sup>4</sup>Andreux, F. In: Piccolo, A. Amsterdam, Elsevier. 1996, p.45-100.
- <sup>5</sup>Canellas, L.P.; Velloso, A.C.X.; Marciano, C.R.; Ramalho, J.F.G.P.; Rumjanek, C.M.; Rezende, C.E. e Santos, G.A. R. Bras. Ci. Solo. 2003. 27: 935-944.
- <sup>6</sup>Canellas, L.P.; Espindola, J.A.A.; Rezende, C.E.; De Camargo, P.B.; Zandonadi, D.B.; Rumjanek, V.M.; Guerra, J.G.M.; Teixeira, M.G. e Braz-Filho, R. Sci. Agric. 2004. 61:53-61.
- <sup>7</sup>Constantinides, M. e Fownes, J.H. Soil Biochem. 1994. 29:49-55.
- <sup>8</sup>Costa, G.S.; Franco, A.A.; Damasceno, R.N. e FARIA, S.M. R. Bras. Ci. Solo. 2004. 28:919-927.
- <sup>9</sup>Guerra, J.G.M. e Santos, G.A. In: Santos, G.A. e Camargo, F.A.O. 1999, p. 267-291.
- <sup>10</sup>Kolattukudy, P.E.; Kronman, K. e Poulouse, A.J. Plant Physiology. 1975. 55:567-573.
- <sup>11</sup>Nierop, K.G.J. Organic Geochemistry. 1998. 29:1009-1016.
- <sup>12</sup>Palm, C.A.; Gachengo, C.N.; Delve, R.J.; Cadish, G. e Giller, K.E. Agric. Ecosys. Environ. 2001. 83:27-42.
- <sup>13</sup>Preston, C.M. e Newman, R.H. Can. J. Soil Sci. 1992. 72: 13-19.
- <sup>14</sup>Rice, J.A. Soil Science. 2001. 166: 848-857.
- <sup>15</sup>Santos, G.A. e Camargo, F.A.O. Brasil, Porto Alegre, 1999. 508p.
- <sup>16</sup>Schiavo, J.A. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). 2005. 114p.

## Frações húmicas num solo sob sucessão vegetal

Marcus Vinicius Loss Sperandio <sup>1\*</sup> (IC), Wallace Luís de Lima <sup>2</sup> (PG), Thiago Picinatti Raposo <sup>3</sup> (EA), Natália Pereira Zatorre <sup>1</sup> (IC), Sonia Regina de Souza <sup>4</sup> (PQ), Ricardo Luis Louro Berbara <sup>5</sup> (PQ), Gabriel de Araújo Santos <sup>5</sup> (PQ)

<sup>1</sup> Estudante de Agronomia UFRuralRJ; <sup>2</sup> Pós-Graduando do CPGA-CS/UFRuralRJ; <sup>3</sup> Engenheiro Agrônomo;

<sup>4</sup> Prof<sup>a</sup>. Dep. Química/UFRuralRJ; <sup>5</sup> Prof. Dep. Solos/UFRuralRJ; \*e-mail: loss2004@hotmail.com

Palavras Chave: Áreas degradadas, resiliência e substâncias húmicas.

### Introdução

A exploração intensiva e inadequada das áreas agricultáveis pela ação antrópica tem contribuído para um declínio considerável da fertilidade natural dos solos acelerando o processo de degradação da matéria orgânica, causando perdas de algumas propriedades físicas, químicas e biológicas<sup>(1)</sup>, acarretando a erosão e efeitos no desenvolvimento das culturas<sup>(2)</sup>, as quais são dependentes do ambiente e do manejo adotado<sup>(3)</sup>. A interação destes fatores estabelece uma nova concepção de equilíbrio no sistema solo.

O estudo de substâncias húmicas (SH), considerando suas propriedades físico-químicas e suas relações com a fração mineral, além de permitir o melhor entendimento dos processos de aumento e manutenção do estoque de carbono no solo viabiliza a produção agrícola de forma sustentável.

A dinâmica da matéria orgânica do solo é profundamente alterada após uma intervenção antrópica, pois estes efeitos modificam tanto a entrada e qualidade da matéria orgânica como a taxa de sua decomposição, interferindo na resiliência do ecossistema.

Como reação a este processo cresce cada vez mais a necessidade da utilização de práticas de manejo menos agressivas e que apontem para cenários onde o solo passe a contribuir para o seqüestro de carbono<sup>(3)</sup>.

O conteúdo relativo de cada fração da matéria orgânica é um indicativo da qualidade do húmus do solo<sup>(4)</sup>. Portanto, é fundamental a quantificação das frações que compõem a matéria orgânica para a compreensão dos processos pedogenéticos que refletem ou induzem as suas propriedades.

O objetivo deste trabalho foi o de quantificar os teores das três principais frações solúveis da matéria orgânica, a fim de estudar a sua dinâmica caracterizando a sua evolução em uma área sob recuperação vegetal, em diferentes estágios de desenvolvimento (pastagem, ecótono e mata) em três profundidades distintas (0-5, 5-10 e 10-20cm).

### Material e Métodos

O experimento foi conduzido na área experimental da Floresta Nacional Mário Xavier (FLONA), localizada no estado do Rio de Janeiro, no município de Seropédica, na interseção das rodovias Presidente Dutra (BR 116) e a Antiga Rio-São Paulo (BR 465). Situada nos paralelos 22°42' e 22°45' de latitude sul e pelos meridianos 43°41' e 43°44' de longitude a oeste de Greenwich, numa extensa planície conhecida como baixada de Sepetiba, próxima à área de contato entre a planície litorânea e os planaltos do interior.

A área amostral (FLONA) é constituída de três ecossistemas distintos, sendo eles: pastagem degradada (descampado), ecótono (área de transição) e mata secundária (floresta heterogênea), onde predominam três sinusias distintas, sendo elas a herbácea, a arbustiva e a arbórea, respectivamente. Esta área está situada sobre terraços aluvionares, e os solos predominantes são os Planossolos.

O delineamento amostral foi o inteiramente casualizado (DIC) e foram coletadas seis amostras de solo em cada ecossistema, em três profundidades distintas (0-5, 5-10 e 10-20cm), sendo aberta uma pequena trincheira, obtendo-se dezoito amostras por área, totalizando cinquenta e quatro amostras.

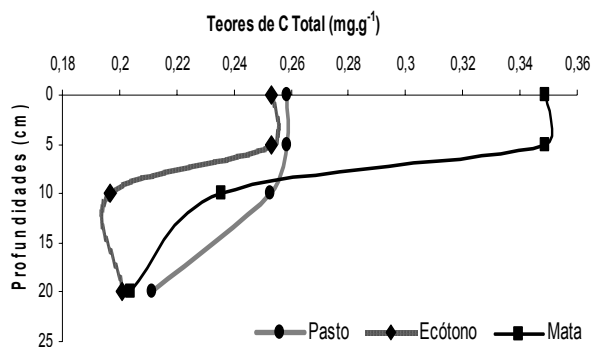
As frações solúveis foram extraídas conforme procedimento simplificado para extração e fracionamento da matéria orgânica<sup>(5)</sup>. As amostras de terra foram destorroadas e uniformizadas para posterior pesagem e centrifugação.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo software estatístico Sisvar<sup>(6)</sup>, e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

### Resultados e Discussão

A figura 1 apresenta os valores referentes aos teores de matéria orgânica (carbono total) nas diferentes áreas e profundidades. O maior acúmulo de carbono total (C total) na superfície do ecossistema mata deve-se a maior deposição de matéria orgânica de difícil decomposição como, por exemplo, galhos e troncos. Entretanto, em profundidade, encontra-se valores decrescentes,

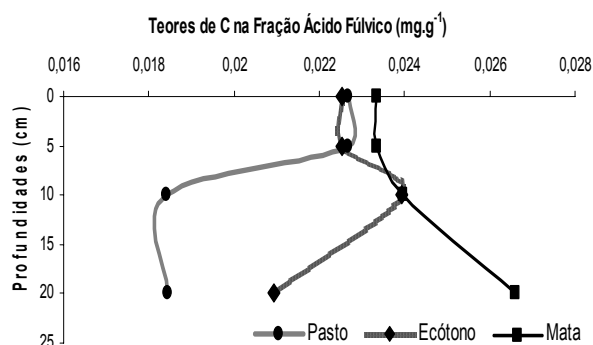
conforme esperado, o que pode ser explicado pela baixa taxa de renovação e ensidade do sistema radicular. O ecossistema pastagem apresenta maiores valores de C total em todas as profundidades quando comparado com o ecótono, devido a alta taxa de deposição de C via matéria orgânica, e alta ciclagem tanto da parte aérea quanto do sistema radicular das plantas que predominam nesta área (gramíneas).



**Figura 1.** Distribuição dos teores de carbono total (C) nos diferentes ecossistemas e nas diferentes profundidades (0-5, 5-10 e 10-20).

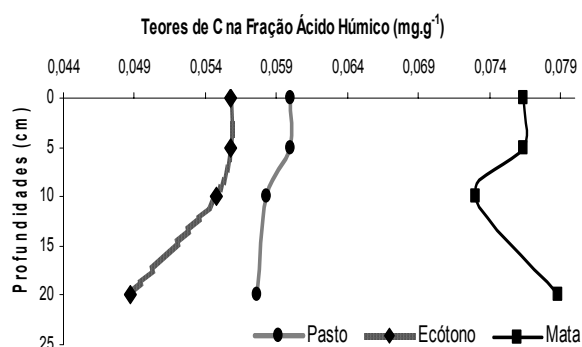
Os principais problemas de degradação das pastagens são ocasionados principalmente pelas queimadas e pastoreio intenso. As queimadas normalmente iniciam-se nas propriedades adjacentes aos fragmentos da reserva (FLONA), sendo esta uma prática comum entre os pecuaristas da região, para a renovação das pastagens, ocasionando a rápida degradação da matéria orgânica presente na superfície do solo (serrapilheira). Esta prática de manejo pode explicar os baixos valores de C total na superfície do solo neste ecossistema.

Os teores de ácido fúlvico (AF) no ecossistema pastagem apresentou valores próximos nos primeiros centímetros (figura 2). Os valores de AF encontrados para a pastagem apresentaram uma brusca diminuição aos 10 cm e mantendo-se quase constante até os 20 cm. Provavelmente pode ser em decorrência das gramíneas apresentarem um sistema radicular pouco profundo neste solo. Como a fração AF é a menos instável dentre as três frações da matéria orgânica estudadas, esta se acumula onde a deposição matéria orgânica fresca é mais intensa. O ecótono apresentou valores mais estáveis em profundidade provavelmente devido a este ecossistema apresentar predomínio de plantas com sistema radicular mais profundo havendo um maior carreamento de matéria orgânica ao longo do perfil. O ecossistema mata apresentou um maior acúmulo da fração AF em todas as profundidades em relação aos demais, provavelmente devido ao alto volume de biomassa vegetal aportado.



**Figura 2.** Distribuição dos teores de carbono na fração ácido fúlvico (AF) nos diferentes ecossistemas e nas diferentes profundidades (0-5, 5-10 e 10-20).

Com relação aos teores da fração ácido húmico (AH), o ecossistema pastagem apresentou valores com pouca variação em profundidade como também para os valores encontrados no ecossistema ecótono. Neste, observou-se os menores valores em todas as camadas estudadas quando comparado com os demais ecossistemas. Para o ecossistema mata a distribuição da fração AH em profundidade comportou-se inversamente ao ecótono (figura 3). O formato irregular das curvas, em zigue-zague, formando oscilações no decorrer do perfil, deve-se ao fato de o solo ser, provavelmente, um Planossolo com horizonte de eluviação, onde os teores de carbono são menores e aumentam em profundidade no ecossistema mata, encontrando uma barreira no horizonte B, bastante argiloso (Fragipan). Para os demais ecossistemas não há um acúmulo da fração AH em superfície, provavelmente devido ao alto grau de degradação do horizonte superficial, impossibilitando o acúmulo desta fração.

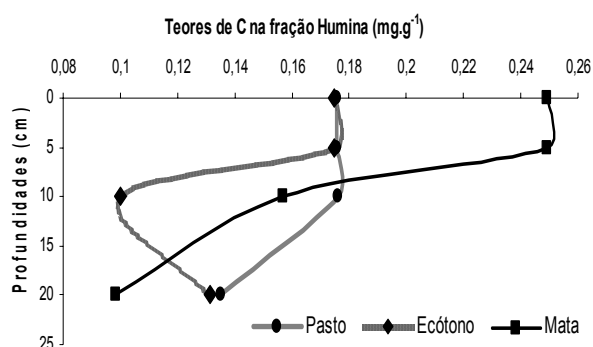


**Figura 3.** Distribuição dos teores de carbono na fração ácido húmico (AH) nos diferentes ecossistemas e nas diferentes profundidades (0-5, 5-10 e 10-20).

Para os valores da fração húmica todos os ecossistemas apresentam maiores valores, para esta fração. Na camada superficial do solo e com o aumento da profundidade, estes valores foram



decrecendo, exceto para o ecossistema ecótono, que na profundidade 20 cm apresentou aumento, sendo as oscilações desta fração (figura 4) semelhantes aos da figura 1. Provavelmente isto se deve ao fato dos valores de humina serem os maiores em todos os ecossistemas e em todas as profundidades, pois esta fração sendo a mais estável ela seja de difícil degradação, principalmente no ecossistema pasto onde as queimadas são mais freqüentes.



**Figura 4.** Distribuição dos teores de carbono na fração humina (H) nos diferentes ecossistemas e nas diferentes profundidades (0-5, 5-10 e 10-20).

As percentagens de humina, encontradas na profundidade 20cm, foram maiores nos ecossistemas de pastagem e ecótono sendo eles 64% e 65% do total encontrado, respectivamente, enquanto que no ecossistema mata, a menor porcentagem, ficou em torno de 48%. Em relação ao AH os valores das percentagens foram semelhantes para os três ecossistemas. E as percentagens encontradas para o AF repetiram o comportamento do AH.

Em relação à profundidade 10cm, os valores de humina foram maiores nos ecossistemas pastagem e mata sendo estas de 70% e 67%, respectivamente, e menor no ecossistema ecótono. Para o AH os valores ficaram semelhantes, repetindo o mesmo comportamento da profundidade 20cm, o mesmo acontecendo com a fração AF.

Portanto, pode-se observar que a fração da MOS encontrada em maior quantidade nos três ecossistemas é a fração humina, o que pode ser decorrente da relativa estabilidade das áreas estudadas. Estudos realizados em pastagens cultivadas no Pantanal Sul-Matogrossense<sup>7</sup> foram encontrado resultados semelhantes, confirmando assim os resultados obtidos neste trabalho.

