

© dos autores

Capa: BossaMídia Ltda.

Composição e diagramação: Bruno Moser de Alvarenga

Revisão do português: Professoras Lúcia Goulart & Maria Cecília S. Silvestre

Esta obra encontra-se integralmente disponível no sítio eletrônico do Laboratório de Solos da UENF: <http://www.uenf.br/Uenf/Pages/CCTA/Lsol/>

ISBN 85 - 905835 - 1 -1

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF** 001/2005

Canellas, Luciano Pasqualoto

Humosfera : tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas / Luciano Pasqualoto Canellas e Gabriel Araújo Santos. – Campos dos Goytacazes : L. P. Canellas , G. A. Santos, 2005.

309 p.: il.

1.Solo 2. Matéria orgânica 3. Química do solo I. Santos, Gabriel de Araújo II. Tíluto.

CDD- 631.417

HUMOSFERA

Tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas

Luciano Pasqualoto Canellas
Ph.D. Laboratório de Solos - UENF

Gabriel de A. Santos
Ph.D. Departamento de Solos - UFRRJ

Editores

Prefácio

Reunimos aqui as notas das aulas ministradas no curso de *dinâmica da matéria orgânica, caracterização espectroscópica da matéria orgânica e efeitos fisiológicos de substâncias húmicas* no período compreendido entre 1985-2005, num primeiro tempo na Rural do Rio de Janeiro e, mais recentemente, na UENF de Darcy Ribeiro. Agradecemos a colaboração dos colegas que vem participando dessa caminhada. 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 entra na 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 essa nova seiva são as esferas dos laços indissolúveis entre Eros e Tanatos, ou seja, entre os vivos e os mortos em transformação, numa marcha da velha para a nova sociedade. É a humosfera.

L.P.C & G. de A. S.

Seropédica e Campos dos Goytacazes, primavera de 2005

Agradecimentos

CNPq (471910/2003-1)

FAPERJ – “Primeiros Projetos” (E26/170.526-2004)

International Foundation for Science (IFS-c:3391-1), Stockholm, Sweden

Organization for the Prohibition of Chemical Weapons (OPCW), The Hague, Netherlands

Essa obra foi parcialmente financiada pela bolsa de produtividade em pesquisa concedida pelo CNPq a L.P.C. & G. de A. S.

HUMOSFERA

Tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas

Conteúdo

Um: Extração, isolamento e análise de substâncias húmicas	13
Luciano P. Canellas; Fernando Guridi Izquierdo; Ary Carlos Xavier Velloso & Gabriel de Araújo Santos	
Dois: Modelos estruturais de substâncias húmicas	34
Luciano P. Canellas; Ary Carlos Xavier Velloso & Gabriel de Araújo Santos	
Três: Fracionamento da matéria orgânica humificada em solos brasileiros	54
Tony Jarbas Ferreira Cunha, Luciano P. Canellas, Gabriel de A. Santos & Lucedino Paixão Ribeiro	
Quatro: Energia e as substâncias húmicas	81
Nelson Garcés & Vitali Savich	
Cinco: Espectroscopia na região do ultravioleta e do visível	126
Luciano P. Canellas & Victor Marcos Rumjanek	
Seis: Espectroscopia na região do infravermelho	143
Luciano P. Canellas & Victor Marcos Rumjanek	
Sete: Ressonância magnética nuclear	160
Victor Marcos Rumjanek	
Oito: Pirólise acoplada à cromatografia gasosa e espectrometria de massas	185
Luciano P. Canellas	
Nove: Propriedades redox de substâncias húmicas	201
Marihus Altoé Baldotto, Luciano P. Canellas, Maria Cristina Canela & Ary Carlos Xavier Velloso	
Dez: Bioatividade de substâncias húmicas - ação sobre o metabolismo e desenvolvimento de plantas	224
Luciano P. Canellas, Daniel B. Zandonadi, Leonardo O. Médici, Lázaro E. P. Péres, Fábio L. Olivares & Arnaldo R. Façanha	
Onze: O uso e manejo da matéria orgânica humificada sob a perspectiva da Agroecologia	244
Luciano P. Canellas, Jader Galba Busato & David José Caume	
Doze: Fundamentos da química orgânica	268
Maria Raquel Garcia	
Treze: Referências Bibliográficas	287

Arnoldo Rocha Façanha - arnoldo@uenf.br
Ds. Química Fisiológica
Prof. Associado - Laboratório de Biologia Celular e Tecidual - UENF

Ary Carlos Xavier Velloso - velloso@uenf.br
Livre Docente - Química do Solo
Prof. Titular - Laboratório de Solos - UENF

Daniel Basílio Zandonadi - daniel@uenf.br
Ms. Produção Vegetal
Laboratório de Solos - UENF