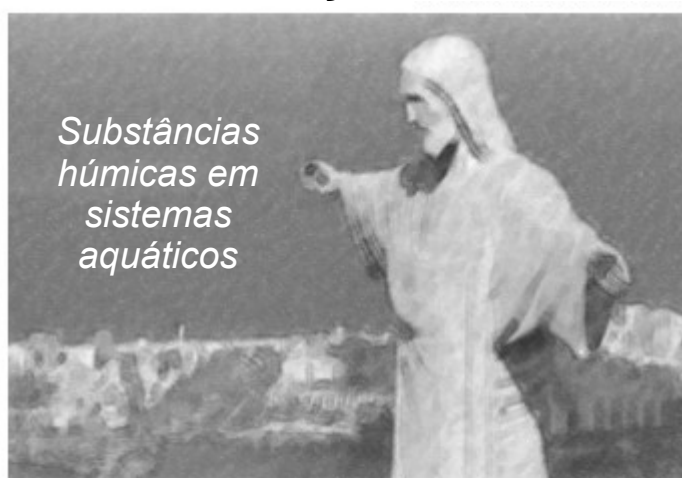
## Conclusões

Pelos dados obtidos observamos que dependendo da cobertura vegetal, a distribuição do C total e suas frações variam significativamente ao longo do perfil do solo sendo a fração de ácido húmico a que melhor se associou a ecossistemas submetidos a menores perturbações. Desta forma, a utilização das frações orgânicas do solo bem como do C total, mostrou-se como um adequado indicador químico de qualidade da cobertura solo.

## Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Mielniczuk, J. Matéria orgânica e a sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: Santos, G. A. & Camargo, F. A. O. (Eds.). Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo: Ecossistemas Tropicais e Subtropicais. Porto Alegre: Gênese. 580p. p.1-8. 1999.
- <sup>2</sup> Stevenson, F. J. & Cole, M. A. Cycles of soil, carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. New York: John Wiley & Sons, p.5-45.1999.
- <sup>3</sup> Marchiori Júnior, M. & Melo, W.J. Alterações na matéria orgânica e na biomassa microbiana em solo de mata natural submetido a diferentes manejos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.35, n.6, p.1177-1182, 2000
- <sup>4</sup> Ribeiro, J.L. Efeito de Diferentes Manejos Sobre Indicadores de Qualidade do Solo. Seropédica, 2002. 79 f, Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) Instituto de Agronomia, UFRRJ, 2002.
- <sup>5</sup> Canellas, L.P.; Santos, G.A.; Moraes, A.A.; Olivares, F.L. & Rumjanek, V.M. Avaliação das características de ácidos húmicos extraídos de resíduos urbanos I: métodos espectroscópicos (UV-vis, IV, RMN 13C-CP/MAS) e microscopia eletrônica de varredura. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 24, p. 741-750, 2000.
- <sup>6</sup> Ferreira, D. F. Sistema de análise estatística para dados balanceados. Lavras: UFLA/DEX/SISVAR, 1998. 145p.
- <sup>7</sup> Fernandes, F.A.; Cerri, C.C ; Fernandes, A.H.B.M. Alterações na matéria orgânica e nas características químicas de um Podzol Hidromórfico sob pastagens cultivadas no Pantanal Sul-Mato-Grossense. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2002. 28p. (Embrapa Pantanal. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 29).

## Seção 6



Todos os resumos publicados neste livro são reproduções de cópias fornecidas pelos autores. O conteúdo dos resumos é de responsabilidade exclusiva dos autores. O Comitê Organizador do VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas não se responsabiliza pelas conseqüências do uso de qualquer dado, afirmação ou opinião publicada neste livro.

# Influência do carbono orgânico total na redução e complexação de mercúrio por matéria orgânica dissolvida da Bacia do Médio Rio Negro-AM

Wander Gustavo Botero\*<sup>1</sup> (IC), Luciana Camargo de Oliveira<sup>1</sup> (PG), Ademir dos Santos<sup>1</sup> (PQ), Márcia Cristina Bisinoti<sup>2</sup> (PG), André Henrique Rosa<sup>3</sup> (PQ), Julio Cesar Rocha<sup>1</sup> (PQ)

<sup>1</sup> Instituto de Química de Araraquara (UNESP), C.P. 355, CEP 14800-900, Araraquara-SP

<sup>2</sup> Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, C.P. 6154, CEP 13084-971, Campinas-SP

<sup>3</sup> Curso de Engenharia Ambiental (UNESP), Sorocaba-SP

\*e-mail: wander\_iq@yahoo.com.br

Palavras Chave: redução, complexação, mercúrio.

## Introdução

A matéria orgânica natural de origem aquagênica (MOA), refere-se àquela formada na água, pela excreção e decomposição de plâncton e bactérias aquáticas (Macalady, 1998).

Os principais constituintes da MOA globalmente distribuídos nos sistemas aquáticos e terrestres são as substâncias húmicas (SH). Estas, são formadas por processos microbiológicos, devido à decomposição de resíduos de plantas e animais e consistem de grande variedade de sub-estruturas alifáticas e aromáticas.

As SH influem na toxicidade de espécies metálicas, formando complexos com diferentes labilidades relativas (Burba *et al.*, 1995), reduzindo a toxicidade de metais como Cu(II), Hg(II) e Al(III) para organismos aquáticos e de solos. Dependendo das condições do meio, possuem características oxi-redutoras, influenciando na redução de espécies metálicas e nos fluxos destas para a atmosfera como, por exemplo redução do íon Hg(II) para Hg<sup>0</sup> (Romão *et al.*, 2002).

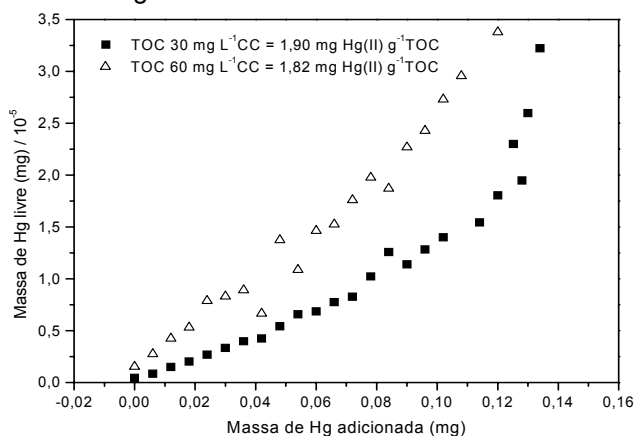
Diferentemente dos complexantes ou ligantes simples (Cl<sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, aminoácidos), as SH contêm vários sítios complexantes por molécula, resultando em alta estabilidade termodinâmica dos complexos formados, alterando sobre maneira a forma química (especificação) do metal no meio (Neubecker & Allen, 1983).

Burba *et al.* (2001), desenvolveram um procedimento de ultrafiltração em fluxo tangencial e simples estágio (UF-FT) capaz de discriminar a concentração do metal livre (Figura 1). O sistema UF-FT comparado com o UF convencional apresenta vantagens como trabalhar com sistemas abertos, redução de efeitos da polarização e/ou entupimento das membranas, menor volume do filtrado, diminuindo o tempo de filtração e minimizando deslocamentos no equilíbrio da solução, além da maior rapidez na filtração (cerca de 2 mL min<sup>-1</sup>). Esta técnica tem sido muito utilizada na determinação da capacidade complexante da matéria orgânica com diferentes espécies metálicas.

Utilizando ultrafiltração em fluxo tangencial, este trabalho teve como objetivo, determinar a capacidade de complexação (CC) de Hg(II) por matéria orgânica dissolvida da Bacia do Médio Rio Negro-AM, com diferentes valores de carbono orgânico total (COT), acompanhando sua possível redução.

## Resultados e Discussão

A Figura 1, mostra resultados de complexação de íons Hg(II) pela matéria orgânica dissolvida em amostras de água coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM, nas concentrações de 30,0 e 60,0 mg L<sup>-1</sup> de COT. Os valores obtidos foram de 1,90 e 1,82 mg Hg(II) g<sup>-1</sup> COT respectivamente, mostrando independência do teor de carbono na capacidade de complexação de íons Hg(II) pela matéria orgânica dissolvida.

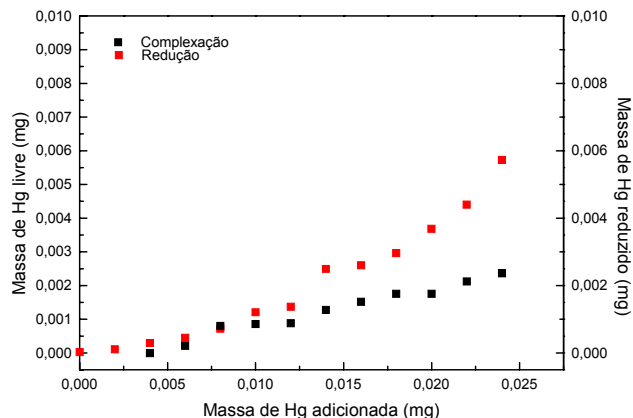


**Figura 1.** Capacidade de complexação de íons Hg(II) por matéria orgânica dissolvida da Bacia do Médio Rio Negro-AM com COT de 30,0 e 60,0 mg L<sup>-1</sup>.

Na literatura estão descritos valores distintos de capacidade de complexação de Hg por matéria orgânica dissolvida, que variam de 0,45 nmol L<sup>-1</sup> de Hg g<sup>-1</sup> TOC (Wu *et al.*, 1997) até 2,6 mmol L<sup>-1</sup> de Hg g<sup>-1</sup> TOC (Yin *et al.*, 1997). Neste estudo, a concentração de Hg(II) adicionado levou em consideração as concentrações de mercúrio presentes em sistemas ambientais. Segundo

Ravichandran (2004), dados experimentais evidenciaram que uma elevada razão Hg/MOD, favorece a ligação do mercúrio a grupos funcionais oxigenados e não somente aos grupos sulfídricos, os quais são preferenciais. Assim, os complexos formados apresentam baixa estabilidade.

A Figura 2 apresenta a complexação e redução de íons mercúrio pela MOD com COT de 2,0 mg L<sup>-1</sup>.



**Figura 2.** Redução e complexação de íons Hg(II) por matéria orgânica dissolvida da Bacia do Médio Rio Negro-AM com COT de 2,0 mg L<sup>-1</sup>.

Observou-se redução de Hg(II) somente para o experimento com COT de 2,0 mg L<sup>-1</sup>. Rocha *et al.* (2000) estudando redução de Hg(II) por amostras de substâncias húmicas aquáticas, concluíram que quanto menor a concentração de substâncias húmicas, maior a porcentagem de redução dos íons Hg(II), corroborando com os dados obtidos neste trabalho.

A CC da amostra com COT de 2,0 mg L<sup>-1</sup> foi 2,90 mg Hg(II) g<sup>-1</sup> COT, maior que as demais estudadas, pois há competição entre os processos de redução e complexação, apresentando características distintas.

## Conclusões

As capacidades de complexação para amostras com COT de 30,0 e 60,0 mg L<sup>-1</sup> são, respectivamente 1,90 e 1,82 mg Hg(II) g<sup>-1</sup> COT. Os valores mostraram que o COT tem pouca influência na CC. Entretanto, para amostra com COT de 2,0 mg L<sup>-1</sup>, a capacidade de complexação foi de 2,90 mg Hg(II) g<sup>-1</sup> COT. Isso se deve ao favorecimento do processo de redução do Hg(II) pela MOD em baixas concentrações de COT, fazendo com que essa amostra possua comportamento diferenciado das outras duas com COT de 30,0 e 60,0 mg L<sup>-1</sup>.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP e o CNPQ pelo apoio financeiro.

- Burba, P.; Shkinev, V.; Spivakov, B. Y. *Fresenius J. Anal. Chem.* **1995**, 351, 74-82.
- Burba, P.; Van den Bergh, J.; Klockow, D. *Fresenius J. Anal. Chem.* **2001**, 371, 660-669.
- Macalady, D. L.; Ranville, J. F. *The chemistry and geochemistry of natural organic matter (NOM)*. In: Macalady, D. L. (Ed.). *Perspectives in environmental chemistry*. New York: Oxford University, **1998**.
- Neubecker, T. A.; Allen, H. E. *Water Res.* **1983**, 17, 1-14.
- Ravichandran, M. *Chemosphere*. **2004**, 55, 319-331
- Rocha, J.C.; Sargentini, Jr. E.; Zara, L.F.; Rosa, A.H.; Santos, A.; Burba, P. *Talanta*. **2000**, 53, 551-559.
- Romão, L. P. C.; Araújo, A. B.; Rosa, A. H.; Rocha, J. C. *Eclética Química*. **2002**, 27, 383-391.
- Stevenson, F. J.; *Humus chemistry: genesis, composition and reaction*. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, **1994**.
- Wu, Q.; Apte, S.C.; Batley, G.E.; Bowles, K.C. *Anal. Chim. Act.* **1997**, 350, 129-134.
- Yin, Y.; Allen, H.E.; Huang, C.P.; Sanders, P.F. *Anal. Chim. Act.* **1997**, 341, 73-82.

## Influência da presença de cloro e dióxido de cloro sobre radicais livres presentes em ácidos fúlvicos aquáticos tropicais

Eduarda R. Carvalho<sup>1</sup> (PG)\*, Ladislau Martin-Neto<sup>1</sup> (PQ), Débora M.B.P. Milori<sup>1</sup> (PQ), Julio C. Rocha<sup>2</sup> (PQ)

1 Embrapa Instrumentação Agropecuária, Cx. 741, 13560-970, São Carlos-SP, Brasil.

2 Instituto de Química-UNESP, Cx. 355, 14800-900, Araraquara-SP, Brazil.

\*e-mail: eduarda@cnpdia.embrapa.br

Palavras Chave: ácidos fúlvicos aquáticos tropicais, desinfetantes, radicais livres, RPE.

### Introdução

As substâncias húmicas (SH) contêm uma quantidade substancial de unidades aromáticas tais como, grupos hidroxilas, carboxílicos e metoxílicos, os quais são comumente denominados de poli-hidroxi-aromáticos, PHA<sup>1</sup>. Os PHA são considerados como importantes substratos em reações de halogenação (como as estruturas aromáticas  $\beta$ -di-cetonas), que resultam na formação dos trihalometanos (THM)<sup>2</sup>. Esses compostos são subprodutos com potencial carcinogênico, resultantes da interação entre as SH aquáticas e oxidantes utilizados no tratamento de água, como cloro e dióxido de cloro.

Radicais livres, presentes nas SH, podem influenciar significativamente nas propriedades redox da matéria orgânica natural e na reatividade com muitos substratos orgânicos e inorgânicos<sup>3</sup>. O sinal do radical livre é produzido por grupos do tipo semiquinona, que são formados pela dehidrogenação oxidativa de compostos fenólicos<sup>4</sup> e estão em equilíbrio com as formas quinona e hidroquinona<sup>5</sup>. Estes radicais são muito estáveis e estão relacionados com reações de polimerização/despolimerização, catalisadores de reações de polimerização de SH, grau de humificação da matéria orgânica e interação com pesticidas e poluentes orgânicos<sup>6</sup>. A natureza química e a concentração dos radicais livres presentes nas SH e, em suas frações de ácidos húmicos e fúlvicos dependem, sobretudo, de reações ácido-base, redução-oxidação e complexação<sup>7</sup>. Através da espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE), é possível quantificar estes radicais, visto que matrizes moleculares, sobretudo fenóis, estabilizam efetivamente os radicais livres orgânicos. Neste trabalho, portanto, foi avaliada por RPE, a influência da presença de oxidantes, como cloro e dióxido de cloro, sobre o conteúdo de radicais livres do tipo semiquinona, presentes em ácidos fúlvicos (AF) aquáticos tropicais, em diferentes valores de pH.

### Materiais e Métodos

Os radicais livres do tipo semiquinona, presentes nos AF, foram quantificados utilizando uma aproximação, onde a densidade de spin foi considerada proporcional à intensidade e ao quadrado da largura de linha ( $I \times DH^2$ )<sup>8</sup>. Esse procedimento é baseado no padrão secundário (um cristal de rubi calibrado com "strong pitch", de acordo com a metodologia de Singer<sup>9</sup>. As condições experimentais utilizadas foram: potência de microonda de 0,2 mW, amplitude de modulação de 0,5 G.

Para a preparação das amostras, utilizou-se a fração fúlvica extraída do Rio Itapanhaú, localizado em uma área de proteção ambiental próximo a cidade de Bertioga/SP, na região sul do litoral do Estado de São Paulo.

As soluções foram preparadas adicionando-se separadamente 5 mg L<sup>-1</sup> de cloro (na forma de hipoclorito de sódio NaOCl 5%) e dióxido de cloro, em 10 mL de solução tampão fosfato (0.1 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> / NaOH nos valores de pH de 5; 7 e 11), contendo o AF. A cloração foi feita a temperatura ambiente variando entre 20 e 25 °C. As soluções permaneceram em agitação constante por 15 min. Após uma hora de reação foram congeladas, e posteriormente liofilizadas. Para as análises no espectrômetro de RPE, as amostras foram colocadas em tubos de quartzo de 3,5 mm de diâmetro interno, com massa de AF variando de 25 a 27 mg. Foi utilizado um espectrômetro de RPE Bruker, operando na frequência da banda X (9 GHz), à temperatura ambiente.

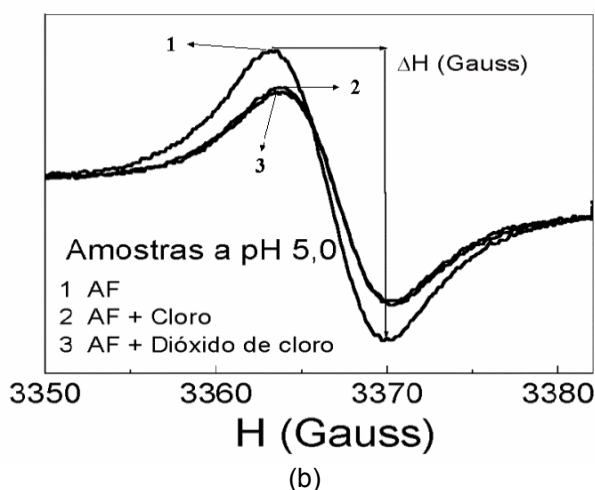
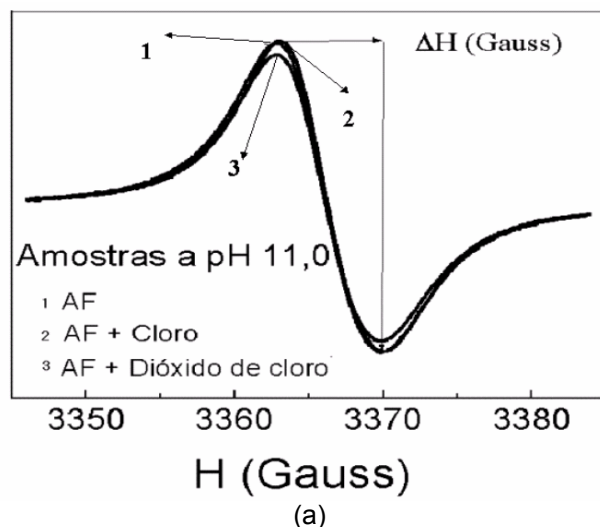
### Resultados e Discussão

Na Figura 1, apresentam-se os espectros do sinal do radical livre do tipo semiquinona, obtidos para a amostra liofilizada de ácidos fúlvicos, na ausência e presença de cloro e dióxido de cloro, em pH 11 e 5. Pode-se observar que não houve variações na forma do sinal, com valores para o fator-g de 2,005.

O fator-g fornece informação sobre a natureza química da espécie que contém o elétron desemparelhado, no caso o radical livre semiquinona<sup>10</sup>. Os valores de g, obtidos para as



amostras, foram praticamente os mesmos, indicando que o sinal observado nos espectros refere-se à mesma espécie química.

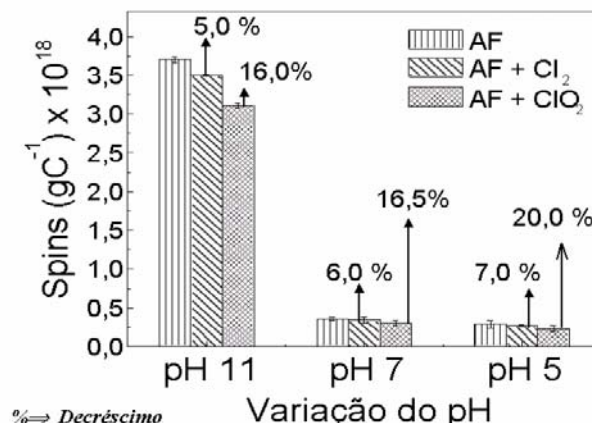


**Figura 1.** Espectros obtidos por RPE mostrando o sinal do radical livre semiquinona, para amostras de ácidos fúlvicos em diferentes valores de pH. Em a) amostras em pH 11, em b) amostras em pH 5.

Verificou-se que para as condições em que as amostras foram analisadas, houve um decréscimo do sinal e maior redução do conteúdo de spins por grama de carbono (ou seja, no nível de radicais livres do tipo semiquinona), com a diminuição do pH da solução, bem como para as amostras de AF na presença de dióxido de cloro (AF + ClO<sub>2</sub>), quando comparadas às amostras na ausência dos oxidantes (AF) e na presença de cloro (AF + Cl<sub>2</sub>). Estes resultados sugerem que houve redução no conteúdo de grupos contendo anéis aromáticos condensados e que a maior redução para a amostra na presença de dióxido de cloro, indica maior capacidade de oxidação deste oxidante, no período analisado.

Isto é melhor observado, na Figura 2, onde nota-se que nas amostras com cloro, o decréscimo do conteúdo de spins (gC<sup>-1</sup>), com a diminuição do pH, variou de 5,0 %, 6,0% e 7,0% ao passo que nas

amostras com dióxido de cloro, este decréscimo variou de 16,0% , 16,5% e 20,0 %, amostras a pH 11, 7 e 5, respectivamente.



**Figura 2.** Variação da quantidade de spins (gC<sup>-1</sup>) em função do pH da amostra, obtida para AF aquáticos tropicais, na presença de cloro e dióxido de cloro.

É fato que fatores como: variações no pH das soluções, na temperatura, presença de processos redox; ou mesmo quando as SH são irradiadas por luz UV, influenciam no conteúdo de radicais livres presentes. No entanto, a presença dos desinfetantes também promoveu variações no conteúdo desses radicais. Dessa forma, se por um lado, o conteúdo do radical livre orgânico tem forte correlação com a aromaticidade, a diminuição deste, resulta no decréscimo de grupos aromáticos, o que possivelmente contribui para menor formação de compostos cancerígenos como os THM.

Em geral, o dióxido de cloro reage primeiramente por reações de oxidação, resultando na formação de poucos compostos orgânicos, voláteis ou não voláteis, nos quais os átomos de cloro têm sido incorporados. Isto poderia explicar o menor conteúdo de subprodutos com potencial carcinogênico, quando da utilização do dióxido de cloro como agente oxidante, em estações de tratamento de água. Sabe-se que na reação entre o dióxido de cloro e grupos fenólicos, a pH 7, o fenol é completamente consumido, eliminando todos os produtos clorados. Substâncias hidrofóbicas, com estruturas insaturadas na cadeia, podem necessitar de grandes concentrações de dióxido de cloro, para reagir com esses grupos funcionais<sup>11</sup>. O dióxido de cloro reage com substâncias orgânicas hidrofóbicas destruindo, assim, o anel benzeno e grupos funcionais insaturados. Mas, por outro lado, não procede com a mineralização para decompor substâncias orgânicas em carbono inorgânico, pela oxidação e redução do carbono orgânico dissolvido (COD).

Em contraste, o cloro reage com compostos orgânicos por oxidação e substituição eletrofílica, resultando em uma variedade de subprodutos

orgânicos clorados. O cloro, por sua vez, ataca preferencialmente na posição entre duas hidroxilas (-OH), em anéis aromáticos meta-hidroxi presentes na matéria orgânica aquática, formando anéis (1,3-ciclohexadiona), sendo estes, particularmente efetivos na produção dos THM<sup>12</sup>. O consumo do cloro e a produção dos THM são proporcionais ao conteúdo de carbonos aromáticos presentes na matéria orgânica natural. Em geral os compostos aromáticos susceptíveis a reações, ou seja ricos em elétrons, apresentam alta reatividade com o cloro.

Dessa forma materiais húmicos com grande número de centros aromáticos são mais reativos com este oxidante<sup>13</sup>. É fato conhecido que a oxidação, de sítios reativos, tais como meta-dihidroxi benzeno (indicado pelo decréscimo de grupos fenólicos, -OH), diminui a reatividade da matéria orgânica dissolvida, em termos de produção de THM<sup>14</sup>.

Na Figura 3, são mostrados os valores obtidos para a largura de linha ( $\Delta H$ ) dos espectros, onde são observadas pequenas variações com uma tendência à diminuição, quando os desinfetantes estão presentes na amostra.

Observou-se maiores valores para a largura de linha, com o aumento do pH. Uma hipótese para explicar esse resultado seria o fato de que os radicais livres do tipo semiquinona, nesse intervalo de pH, são menos "protegidos", interagindo mais com o meio e relaxando mais rapidamente (aumento da largura de linha).

relaxação do estado excitado, deste radical livre presente na amostra<sup>15</sup>. Isto significa que em pH menores, os ambientes moleculares, incluindo sítios protegidos de hidrofobicidade significativa, desaparecem à altos pH(s) devido as mudanças conformacionais (induzidas pela desprotonação de grupos funcionais ácidos). Nestes sítios protegidos, a interação com ambientes externos é menos efetiva, resultando em um decréscimo do tempo de relaxação do radical livre semiquinona.

## Conclusões

Os dados obtidos por RPE mostraram que a presença dos oxidantes, em diferentes valores de pH (contendo a amostra de AF), afeta parâmetros como largura de linha e conteúdo de radicais livres presentes. Foi observada uma redução em torno de 7 % e 20 % no conteúdo de radicais livres do tipo semiquinona, nas amostras de AF tratadas com cloro e dióxido de cloro, respectivamente, para um decréscimo no pH de 11 para 5.

O decréscimo mais acentuado dos radicais livres, para a amostra de AF, na presença do dióxido de cloro, provavelmente esteja associado a maior ação oxidante deste desinfetante, quando comparado ao cloro, havendo portanto, maior envolvimento de grupos aromáticos condensados (apontados como sítios de radicais livres semiquinona), nas reações com este oxidante, o que contribui para menor formação de compostos cancerígenos como os trihalometanos.

## Agradecimentos

CNPq, Embrapa/Cnpdia, Fapesp.

<sup>1</sup>Stevenson, F. J. *Humus Chemistry, Gênesis, Composition Reactions, Spectroscopic Approaches* Eds.; J. New York, Wiley and Sons, **1982**, Chapter 11,264-284.

<sup>2</sup>Reckhow David A.; Singer, Philip C.; Malcolm e Ronald L. *Environ. Sci. Technol.*, **1990**, *24*,1655-1664.

<sup>3</sup>Senesi, N. *Anal. Chim. Acta*, **1990**, *232*, 77-106.

<sup>4</sup>Riffaldi & Schnitzer *Soil Sci. Soc. Am. P.*, **1972**, *36*,301 – 305.

<sup>5</sup>Martin-Neto, L.; Nascimento, O.R.; Talamoni, J.; Poppi, N.R. *Soil Sci.*, **1991**, *51*, 369-376.

<sup>6</sup>Marques, J.C. *Dissertação (Mestrado)*, **1998**, 98p.

<sup>7</sup>Jezierski, A.; Franciszek, C.; Jerzykiewicz, M.; Iwona, G., Jerzy D.C.; Ewa B., Yona, C.; Mark R.D. e Seaward F. *Spectrochimica Acta Part A*, **2002**, *58*, 1293-1300.

<sup>8</sup>Poole C.P. e Farach H. A. *The theory of magnetic resonance. Somerset, John Willey & Sons*, **1972**, 452p.

<sup>9</sup>Singer, L. S. *J. Appl. Phys.*, **1959**, *30*, 1463-1464.

<sup>10</sup>Wertz, J. E.; Bolton, J. R. *Electron spin resonance. New York, Mc Graw Hill*, **1972**, 11-61.