David José Caume - caume@uol.com.br
Ds. Ciências Sociais
Prof. Universidade Federal de Goiás

Fábio Lopes Olivares - fabioliv@uenf.br
Ph.D. Ciência do Solo
Prof. Associado - Laboratório de Biologia Celular e Tecidual - UENF

Fernando Guridi Izquierdo - fguridi@ishu.edu.cu
Ph.D. Ciência do Solo
Prof. Assistente - Dep. Química da Universidad Nacional Agraria de La Habana

Gabriel de Araújo Santos - gasantos@ufrj.br
Ph.D. Ciência do Solo - Prof. Titular – Dep. Solos - UFRRJ

Jader Galba Busato - jbusato@uenf.br
Ms. Produção Vegetal - Laboratório de Solos - UENF

Lázaro Eustáquio Pereira Peres - lazaropp@esalq.usp.br
Ds. Ciências Biológicas
Prof. Dept. Ciências Biológicas ESALQ

Leonardo Oliveira Médici - lomedice@ufrj.br
Ds. Genética e melhoramento de plantas
Prof. Adj. Dept. Ciências Fisiológicas - UFRRJ

Lucedino Paixão Ribeiro - *in memoriam*
Prof. Titular –Dep. Geoquímica - UFBa

Luciano Pasqualoto Canellas - canellas@uenf.br
Ph.D. Ciência do Solo
Prof. Associado - Laboratório de Solos - UENF

Maria Cristina Canela - mccanela@uenf.br
Ds. Química Ambiental
Profa. Associada – Laboratório de Ciências Químicas - UENF

Maria Raquel Garcia - raquel@uenf.br
Ms. Química Orgânica
Profa. Associada – Curso de Farmácia de Campos - FMC

Marihus Altoé Baldoto - marihus@uenf.br
Ms. Ciência do Solo - Laboratório de Solos - UENF

Nelson A. Garcés - Nelsong@yahoo.com
Ph.D., Química
Prof. Titular - Depto. Química - Universidad Nacional Agraria de La Habana

Tony Jarbas Ferreira Cunha -tony@cpatsa.embrapa.br
Ph.D. Ciência do Solo.
Pesquisador EMBRAPA semi-árido

Victor Marcos Rumjanek – rumjanek@ufrj.br
Ph.D. Química Orgânica
Prof. Adjunto – Dep. Química - UFRRJ

Vitali Savich - *in memoriam*
Ph.D. Química Prof. Titular

HUMOSFERA

Tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas

Para Laís e Zacheu

E o vento dessa palavra é uma expansão da terra

(Helder, H. o corpo o luxo a obra. p.121)

c a p í t u l o 1

Isolamento, purificação e métodos químicos de análise de substâncias húmicas

Luciano P. Canellas
Fernando Guridi
Ary C. X. Velloso
Gabriel de A. Santos

O estudo das características químicas da matéria orgânica humificada requer o seu isolamento do ambiente natural. É uma imposição da filosofia da ciência: isolar a parte para compreender o todo. Situações complexas quando reduzidas à simplificação podem gerar modelos abstratos demais para explicar o real. As substâncias húmicas existem no solo, na água e nos sedimentos como um continuum da transformação do ciclo do carbono na Terra e não provavelmente como substâncias discretas com estrutura molecular definida. Essa impossibilidade não atrapalha, no entanto, a compreensão de sua função no ambiente, seu papel importante na regulação das propriedades e da vida do solo. Esse é o objetivo dessa unidade: acessar a funcionalidade química das substâncias húmicas para avaliar a sua capacidade de interagir com os outros elementos da pedosfera. Antes, porém, é realizada uma pequena revisão sobre os extratores de matéria orgânica do solo. Essa unidade foi baseada no texto original de Piccolo (1993). É recomendada a leitura do trabalho original.

Extração das substâncias húmicas

A caracterização das propriedades químicas das substâncias húmicas implica o seu isolamento e separação dos constituintes inorgânicos do solo, água ou sedimentos. O extrator ideal deve retirar completamente as substâncias húmicas sem alterar suas características e deve, ainda, ser usado em qualquer tipo de solo, água ou sedimento (Stevenson, 1994). Além destas características essenciais, é preciso adicionar mais duas: o extrator deve ser barato e não deve ser tóxico às pessoas e ao ambiente. Infelizmente tal extrator não existe. Não obstante, pode ser empregada uma série de diferentes extratores para obtenção de substâncias húmicas. O primeiro procedimento de que se tem notícia foi o de Archard em 1786 (de acordo com o levantamento de Stevenson, 1994), que, através do uso uma solução alcalina sobre uma turfa, obteve um extrato escuro que, depois de acidificado, produziu um precipitado amorfo e também escuro chamado ácido húmico (do latim: *humus*, terra). Na verdade, não se tinha uma solução¹ e sim, uma dispersão coloidal.