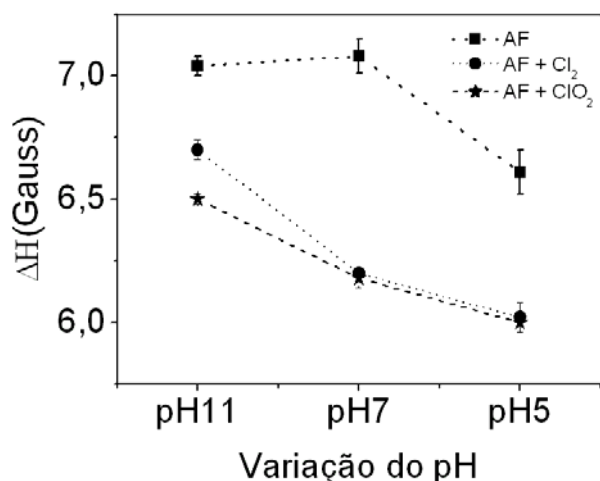
<sup>11</sup>Chang, C.; Hsieh, Y.; Lin, Y.; Hu, P.; Liu, C. e Wang, K. *Chemosphere*, **2001**, *44*, 1153-1158.

<sup>12</sup>Galapate, R. P.; Baes, A. U. e Okada, M. *Wat. Res.*, **2001**, *35*, 2201-2206.

<sup>13</sup>Yamada, E.; Ozaki, T. e Kimura, M. *Anal. Sci.* **1998**, *14*, 327-332.

<sup>14</sup>Reckhow, D. A.; Singer, P. C. e Malcolm, R. *Environ. Sci. Technol.*, **1990**, *24*, 1655-1664.

<sup>15</sup>Martin-neto, L., Traghetta, D. G.; Vaz, C. M. P.; Crestana, S. e Sposito, G. *J. Environ. Qual.*, **2001**, *30*,520 – 525.



**Figura 3.** Valores da largura de linha ( $\Delta H$ ) obtidos para as amostras de AF, em diferentes valores de pH, na presença de cloro e dióxido de cloro.

Observou-se também que a presença dos oxidantes e o decréscimo do pH promoveram decréscimos na largura de linha do sinal do radical livre. Decréscimos na largura de linha, do sinal do radical livre semiquinona, com o decréscimo do pH, têm sido relacionado com o aumento do tempo de

## Diferenças no grau de humificação de substâncias húmicas aquáticas extraídas de amostras coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM: influências sazonais

Luciana Camargo de Oliveira<sup>1\*</sup> (PG), Ézio Sargentini Jr<sup>1</sup> (PQ), Ricardo Lima Serudo (PG), Wilson Tadeu Lopes da Silva<sup>3</sup> (PQ), Julio Cesar Rocha<sup>1</sup> (PQ), Ademir dos Santos<sup>1</sup> (PQ), André Henrique Rosa<sup>2</sup> (PQ)

<sup>1</sup> Instituto de Química de Araraquara (UNESP), C.P. 355, CEP 14800-900, Araraquara-SP.

<sup>2</sup> Curso de Engenharia Ambiental (UNESP), Sorocaba-SP

<sup>3</sup> Embrapa-Cnpdia São Carlos-SP

\*e-mail: lcamargo@posgrad.iq.unesp.br

Palavras Chave: sazonalidade, análise multivariada, grau de humificação.

### Introdução

Os rios exercem importante função no ciclo global do carbono através da acumulação de matéria orgânica de origem terrestre e sua transferência para o oceano. De acordo com Spitzky (1991), nenhum outro rio do planeta transfere mais matéria orgânica para o oceano que o Amazonas. O Rio Negro é o tributário do Rio Amazonas com a maior concentração de matéria orgânica dissolvida (MOD), cerca de 600-900  $\mu\text{mol L}^{-1}$  enquanto os outros afluentes desse rio possuem 300-500  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de MOD (Mc Clain *et al.*, 1997). Assim as águas do Rio Negro são ácidas devido a esse grande aporte de matéria orgânica derivadas principalmente de extensas áreas de podsolos hidromórficos da porção superior da Bacia (Ivanissevich, 1990). Como as substâncias húmicas aquáticas (SHA) representam cerca de 80% da MOD, o estudo das características estruturais das substâncias húmicas dessa região é relevante.

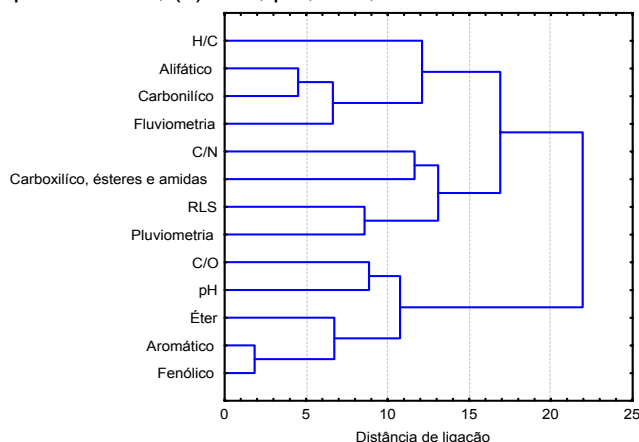
Devido a grande quantidade de variáveis presentes em estudos de amostras ambientais, técnicas multivariadas têm se mostrado eficientes para avaliar correlações (existentes ou não) e interpretar os resultados obtidos. Análise de componentes principais (PCA) e análise hierárquica de agrupamentos (HCA) têm sido as mais utilizadas (Burns *et al.*, 1997; Salau *et al.*, 1997). A PCA reduz a dimensão dos dados originais, facilitando a interpretação das informações mais importantes em menor número de fatores, ou componentes principais. A HCA tem como objetivo observar a formação de agrupamentos naturais, numa estrutura hierárquica em que as amostras são colocadas num sistema de grupos e subgrupos dependendo do grau de similaridade entre elas.

Neste trabalho substâncias húmicas foram extraídas de amostras de água coletadas mensalmente na Bacia do Médio Rio Negro-AM para verificar influência da sazonalidade em características estruturais das SH. Assim, os parâmetros razões atômicas C/H, C/N e C/O,

grupos funcionais (obtidos por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono 13), radicais livres do tipo semiquinona (obtidos por ressonância paramagnética eletrônica) bem como pH, índices pluviométricos e fluviométricos foram interpretados por HCA e PCA.

### Resultados e Discussão

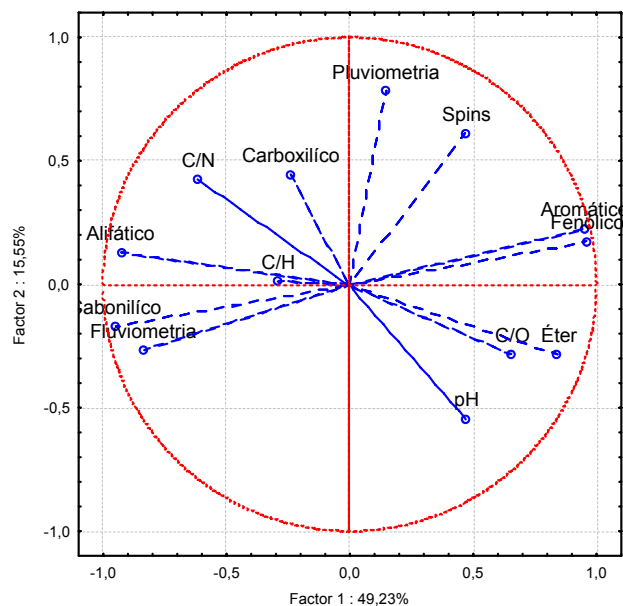
A análise hierárquica de cluster (Figura 1) mostrou a formação de 3 grupos principais: (a) razão atômica H/C, alifático, carbonílico e fluviometria; (b) C/N, carboxílico, RLS e pluviometria; (c) C/O, pH, éter, aromático e fenólico.



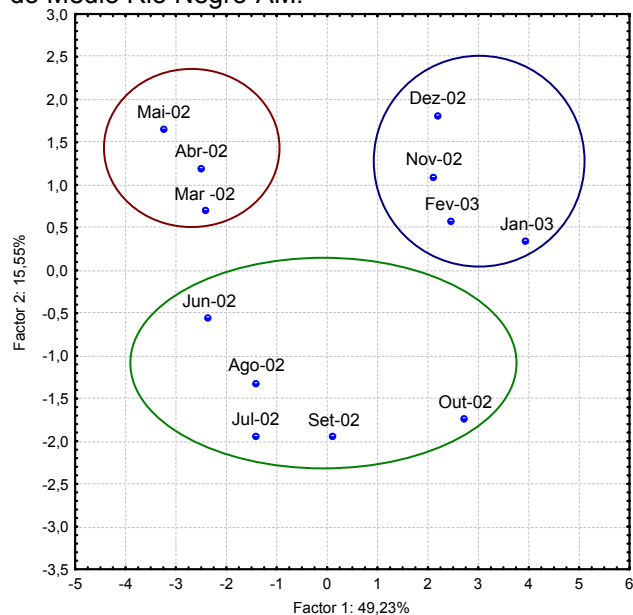
**Figura 1.** Substâncias húmicas aquáticas extraídas de amostras de água coletadas mensalmente na Bacia do Médio Rio Negro-AM: influência da sazonalidade em diferentes parâmetros.

O grupo (a) indica que quanto maior o nível do rio, maior a alifaticidade das SHA e portanto maior razão atômica H/C. Assim, as SH extraídas no período onde o índice fluviométrico é maior, o grau de humificação dessas SH é menor. O grupo (b) mostra a relação direta entre razão atômica C/N, radicais livres semiquinona, pluviometria e grupos carboxílicos. Estes parâmetros estão interligados pelo grau de humificação. Segundo Martin-Neto (1998), há altas correlações entre RLS e o índice pluviométrico. De acordo com Stevenson (1994), quanto maior as razões atômicas C/N maior o grau

de humificação das SH. A presença dos grupos carboxílicos nesse cluster, provavelmente é devido a estes grupos serem os mais oxidados e portanto relacionados com a matéria orgânica mais refratária. O grupo (c) indica que quanto maior a razão atômica C/O maior a aromaticidade dessas SH. Rocha & Rosa (2003) descreveu a relação entre a razão atômica C/O, a aromaticidade e o grau de humificação das substâncias húmicas. Devido ao efeito tampão das SH, o pH das águas não varia significativamente como observado e assim não está relacionado com os parâmetros de pluviometria (Grupo a) e pluviometria (Grupo b).



**Figura 2.** Representação do "loading" para substâncias húmicas aquáticas extraídas de amostras de água coletadas mensalmente na Bacia do Médio Rio Negro-AM.



**Figura 3.** Representação dos meses para substâncias húmicas aquáticas extraídas de amostras de água coletadas na Bacia do Médio Rio Negro-AM.

Na Figura 2 observa-se pela CP<sub>1</sub> que quanto maior é o valor desta componente mais humificada é a amostra de SH. Isto pode ser inferido principalmente pelos parâmetros de aromaticidade, razão atômica C/O e também pelas concentrações de spins. Assim, as amostras coletadas nos meses de Novembro/02 à Janeiro/03 têm maior grau de humificação (Figura 3). Analisando a CP<sub>2</sub> os parâmetros pluviometria, concentração de spins, razão atômica C/N são os que mais influenciam nesta CP. Então, as amostras com maiores valores de CP<sub>2</sub> também devem ter maior grau de humificação. Analisando as duas CPs observa-se que as amostras positivas em CP<sub>1</sub> e CP<sub>2</sub> são as mais humificadas, as positivas em CP<sub>2</sub> porém negativas em CP<sub>1</sub> têm grau de humificação intermediário e as negativas nas duas CPs são as menos humificadas. Logo, é possível estabelecer a seguinte ordem decrescente de humificação para as amostras estudadas: Nov/02–Fev/03 > Mar/02–Mai/02 > Jun/02–Out/02.

## Conclusões

As análises multivariadas evidenciaram influência da sazonalidade nas características estruturais das SHA, podendo estabelecer a seguinte ordem decrescente do grau de humificação: Nov/02–Fev/03 > Mar/02–Mai/02 > Jun/02–Out/02.

## Agradecimentos

FAPESP, CNPq, Conselho de Pós Graduação IQ-UNESP, EMBRAPA São Carlos, M.L. Simões.

Burns, W.A.; Mankiewicz, P.J.; Bence, A.E.; Page, D.S. e Parkers, K.R. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **1997**, 16(6), 1119-1131.

Ivanissevich, A. *Ciência Hoje*. **1990**, 11, 47.

Martin-Neto, L.; Rossel, R. e Sposito, G. *Geoderma*. **1998**, 81, 305-311.

McClain, M.E.; Richey, J.E. e Brandes, J.A. *Global Biogeochemical cycles*. **1997**, 11, 295-311.

Rocha, J.C. e Rosa, A.H. *Substâncias húmicas aquáticas: interação com espécies metálicas*. **2003**, 138p.

Salau, J.S.I.; Tauler, R.; Bayona, J.M. e Tolosa, I. *Environmental Science Technology*. **1997**, 31, 3482-3490.

Spitzky, A. e Ittekkot, V. *Global Change*. **1991**, 5-17.

Stevenson, F.J. *Humus Chemistry*. **1994**, 435p.



## Estudo comparativo para determinação da capacidade de complexação e labilidade de íons Cu(II) em substâncias húmicas aquáticas usando ultrafiltração, difusão em filmes finos e sorção em resina quelante

Paulo Sergio Tonello<sup>1</sup> (PG)\*, Amauri Antonio Menegário<sup>2</sup> (PQ), André Henrique Rosa<sup>3</sup> (PQ)

1. Instituto de Química – UNESP – Rua Prof. Francisco Degni sn., Araraquara, SP – CEP 14801 970.

2. Centro de Estudos Ambientais – UNESP – Av. 24A n. 1515, Bela Vista, Rio Claro, SP – CEP 13506 900

3. Unidade Sorocaba/Iperó – UNESP – Av. 3 de março n. 511, Alto da Boa Vista, Sorocaba, SP - CEP 18087 180

\*e-mail: ptonello@posgrad.iq.unesp.br

Palavras Chave: labilidade, substâncias húmicas aquáticas, especiação

### Introdução

A simples determinação da concentração total de espécies metálicas em sistemas aquáticos não fornece informações relacionadas à sua biodisponibilidade e/ou labilidade, pois essas são afetadas principalmente pela forma em que os metais estão presentes no ambiente [1]. Assim, neste contexto faz-se necessária a avaliação da labilidade dos metais no sistema em estudo. Para esta finalidade diferentes procedimentos/técnicas tais como, a ultrafiltração (UF), a sorção com resina (SR) ou a difusão em filmes finos (DGT) têm sido utilizadas [1, 2, 3, 4].

A UF permite se determinar em uma amostra, a fração formada por íons metálicos livres, pela passagem desta através de uma membrana com porosidade adequada [1]. É possível também a determinação da fração lábil e da estabilidade do complexo metal-substância húmica aquática (M-SHA) usando agentes complexantes como o EDTA e o DTPA [5].

Estudos de labilidade de metais envolvendo a competição do complexo M-SHA com resinas quelantes como Chelex-100 possibilitam discriminar as frações lábil, moderadamente lábil (cineticamente inerte) e inerte [4].

Na DGT metais livres, lábeis e moderadamente lábeis podem ser determinados simultaneamente e utilizando-se procedimento “*in-situ*”. Neste caso, o dispositivo contendo um disco de gel difusivo, com porosidade adequada, e outro disco de gel impregnado com resina é colocado dentro do corpo d’água que se deseja avaliar e, em função do tempo e do coeficiente de difusão dos íons através do gel, é possível caracterizar as espécies metálicas presentes [2,3].

Neste trabalho a capacidade de complexação de SHA e a labilidade de íons Cu(II) foram estudadas através dos procedimentos/técnicas de ultrafiltração, sorção em resina Chelex-100 e difusão em filmes finos.

Para os testes realizados, a concentração de SHA nas soluções foi mantida em 15 mg L<sup>-1</sup> de carbono orgânico total (COT) e a concentração de

Cu(II) no intervalo de 5 a 100 μmol L<sup>-1</sup>. O pH das soluções foi mantido em 5,5 ± 0,1 e a força iônica em 0,05 mol L<sup>-1</sup> com solução de NaNO<sub>3</sub>. As concentrações de Cu(II) foram determinadas por ICPOES, equipamento marca GBC.

Para o estudo baseado em ultrafiltração o procedimento proposto foi o descrito por ROMÃO [6]. Neste, uma solução com 200 mL de SHA recebeu alíquotas crescentes de Cu(II) em intervalos de 15 minutos, tempo suficiente para equilíbrio da solução. Após cada intervalo, 2 mL da solução, filtrados em membrana de 1 kDa no sistema de ultrafiltração tangencial, foram coletados, acidificados em HNO<sub>3</sub> 2% e sua concentração determinada.

Nos estudos com DGT, foram usados discos de gel difusivo (15% acrilamida e 0,3% cross-linker) com 8 mm de espessura, discos do mesmo gel, com 4 mm de espessura, impregnados com resina Chelex-100, membrana filtrante com porosidade de 0,8 μm e dispositivo plástico de suporte para os discos com janela de 2 cm de diâmetro. Cada dispositivo DGT foi constituído por 1 disco com resina, sobreposto por um disco difusivo, sobreposto por uma membrana filtrante. Várias soluções de SHA, com volume de 200 mL, contendo diferentes concentrações de Cu(II) foram preparadas e deixadas em repouso por 24 horas. Então, cada uma recebeu um dispositivo DGT, que permaneceu imerso por mais 24 horas. Após esse tempo, os dispositivos foram recolhidos, desmontados e os discos com resina foram colocados em 10 mL de solução de HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup>. Deixados por 12 horas sob agitação para descomplexação dos íons Cu(II), os quais foram analisados para determinação da fração lábil da solução [2,3].

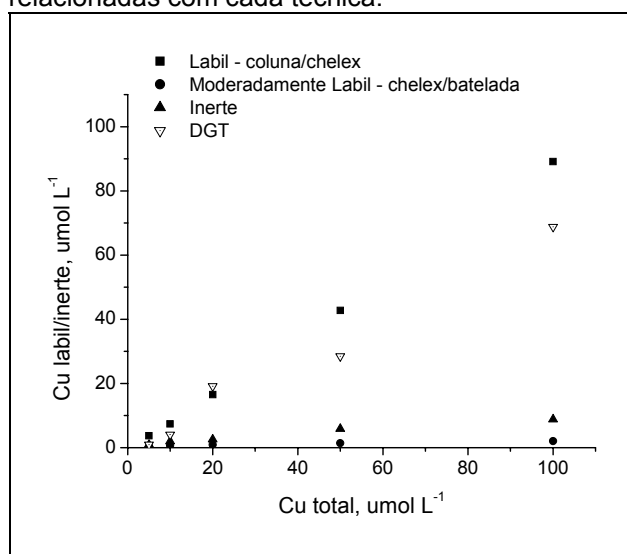
Baseando-se no protocolo proposto por ALVAREZ [4], na extração de metais lábeis por resina Chelex-100 utilizou-se uma coluna com 5 mm de diâmetro por 80 mm de comprimento, preenchida com 2,0 g (peso seco) de resina Chelex-100. Prepararam-se soluções de SHA com pH ajustado em 5,5 com solução tampão de acetado 0,25 mol L<sup>-1</sup> e com quantidades crescentes de Cu(II) para



concentrações finais iguais as usadas nas outras técnicas (UF e DGT). Após 24 horas de repouso, as soluções foram percoladas através de coluna contendo a resina Chelex-100 a  $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ , seguindo o procedimento: 10 mL de solução tampão, para condicionar a resina, 20 mL da solução de Cu(II), 2,5 mL de água, 10 mL de eluente ( $\text{HNO}_3$   $2 \text{ mol L}^{-1}$ ). No eluente recolhido, determinou-se a fração lábil de Cu(II) presente nas soluções. Nos efluentes da etapa de retenção foram adicionadas alíquotas de 0,5 g de resina (peso úmido e pH 5,5) que após 72 horas foi separada e colocada em solução de  $\text{HNO}_3$   $2 \text{ mol L}^{-1}$  para determinação do Cu(II) moderadamente ligado às SHA. A fração inerte foi obtida pela diferença entre a concentração inicial e a concentração das frações determinadas.

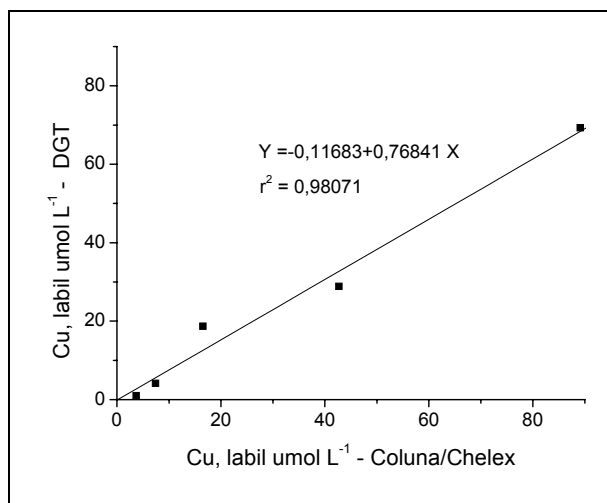
## Resultados e Discussão

Na Figura 1 são apresentadas as frações de Cu lábil, moderadamente lábil e inerte, obtidas com as técnicas de sorção em resina e DGT. Os resultados indicaram que tanto pela SR como através da DGT a maior parte dos complexos Cu-SHA está na forma lábil e que as concentrações obtidas pela DGT são menores que as correspondentes na fração lábil determinadas pela SR. Essa diferença pode ser compreendida pelas diferentes escalas de tempo relacionadas com cada técnica.



**Figura 1.** Concentração de Cu(II),  $\mu\text{mol L}^{-1}$  determinada por SR e DGT em função da concentração total de Cu(II),  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em amostras de SHA ( $15 \text{ mg L}^{-1}$  de COT, pH 5,5;  $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ ).

A Figura 2 mostra a existência de boa correlação ( $r^2 = 0,98$ ) entre os resultados obtidos em relação ao cobre lábil para a DGT e pela SR. Esta correlação confere ao procedimento/técnica DGT confiabilidade quanto aos valores determinados para as frações lábeis da solução de SHA em estudo.



**Figura 2.** Comparação entre as concentrações de Cu(II) lábil,  $\mu\text{mol L}^{-1}$  determinadas por DGT e por SR, em amostras de SHA ( $15 \text{ mg L}^{-1}$  de COT, pH 5,5;  $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ ).

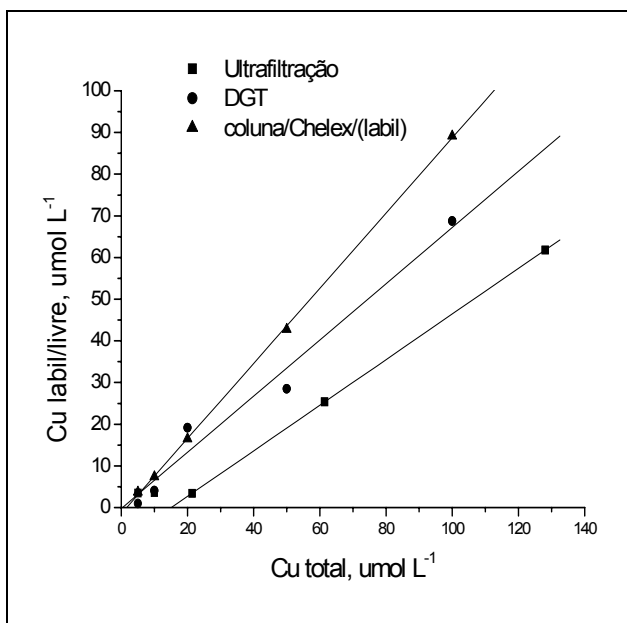
Para as três técnicas usadas a CC foi calculada através dos gráficos da concentração total de Cu(II) nas soluções de SHA em função da concentração de Cu(II) lábil e/ou livre determinado em cada técnica. O valor da CC foi calculado como a medida da interseção entre as retas obtidas e o eixo das abscissas [2]. A Tabela 1 apresenta os valores das CC calculadas, em  $\mu\text{mol Cu g}^{-1}$  COT e a Figura 3 apresenta os gráficos correspondentes às 3 técnicas.

**Tabela 1.** Capacidade de complexação de Cu(II) por SHA em  $\mu\text{mol}$  de Cu(II)  $\text{g}^{-1}$  de COT determinada por UF, DGT e SR.

Sistema	Capacidade de Complexação, $\mu\text{mol Cu g}^{-1}$ COT
Ultrafiltração	1,00
DGT	0,12
Sistema de Fluxo/Chelex	0,11

\* SHA =  $15 \text{ mg L}^{-1}$  de COT, pH 5,5;  $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$

Os valores das CC determinados pela DGT e SR foram muito próximos, indicando que as duas técnicas foram capazes de determinar as mesmas frações de Cu(II), confirmando a correlação entre ambas, anteriormente apresentada.



**Figura 3.** Concentração de Cu(II) lábil,  $\mu\text{mol L}^{-1}$  determinada por UF, DGT e SR em função da concentração total de Cu(II),  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em amostras de SHA ( $15 \text{ mg L}^{-1}$  de COT, pH 5,5;  $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ ).

O valor da CC obtido pela UF foi, como esperado, muito superior aos demais, pois mostrou a capacidade das SHA para formar complexos de todos os tipos: lábeis, moderadamente lábeis ou inertes. Para o DGT e SR, os valores baixos mostraram apenas a capacidade das SHA em formar complexos inertes.

## Conclusões

As técnicas da SR e DGT são compatíveis na avaliação das frações lábeis, moderadamente lábeis e inertes dos complexos Cu-SHA, tendo a última à vantagem da aplicação em “*in-situ*”.

As três técnicas quando, aplicadas complementarmente, permitem a realização de estudos de especiação química de íons Cu(II) em soluções contendo SHA, a partir da obtenção da fração de íons livres através da UF e das frações lábeis, moderadamente lábeis e inertes, através da SR ou da DGT.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Universidade Estadual Paulista – UNESP.

<sup>1</sup> Rocha, J.C.; Rosa, A. H. Substâncias húmicas aquáticas: interação com espécies metálicas. S. Paulo: Ed. UNESP, 2003.

<sup>2</sup> Downard, A. J.; Panther, J.; Kim, Y.C. e Powell, K. J. Anal. Chim. Acta. 2003, 499, 17.

<sup>3</sup> Zhang, H.; Davison, W. Anal. Chim. Acta. 1999, 398, 329.

<sup>4</sup> Alvarez, M. B.; Malla, M. E. e Batistoni, D. A. Anal. Bioanal. Chem. 2004, 378, 438.

<sup>5</sup> Burba, P.; Rocha, J. C. e Bergh, J. V. Anais do IV Enc. Bras. Substâncias Húmicas. 2001, 28.

<sup>6</sup> Romão, L. P. C. Utilização da ultrafiltração em fluxo tangencial como nova metodologia para determinação da capacidade de complexação e constantes de equilíbrio de Cu(II) complexado por matéria orgânica natural. Tese doutorado: IQ-UNESP, 2003.

# Estudo das interações entre ácidos húmicos e pireno em meio aquoso

Luciano Tormen (IC)\*<sup>1</sup>, Andreia N. Fernandes (PG)<sup>1</sup>, Marcelo Giovanela (PG)<sup>2</sup>, Thalita G. Rauen (PG)<sup>1</sup> e Maria Marta de S. Sierra (PQ)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Química, Campus Trindade, 88040-900, Florianópolis, SC.

<sup>2</sup>Departamento de Física e Química (DEFQ), Centro de Ciências Exatas e Tecnologia (CCET), Universidade de Caxias do Sul (UCS), 95070-560 Caxias do Sul – RS.

\*e-mail: lucianotormen@hotmail.com

Palavras Chave: Substâncias Húmicas, Fluorescência, Pireno.

## Introdução

As substâncias húmicas (SH) representam a maior parte do carbono orgânico (CO) em ambientes naturais. Devido a sua natureza polidispersa e polieletrólítica elas são capazes de desenvolver uma superfície ativa com grupos funcionais reativos, sítios hidrofóbicos e hidrofílicos que atuam na mobilidade, biodisponibilidade e toxicidade de poluentes no ambiente.

Os mecanismos pelos quais as SH interagem com poluentes são diversos, entre eles, complexação, ligações de hidrogênio, ligações covalentes, forças de Van Der Waals, troca de ligantes, adsorção e partição. Dependendo dos grupos funcionais e da estrutura do poluente e das SH um dos mecanismos prevalece sobre os outros<sup>1</sup>.

Em presença de SH, poluentes fluorescentes têm sua intensidade de fluorescência atenuada, sendo este efeito empregado na determinação das constantes de equilíbrio, poluente - SH, segundo a equação:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_b [SH]$$

Onde  $F_0$  e  $F$  são as intensidades de fluorescência do poluente na ausência e presença de SH, respectivamente e  $K_b$  é a constante de Stern – Volmer, que é dada pelo coeficiente angular de um plote de  $F_0 / F$  versus concentração de SH<sup>2</sup>.

Neste trabalho, usando este método, foram determinadas as constantes de equilíbrio entre pireno e ácidos húmicos (AH) de solo, estuário e turfa. Os comprimentos de onda de excitação e emissão foram 334 e 373, respectivamente.

Paralelamente foi testado um outro método para avaliar a captura de pireno em água pelas SH. Num recipiente contendo solução de pireno em presença de AH em diferentes concentrações foi borbulhado nitrogênio, sendo o pireno livre captado num trap contendo solução hidroalcolólica. O pireno nessa solução, sem o contato com o supressor, foi avaliado por fluorescência.

Os AH foram extraídos de solo, estuário e turfa segundo o protocolo da IHSS (International Humic Substances Society).

## Resultados e Discussão

Na Tabela 1 são mostrados os conteúdos dos diferentes elementos e as relações entre eles.

Tabela 1. Análise elementar das amostras.

	Turfa	Solo	Estuário
% C	48,19	43,92	45,80
% H	4,20	5,08	5,23
% N	1,90	3,22	4,16
Cinzas	1,12	3,51	5,50
C/H	11,47	8,65	8,75
C/N	25,36	13,64	11,01

Estes dados mostram que os AH de turfa são mais insaturados e condensados, refletindo um maior grau de humificação da MO do que as amostras de estuário e solo.

A Figura 1 mostra uma relação típica entre a extinção de fluorescência do pireno e a concentração de AH. A linearização deste efeito por meio da equação de Stern – Volmer produziu os dados mostrados na Figura 2. A partir destes dados foram determinadas as constantes de equilíbrio.

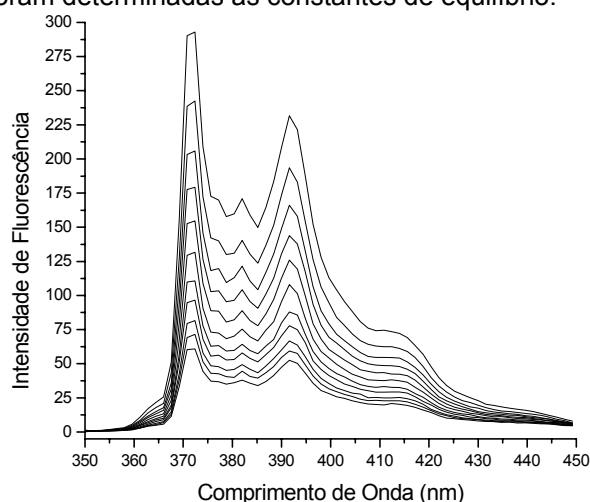
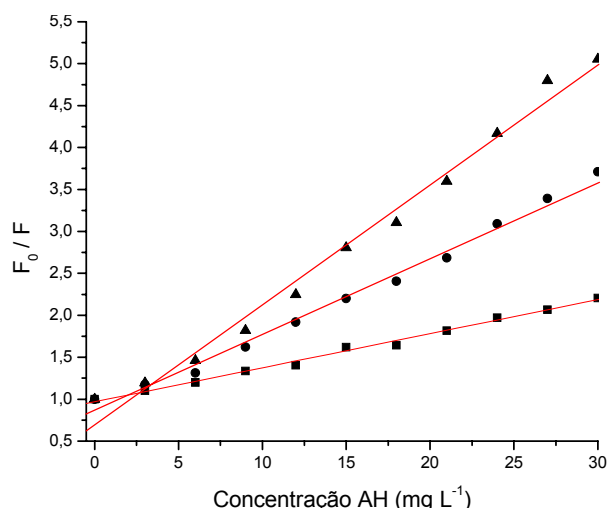


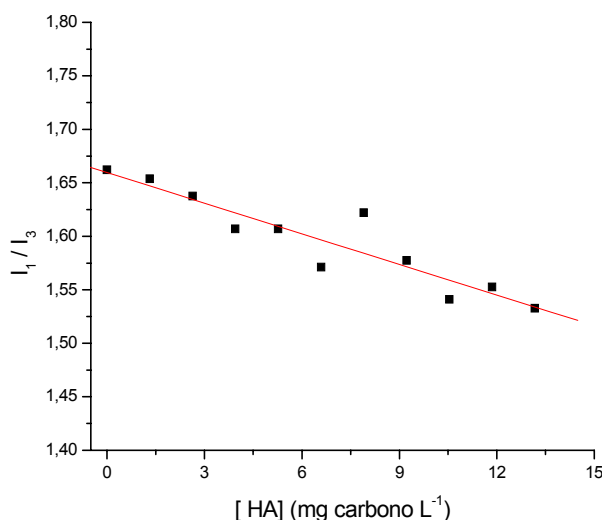
Figura 1. Extinção de fluorescência de pireno ( $10^{-7}$  mol  $L^{-1}$ ) em presença de SH (0 à 30 mg  $L^{-1}$ ).



**Figura 2.** Gráfico Stern - Volmer para: ■ AH de solo, ● AH estuário e ▲ AH turfa em pireno ( $10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>).

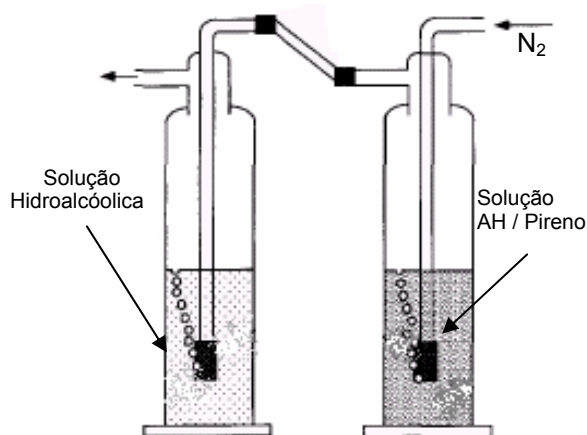
Os valores obtidos para as constantes normalizadas ao conteúdo de CO ( $K_{oc}$ ) foram:  $9,8 \times 10^4$  cm<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> (solo),  $22,5 \times 10^4$  cm<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> (estuário) e  $30,7 \times 10^4$  cm<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> (turfa), ou seja, diretamente proporcionais ao conteúdo de CO das amostras.

Simultaneamente à diminuição da intensidade de fluorescência, observou-se um leve declínio nos valores da relação  $I_1 / I_3$  do pireno, Figura 3. Este decréscimo indica que ao aumentar a concentração de AH, o pireno percebe um ambiente mais hidrofóbico<sup>3</sup>.



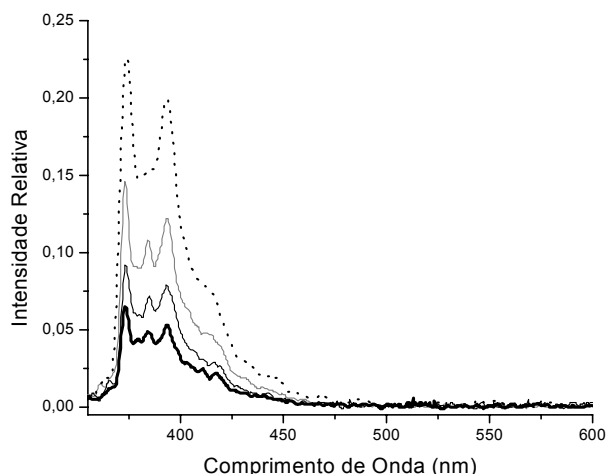
**Figura 3.** Variação dos valores  $I_1$  e  $I_3$  do pireno com a concentração de AH de solo.

Objetivando relacionar os valores de  $K_{oc}$  com a capacidade da amostra de AH de capturar pireno em meio aquoso foi utilizado um aparato semelhante ao ilustrado na figura 4.

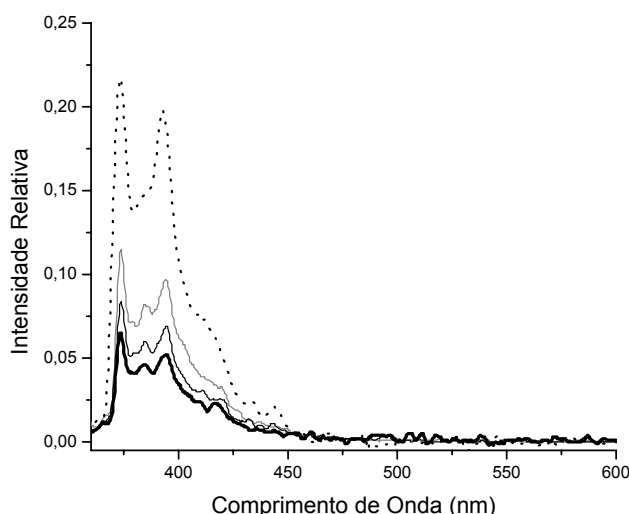


**Figura 4.** Ilustração do aparato utilizado na remoção de pireno livre em solução de AH.

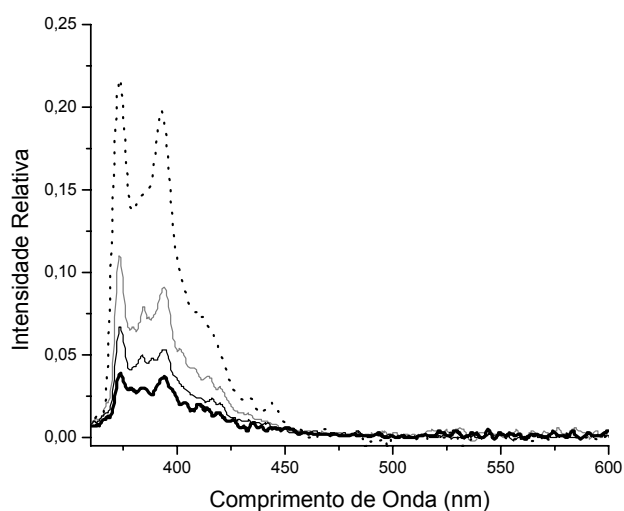
Os espectros de fluorescência do pireno recuperado no trap a partir de soluções contendo AH em: - - - ausência de AH, - AH 10 mg L<sup>-1</sup>, - AH 30 mg L<sup>-1</sup>, - AH 50 mg L<sup>-1</sup> são mostrados nas Figuras 5, 6 e 7.



**Figura 5.** Espectro de fluorescência do pireno recuperado de Soluções de pireno contendo AH de estuário.



**Figura 6.** Espectro de fluorescência do pireno recuperado de Soluções de pireno contendo AH de solo.



**Figura 7.** Espectro de fluorescência do pireno recuperado de Soluções de pireno contendo AH de turfa.

Os resultados mostram que a quantidade de pireno livre no meio é inversamente proporcional à quantidade de AH na solução, e, ainda que este efeito segue a tendência AH turfa > AH solo > AH estuário.

## Conclusões

As constantes de equilíbrio pireno / AH mostraram-se proporcionais ao conteúdo de CO das amostras.

Os AH são capazes de seqüestrar o pireno em meio aquoso reduzindo sua disponibilidade no ambiente sendo que para as amostras estudadas este efeito não tem uma relação direta com Koc. Estudos com mais amostras são necessário para confirmar (ou não) esta observação.

A diminuição dos valores da relação  $I_1/I_3$  do pireno como função da concentração de AH, indica que a atenuação da fluorescência deve ser consequência da captura do composto apolar em micro ambientes hidrofóbicos gerados pelas SH em meio aquoso, sendo estes relacionados com o grau de insaturação e condensação da amostra.

## Agradecimentos

CNPq, NEMAR e UFSC.

<sup>1</sup> Senesi, N. *The Sci. of the Total Environ.* **1992**, 123 / 124, 63 - 76.

<sup>2</sup> Gauthier, D. T.; Shane, E. C.; Guerin, W. F.; Seitz, W. R.; Grant, C. L.. *Environ. Sci. Technol.* **1986**, 20, 1162 - 1166.

<sup>3</sup> Wandruszka, R. V. *Soil Science.* **1998**, 163, 921 - 930.



## Impacto da irradiação UV na degradação fotoquímica das substâncias húmicas aquáticas da bacia Amazônica

Ursula Fabiola Rodríguez Zúñiga<sup>1,2\*</sup> (PG), Débora Marcondes Bastos Pereira Milori<sup>1</sup> (PQ), Wilson Tadeu Lopes da Silva<sup>1</sup> (PQ), Julio César Rocha<sup>3</sup>(PQ), Ladislau Martin-Neto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, 1452, Cp. 741, CEP: 13560-970, São Carlos, SP.

<sup>2</sup>Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, Av. Trabalhador São Carlense, 400, Cp. 780, CEP: 13560-970, São Carlos, SP. <sup>3</sup>Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química da UNESP de Araraquara, Rua Francisco Degni, s/n Bairro Quitandinha, Araraquara-Cep:14800-900. \*e-mail: ursula@cnpdia.embrapa.br

Palavras Chave: *substâncias húmicas aquáticas, fotodegradação, técnicas espectroscópicas.*

### Introdução

As substâncias húmicas aquáticas (SHA), principal constituinte da matéria orgânica dissolvida (MOD) nas águas dos rios, são as principais responsáveis pela absorção de luz solar. O fenômeno gera uma série de fotorreações que afetam as suas propriedades físicas, biológicas e químicas, com a conseguinte fotodegradação e a formação de subprodutos<sup>1</sup>.

Tanto a absorção quanto a fotodegradação são dois processos ambientalmente relevantes dentro do ciclo biogeoquímico do carbono.

Dentre as principais conseqüências da fotodegradação citadas na literatura, encontram-se: a mineralização<sup>2,3,4</sup> e a perda de absorvância da MOD.

É amplamente reconhecido na literatura que o decaimento da absorvância de luz é um processo mais rápido quando comparado com a mineralização, devido à presença de estruturas aromáticas e oleofínicas, principais constituintes dos cromóforos das SHA, partes mais afetadas pela radiação<sup>5,6</sup>. Pelas fato delas formarem parte importante do filtro protetor para os organismos aquáticos contra a poderosa e danificante radiação UV, o processo de perda de absorvância da MOD tem trazido considerável preocupação.

Assim, tanto a dependência espectral durante o tempo do processo de fotodegradação das SHA, quanto os parâmetros cinéticos desta, são importantes para o entendimento da distribuição e dinâmica da MOD e seu impacto no ambiente aquático.

O principal objetivo deste trabalho é a obtenção dos parâmetros da cinética da fotodegradação das SHA e a sua relação com as características estruturais obtidas mediante a técnica espectroscópica de ressonância magnética nuclear (RMN).

Este tipo de informação é essencial para determinar a contribuição da fotodegradação com a perda da MOD no meio ambiente, além de ganhar entendimento na natureza dos constituintes

cromóforos que originam o espectro amorfo típico das SHAs.

No presente estudo avaliou-se o efeito da radiação na região UV sobre as SHA provenientes do Rio Negro, rio característico da Bacia Amazônica por apresentar um alto teor de carbono orgânico dissolvido (4-14 ppm)<sup>7</sup>.

As amostragens ocorreram semestralmente durante o ano 2003 para avaliar a sazonalidade nas propriedades ópticas e estrutura das SHA correspondentes a duas épocas bem marcadas do ano: época de cheia (amostra de inverno) e época de seca (amostra de verão).

O ponto de amostragem escolhido situa-se à margem esquerda do Rio Negro-AM, entre as confluências dos Rios Tarumã Mirim e Tarumã Açu, a cerca de 20 km a oeste da cidade de Manaus-AM.

As SHA foram isoladas utilizando o procedimento recomendado pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas, baseado na percolação das amostras de água através da resina XAD 8<sup>8,9</sup>.

As amostras de SHA foram caracterizadas mediante espectroscopia de RMN em estado sólido <sup>13</sup>C. Os espectros foram obtidos a uma frequência de 100.58 MHz em um espectrômetro Varian (Unity 400), com a técnica de polarização cruzada e rotação no ângulo mágico (CP/MAS). O grau de aromaticidade foi estimado de acordo a metodologia proposta por Stevenson (1994)<sup>10</sup>.

A partir das amostras de SHA liofilizadas, foram preparadas soluções de 10 mg L<sup>-1</sup>, as quais logo foram submetidas a fotoirradiações com uma lâmpada de Hg-Xe, marca Hamamatsu, modelo Lightningcure 200, em um intervalo de emissão restrito entre 280 – 480 nm e com uma intensidade máxima centralizada em 360 nm.

Os experimentos tiveram uma duração de 3000 minutos, tempo durante o qual foi monitorado o processo com a espectroscopia de UV-Vis, as condições foram temperatura e pressão ambiente e agitação constante. Foi monitorado o pH durante o desenvolvimento do processo.

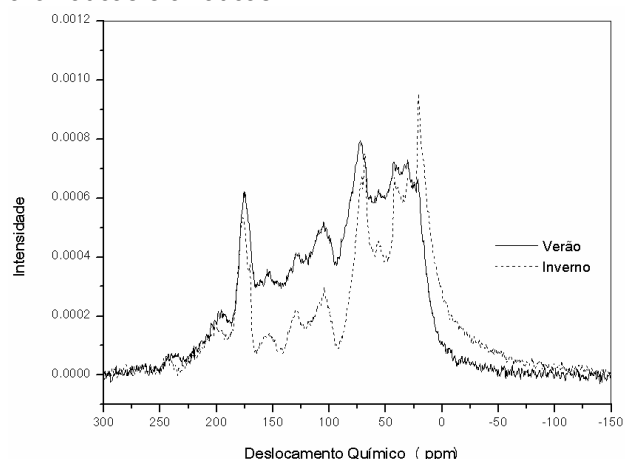
Com o intuito de avaliar o efeito da irradiação levantaram-se curvas em função ao tempo com os dados obtidos por espectroscopia de UV-Vis.

Os espectros de absorção foram adquiridos com um espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu Modelo 1601 PC com varredura de 800-200 nm.

Para a quantificação da concentração das SHA, foram usadas as absorvâncias aos comprimentos de onda  $\lambda=254$  nm (UV) e  $\lambda=360$  nm.

## Resultados e Discussão

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (CP/MAS) correspondentes as SHA das estações de verão e inverno do ano de amostragem 2003, mostradas na Figura 1, revelaram significativas diferenças estruturais nas áreas relativas as estruturas aromáticas e alifáticas.



**Figura 1** : Espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  CP/MAS de SHA de Amostras de Inverno e Verão do 2003

Na Tabela 1 são apresentadas estas diferenças, expressas em porcentagem de aromaticidade e alifaticidade, sendo que as amostras procedentes à estação de verão contêm 57% mais de estruturas aromáticas em relação às amostras de inverno. As primeiras correspondem à época de seca, onde é registrado o ponto mais baixo do nível das águas, época na qual não existe aumento no teor da matéria orgânica no rio. No entanto, as amostras de inverno, correspondem à época de cheia (meses de Junho e Julho), período no qual existe um alto índice de percolação de matéria orgânica, ingressando matéria orgânica fresca, fato refletido diretamente no maior grau de alifaticidade.

**Tabela 1**: Grau de aromaticidade e alifaticidade das amostras das estações de Verão e Inverno do 2003 obtidas por técnica de RMN.

% / Amostra	Inverno	Verão
Aromaticidade	13.70	23.72
Alifaticidade	86.30	76.28

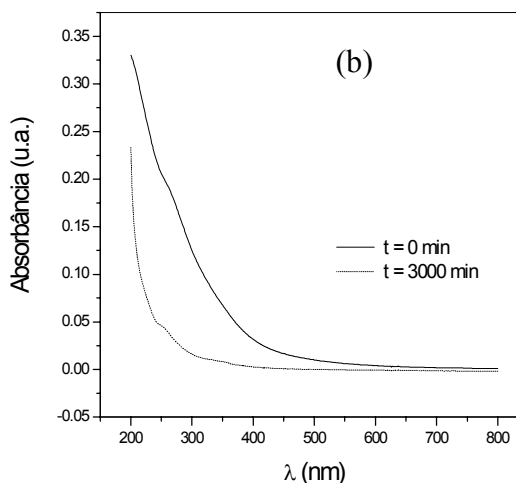
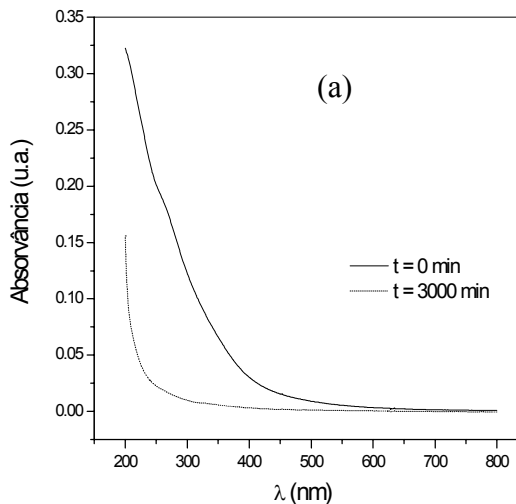
Uma vez caracterizadas as amostras foram submetidas a fotoirradiação. A fotodegradação resultante foi monitorada com a espectroscopia de UV-Vis. Na figura 2 são apresentados os espectros correspondentes aos tempos iniciais e finais do

processo para as amostras de verão e inverno, observando-se em geral uma perda global de absorvância mostrada pela variação do formato do espectro ao longo do intervalo de 200-800 nm.

De forma complementar foram avaliados dois comprimentos de onda significativos:

$\lambda_{254}$ : comprimento de onda característico das estruturas aromáticas-cromóforas presentes na matéria orgânica.

$\lambda_{360}$ : comprimento de onda de maior intensidade no espectro da lâmpada.



**Figura 2**: Mudanças observadas nas bandas de absorção das soluções (Concentração Inicial SHA=10 mg L<sup>-1</sup>).

a) Amostra de verão

b) Amostra de inverno

A quantificação desta perda em relação a absorvância inicial é apresentada na Tabela 2:

**Tabela 2**: Porcentagem de absorvância global durante a Fotoirradiação de 3000 minutos.

$\lambda$ (nm)	Perda de Absorvância %	
	254 nm	360 nm
Verão	94.33	91.29
Inverno	77.95	87.99

Da Tabela 2 pode se inferir que a perda mais significativa de absorvância corresponde à amostra de verão, a qual segundo resultados estruturais de RMN, tem um conteúdo maior de estruturas aromáticas, portanto maior teor de estruturas cromóforas, que são as mais afetadas pela radiação<sup>5,6</sup>.

A rápida diminuição de absorvância com o tempo de irradiação foi expressada nas variações das intensidades dos espectros de UV-vis, as quais deram origem a curvas de decaimento mostradas na Figura 3 correspondentes ao comprimento de onda de 254 nm. Estas curvas se ajustam a uma cinética de decaimento exponencial de primeira ordem (com um coeficiente de correlação médio de 0,99), a sua expressão matemática característica é a seguinte:

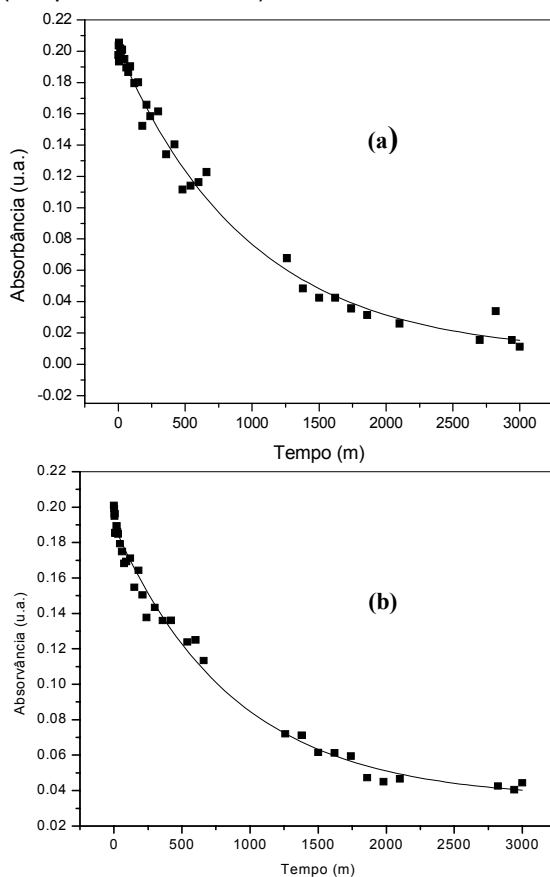
$$A_t = A_1 + B e^{-t/\tau} \quad (1)$$

Onde:

$A_1$ : representa a absorvância limite residual atingida após um período de irradiação superior a 3000 minutos

$B$ : representa a diferença entre a absorvância inicial  $A_0$  e a absorvância limite.

$\tau$ : é o tempo característico da curva de degradação (tempo de vida médio).



**Figura 3:** Ajuste de cinética de decaimento exponencial da absorvância a 254 nm  
a) Amostra verão  
b) Amostra inverno

Os parâmetros do ajuste à equação 1 se apresentam na Tabela 3:

**Tabela 3:** Valores empíricos dos parâmetros do ajuste da cinética a um decaimento exponencial de primeira ordem.

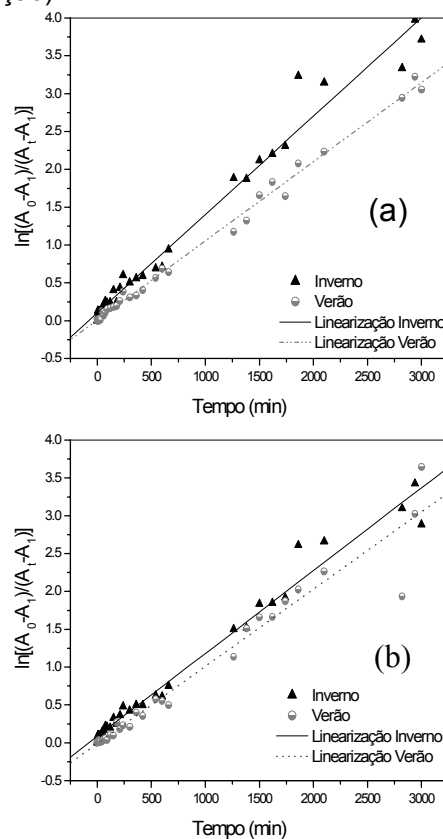
$\lambda$ (nm)	Amostra	$B$	$\tau$	$A_1$	$R^2$
254	Ver03	0.20	978	0.0061	0.99
	Inv03	0.15	880	0.035	0.99
360	Ver03	0.05	959	0.0023	0.99
	Inv03	0.05	740	0.0058	0.98

A informação relevante derivada da Tabela 3 mostra que o tempo de vida médio apresentado para as amostras de verão é mais longo em consequência do maior conteúdo de estruturas aromáticas (maior grau de humificação) mostrando uma maior susceptibilidade à fotoirradiação.

Sendo a equação 1 de primeira ordem, pode ser escrita na forma da equação de reta:

$$\ln [ B / ( A_t - A_1 ) ] = K \cdot t \quad (2)$$

Na figura 4 tem-se os gráficos que representam a equação 2, para as duas amostras em estudo nos comprimentos de onda 254 nm e 360 nm, e na tabela 4 tem-se os valores obtidos para a tangente  $K$  (velocidade do processo) e  $R$  (coeficiente de correlação).



**Figura 4:** Representação Logarítmica das curvas de fotodegradação.  
a)  $\lambda = 254$  nm  
b)  $\lambda = 360$  nm

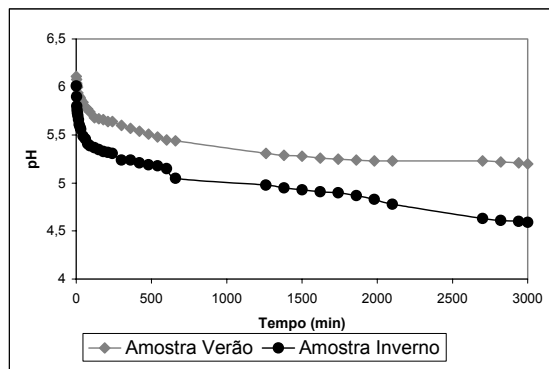
Onde a inclinação da reta K é diretamente proporcional à velocidade da reação.

**Tabela 4:** Velocidades do processo expressas no parâmetro cinético K.

$\lambda$ (nm)	Amostra	K	R
254	Verão	0.0010	0.98
	Inverno	0.0011	0.99
360	Verão	0.0010	0.99
	Inverno	0.0013	0.99

Os dados indicam que a amostra correspondente a estação de inverno sofre mais rapidamente fotodegradação causada pela radiação UV, quando comparada com a amostra de verão, sugerindo que o maior teor de estruturas alifáticas presentes (informação derivada de RMN) promove uma maior velocidade do processo, por ser estas estruturas mais facilmente degradáveis em relação às estruturas aromáticas e fenólicas apresentadas em maior quantidade na amostra verão.

Finalmente, o pH da solução também foi medido durante o processo de fotodegradação. Conforme é observado na Figura 5 o sistema sofre uma acidificação progressiva com o tempo, a qual pode ser explicada pela ocorrência de dois fenômenos paralelos, primeiro a formação de estruturas de baixo peso molecular (ácidos e radicais carboxílicos e fenólicos) e segundo a dissolução de oxigênio do ar no sistema, produzindo CO e CO<sub>2</sub> (como consequência da mineralização<sup>14</sup>), sendo o CO<sub>2</sub> dissolvido na água possivelmente na forma de ácido carbônico<sup>7,11</sup>.



**Figura 5:** Variação do pH com o tempo de fotodegradação

## Conclusões

Pode-se inferir que as diferenças nas perdas de absorvância globais se devem as diferenças estruturais e ao diferente teor de estruturas cromóforas nas amostras em estudo.

Os resultados dos parâmetros da cinética de fotodegradação são coerentes com a caracterização estrutural e o grau de aromaticidade das SHA, sendo que as amostras correspondentes a verão (época da seca) apresentam estruturas mais resistentes a fotodegradação quando comparadas com as amostras correspondentes a estação de inverno (época da cheia), com um maior teor de estruturas alifáticas, mais facilmente degradáveis.

## Agradecimentos

À Embrapa Instrumentação Agropecuária, ao Instituto de Química de São Carlos – USP, ao Instituto de Química da UNESP de Araraquara, ao Instituto de Pesquisa da Amazônia.

<sup>1</sup> Brinkmann, T et al, *Aquatic Science*, **2003**, 65, 415.

<sup>2</sup> Moram, M.A. Zepp, R.G., *Limnology And Oceanography*; **1997**, 42, 1307.

<sup>3</sup> Frimmel, F.H., *Environment International*, **1998**, 24, 559.

<sup>4</sup> Munster, U., *Environment International*, **1999**, 25, 209.

<sup>5</sup> Bracchini, L.; Cozar, A.; Dattilo, A. M.; Falcucci, M.; Gonzales, R.; Loiselle, S.; Hull, V.; *Chemosphere*, **2003**, 47, 1245.

<sup>6</sup> Del Vecchio, R.; Blough, N. V.; *Marine Chemistry*, **2002**, 78, 231.

<sup>7</sup> Patel-Sorrentino, N.; Mounier, S.; Lucas, Y.; Benaim J.Y.; *Science of the Total Environment*, **2004**, 321, 231.

<sup>8</sup> Thurman, E. M.; Malcolm, R. L.; *Environmental Science and Technology*, **1981**, 15, 463.

<sup>9</sup> Rocha, J. C.; Sargentini, E.; Toscano, I. A. S.; Rosa, A. H.; Burba, P.; *Journal Of The Brazilian Chemical Society*, **1999**, 10, 169.

<sup>10</sup> Stevenson, F. J.; *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*, **1994**, 2<sup>nd</sup> Ed. New York, J. Wiley,

<sup>11</sup> Mopper, K.; Zhou, X. I.; Kieber, R.; Kieber, D.; Sikorski, R.; Jones, R.; *Nature*; **1991**, 353, 60.

<sup>12</sup> Zhou, X.; Mopper, K.; *Marine Chemistry*, **1997**, 56, 201.

<sup>13</sup> Valentine, R.; Zepp, R.; *Environmental Science & Technology*, **1993**, 27, 409.

## **Índice de autores**



**2005**   
**Rio de Janeiro**  
*16 a 18 de novembro*



		Brito, Liziane de Figueiredo	48
<b>A-B</b>		Brum, Mariana Coutinho	201
Aguilar, Marco Antonio Galeas	9, 52	Bucher, Carlos A.	78
Alleoni, Luís R.F.	12	Budziak, Cristiane R.	104
Alves, Bruno	55	Busato, Jader G.	4, 7
Alves, Bruno J.R.	26, 68		
Antonio, Vanessa Zulueta	185, 223, 241	<b>C</b>	
Antunes, Felipe M.	217	Cabral, Lívia L.	7
Anzanello, Rafael	112, 140	Caíres, Eduardo Fávero	66
Baldotto, Marihus Altoé	4, 107, 189	Caliman, Daniele Ferraço	9, 52
Barreiro, Juliana Cristina	193	Cambroner, Yorleni C.	104
Barriqueello, Marcilene Ferrari	83, 97	Campos, David Vilas Boas	26, 55, 68
Basso, Luís Henrique	1	Canela, Maria Cristina	189
Bayer, Cimélio	112, 140, 223, 241	Canellas, Luciano Pasqualoto P-32, 4, 7, 23, 43, 60, 75, 107, 119, 158, 179, 189, 214, 245	
Beckman, Eduardo Henrique	177, 195	Canuto, Erineudo Silva	P-32, 43
Belizário, Maísa Honório	89, 133	Capelato, Milton Duffles	193
Bellin, Iramaia Corrêa	123, 217	Cardoso, Milton José	36
Benites, Vinicius de Melo	P-28, 87, 92, 101, 119, 195, 201	Carvalho, Eduarda R.	255
Berbara, Ricardo Luis Louro	29, 78, 249	Carvalho, João Luís Nunes	208
Bettiol, Wagner	89, 133	Carvalho, Wolmar Aparecida	46
Bisinoti, Márcia Cristina	253	Castilhos, Rosa Maria Vargas	109
Boddey, Robert M.	26, 68	Ceddia, Marcos	55
Boddey, Robert Michael	55	Ceretta, Carlos Alberto	P-1
Boeni, Madalena	112, 140	Cerri, Carlos C.	33, 64, 208, 210
Bonagamba, Tito J.	P-28	Coelho, Maurício. R.	177
Borato, Carlos Eduardo	33, 235, 208, 219	Colodette, Jorge	92
Borges, Rodrigo dos Santos	201	Conceição, Paulo Cesar	112, 140
Bortolon, Leandro	19	Coringa, Josias do Espírito	220
Bortoluzzi, Airtton Luiz	197	Costa, Carlos Augusto Cordeiro	73
Botero, Wander Gustavo	253	Cotta, Jussara Aparecida de	116
		Cunha, Tony Jarbas F.	P-28, 119

<b>D</b>			
		de Oliveira, Osvaldo Novais	235
da Conceição, Mauro	238	de Oliveira, Teógenes Senna	39
da Costa, Paula Fernanda Pinto	109	De-Polli, Helvécio	16
da Costa-Filho, Antonio J.	171	de Sá, Suzan da Silva L.	123
Dantas, Jussara Silva	36	de Souza, Carla D.	87
da Rocha, Wadson S.D.	12	de Souza, Francélio Pereira	36
da Silva, Alessandro Costa	127	de Souza, Sonia Regina	29, 78, 249
da Silva, Edgard Suzano	81	Dias, Bruno de Oliveira	89, 133
da Silva, Edmilson Evangelista	16	Dick, Deborah Pinheiro	109, 137
da Silva, Lúcia Gracinda	P-32, 43	Dieckow, Jeferson	112, 140
da Silva, Marcos R.	70	do Amaral, Graziela Camas Alves	165
da Silva, Ricardo Muñoz	19	Dobbss, Leonardo Barros	4, 214
da Silva, Wilson Tadeu Lopes	66, 119, 130, 147, 151, 161, 168, 171, 185, 205, 235, 241, 258, 266	dos Santos, Ademir	P-4, 165, 253, 258
da Silva Filho, Ademar Virgolino	1	dos Santos, Cleber Hilário	185, 223, 231, 241
da Silva Neto, Alexandre Machado	19	dos Santos, Henrique P.	238
David, Tiago M.	23	dos Santos, Iranildes Daniel	81
de Almeida, Márcia Pereira	227	dos Santos, Jeniffer Vanelle	143
de Almeida., Dejair Lopes	P-7	dos Santos, Larissa Macedo	147, 168
de Andrade, Vanessa Santos	P-32	dos Santos, Teresa Cristina R.	127
de Assis, Cristiane Pereira	197		
de Ávila, Letícia Gomes	137	<b>E-G</b>	
de Azevedo, Eduardo R.	P-28	Escaleira, Viviane	195
de Calais, Mariana L.	151, 161, 205	Espindola., José Antonio Azevedo	P-7
Dedecek, Renato A.	104	Façanha, Arnoldo Rocha	P-32, 23, 60, 75, 107
de Lima, Wallace Luís	29, 78, 249	Feigl, Brigitte J.	33, 208, 210
de Mello, Jaime Wilson Vargas	197	Fernandes, Andreia Neves	70, 155, 263
de Melo, Gabriel Maurício Peruca	48	Ferreira, Ademar de Oliveira	66
de Melo, Valéria Peruca	48	Ferreira, Julieta A.	171
de Melo, Wanderley José	48, 147, 185, 223, 231	Fialho, Lucimar L.	151, 161, 205
de Oliveira, João Ricardo	29	Folli, Fabricio Borghi	9, 52
de Oliveira, José Farias	81, 201	Fontana, Ademir	55
de Oliveira, Luciana Camargo	123, 165, 217, 253, 258	Frazão, Leidivan A.	33
		Galeti, Helder V. A.	185, 223, 241

Garcia, Carla M.	87	<b>M</b>	
Garcia, Sílvia dos Santos	19	Macedo, Manuel C. M.	140
García-Mina, JM <sup>a</sup>	P-24	Macedo, Robert	26, 68
Garzim, Bruno	46	Machado, Pedro Luiz Oliveira de Almeida	P-18, 26, 68
Giacomini, Sandro	143	Maciel, Daniely M.	57, 87
Giovanela, Marcelo	155, 263	Madari, Beáta Eموke	P-28, 101, 119, 177
Giroto, Eduardo	P-1	Maia, Claudia M.B.F.	104
Gomes, Ana Paula N.	70	Mangrich, Antonio Salvio	P-19, 104, 143
Gonzaga, Glaucia R.	158	Marques Júnior, Roberto Batista	P-32, 23, 43, 107
Goveia, Danielle	217	Martin-Neto, Ladislau	P-21, 66, 97, 112, 119, 130, 140, 147, 151, 161, 168, 171, 185, 193, 223, 231, 241, 255, 266
Guerra., José Guilherme Marinho	P-7, 16	Martins, Eucarlos de Lima	220
<b>H-L</b>			
Hansen, Hans Christian Bruun	193	Martins, Gilvan C.	177
Hatcher, Patrick G.	92	Martins, Marco Antonio	245
Hayes, Michael H.B.	P-10, P-28	Matos, Carlos Roberto Ribeiro	245
Hockaday, Willian C.	92	Mattias, Jorge Luis	P-1
Jablonski, André	19	Mattoso, Luiz Henrique Capparelli	235
Jr, Ézio Sargentini	258	Médice, Leonardo de Oliveira	23
Junior, Arthur P. da C.	57, 87	Melo, Washington L. B.	161
Knicker, Heike	137	Mendonça, André Gustavo Ribeiro	165
Kucerík, Jirí	101	Mendonça, Eduardo de Sá	39, 197
Landgraf, Maria Diva	116	Menegário, Amauri Antonio	260
Leite, Luiz Fernando Carvalho	36, 39	Messerschmidt, Iara	143
Lima, Eduardo	55	Mielniczuk, João	112, 14
Lima, Joni E.	75	Milori, Débora Marcondes Bastos Pereira	12, 97, 104, 119, 147, 151, 168, 171, 185, 205, 223, 231, 241, 255, 266
Lopes, Ana Nídia Cunha	36	Moraes, Maria Helena	46
Loss, Arcângelo	16	Moreira, Adônis	227
Lourenzi, Cledimar Rogério	P-1	Morselli, Tânia Beatriz	109

<b>N-O</b>			
Narimoto, Kelly Mayumi	104, 231, 241	Ribeiro, Kátia Araújo	39
Nascimento, Alessandra Firmino	235	Ribeiro., Raul de Lucena	P-7
Nascimento, Otaciro R.	171	Rios, Luciana da C.	238
Neves, Eduardo Almeida	83, 97	Rocha, Julio Cesar	123, 165, 253, 255, 258, 266
Nogueira, Aldo Ferrari	64	Rosa, André Henrique	123, 165, 217, 253, 258, 260
Novais, Roberto Ferreira	197	Roza, Aline G.	57, 87
Novotny, Etelvino H.	P-28, 119	Rumjanek, Victor Marcos	107
Nussio, Carla M. Bittar	64	<b>S</b>	
Olivares, Fábio Lopes	P-32, 23, 43	Sá, Sandra M. Oliveira	64
Oliveira, Andrea	83	Saab, Sérgio da Costa	66
Oliveira, Guilherme S.	217	Salami, Fernanda Helena	116
Oliveira, Leyser Rodrigues	48	Santos, Gabriel de Araujo	26, 29, 68, 78, 119, 179, 189, 249
Olk, Daniel C.	P-36	Santos, Leandro A.	78
<b>P-R</b>		Schiavo, Jolimar Antonio	245
Paneto, Rafaela de Oliveira	9, 52	Segnini, Aline	168
Pereira, Betânia Fraga	143	Serudo, Ricardo Lima	258
Pereira, Marcos Gervásio	16	Sierra, Maria Marta de	P-39, 70, 155, 263
Peres, Lázaro E. P.	75	Silva, Carlos Alberto	89, 133
Piccolo, Marisa de C.	33, 64, 208, 210	Silva, Cláudio Mudado	92
Pillon, Clenio N.	143	Silva, Soraya Teixeira	1
Pimenta, Alexandre Santos	92	Silveira, Carlos A. P.	143
Pinheiro, Érika Flávia Machado	26, 55, 68	Simões, Fábio Ruiz	130
Pino-Nunes, Lílian E.	75	Simões, Marcelo Luis	66, 119, 130, 147, 171
Ramiarina, Ernest	57, 87	Siqueira Neto, Marcos	33, 64
Ramos, Alessandro Coutinho	60	Soares, Emanuelle Mercês Barros	89, 133
Raposo, Thiago Picinatti	29, 249	Sonegheti, Sabrina	9, 52
Rauen, Thalita G.	263	Souza, Carlos Alberto Spaggiari	9, 52
Regitano, Jussara B.	12	Souza, Lucas F.	177
Reis Júnior, Roberto dos Anjos	19	Souza, Regina C. S.	57, 87
Rezende, Maria Olímpia Oliveira	116	Sperandio, Marcus Vinicius Loss	249
Ribeiro, Clóvis Augusto	165	Szpoganicz, Bruno	70

***T-Z***

Tarré, Ricardo	26, 68
Tavares, Rose Luiza Moraes	73
Tomazi, Michely	220
Tonello, Paulo Sergio	260
Tormen, Luciano	155, 263
Trentin, Eder Efrain	P-1
Trompowsky, Patrick Marques	92
Urquiaga, Segundo	26, 55, 68
Vaz, Carlos Manoel Pedro	130
Vaz, Samuel da S.	217
Velloso, Ary Carlos Xavier	7, 189, 214
Vieira, Renan Costa Beber	P-1
Weber, Oscarlina L. dos Santos	220
Zandonadi, Daniel Basílio	P-32, 23, 75, 107, 161
Zatorre, Natália Pereira	29, 78, 249
Zúñiga, Ursula Fabiola Rodríguez	266