Os componentes apolares presentes na matéria orgânica do solo (MOS) podem ser extraídos com solventes orgânicos (hexano, acetato de etila, metanol) e os monômeros de unidades bioquímicas como os aminoácidos e açúcares podem ser obtidos através da hidrólise ácida (Schnitzer & Khan, 1978).

¹ Solução se refere a uma mistura homogênea

Soluções aquosas de base forte como NaOH, KOH ou Na_2CO_3 0,1 ou 0,5 mol L^{-1} na razão de solo: extrator de 1:5 até 1:10 (m/v) são eficientes para extrair substâncias húmicas do solo com um rendimento de até 2/3 do total da matéria orgânica quando usadas de forma seqüencial. A Tabela 1.1 mostra uma compilação dos diferentes extratores utilizados, os principais compostos extraíveis e uma estimativa de rendimento.

Tabela 1.1. Reagentes empregados na extração da matéria orgânica do solo.

Constituinte	Extrator	% de substância orgânica extraída
Substâncias húmicas	Base forte NaOH Na_2CO_3 Sal neutro $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ NaF Sal de ácido orgânico Quelato orgânico Acetilacetona 8-hidroxiquinolina Ácido Fórmico Acetona- H_2O -HCl	até 80% até 30% até 30% até 30% até 30% até 30% até 55% até 55% até 20%
Compostos hidrolizáveis Amino ácido Aminoácidos Carboidratos	HCl 6 M H_2SO_4 1M	25-45% 5-25%
Compostos bioquímicos ligados à fração argilosa	HF	5-10%
Compostos bioquímicos livres	H_2O , álcool 80%, acetato de amônio	1%
Graxas, ceras e resinas	solventes orgânicos	2-6%

Adaptado de: Stevenson, F.J. *Humus chemistry*. Wiley, 1994. p.35.

Dante da grande diversidade de procedimentos, a International Humic Substances Society (IHSS) recomenda como extrator padrão o NaOH na concentração de 0,5 ou 0,1 mol L^{-1} . A metodologia encontra-se descrita no endereço eletrônico da IHSS (<http://www.ihss.gated.edu>) e um resumo é apresentado a seguir.

O tratamento prévio das amostras de solo com HCl diluído remove Ca^{2+} e outros cátions polivalentes, aumentando a eficiência de extração da solução alcalina. Em solos mais intemperizados, com menor conteúdo de bases, o uso de ácido fosfórico (H_3PO_4 xaroposo, 2 mol L^{-1}) parece ser mais eficiente, já que a capacidade de complexação de Al^{3+} e Fe^{3+} pelo fosfato é aumentada. No entanto, essa possível incorporação de fósforo nas substâncias húmicas não é desprezível e deve ser levada em conta, principalmente nos estudos relacionados à estrutura e a dinâmica do P orgânico do solo (Francisco *et al.*, 1998).

Esquema geral de extração de ácidos fúlvicos e húmicos sugerido pela IHSS:

- 1) Extração inicial com HCl 0,1 mol L^{-1} na razão 1:10 (m/v) (1 g : 10 mL) de terra fina seca ao ar com valor de pH ajustado entre 1-2. A suspensão é agitada por uma hora.

- 2) A separação do sobrenadante do resíduo é realizada por decantação (centrifugação a baixa velocidade). O sobrenadante é guardado para isolamento com resina XAD-8 (Extrato AF-1).
- 3) O resíduo é neutralizado com NaOH 1 mol L⁻¹ até pH 7,0 e adicionado NaOH 0,1 mol L⁻¹ sob atmosfera de N₂ na razão solo: extrator 1:10 (m/v).
- 4) A suspensão é agitada intermitentemente por pelo menos 4 horas sob atmosfera inerte de N₂. O sobrenadante é coletado através de decantação e/ou centrifugação
- 5) O sobrenadante é acidificado a pH~1 com HCl 6 mol L⁻¹ e a suspensão resfriada e mantida em repouso por 12-16 horas.
- 6) Os ácidos húmicos (precipitado) são separados dos ácidos fúlvicos (sobrenadante – Extrato AF-2) por centrifugação.
- 7) A fração ácidos húmicos é redissolvida adicionando-se um volume mínimo de KOH 0,1 mol L⁻¹ sob N₂. É adicionado KCl sólido até concentração 0,3 mol L⁻¹ e o sistema centrifugado em alta velocidade para remoção de sólidos suspensos.
- 8) Os ácidos húmicos são reprecipitados como no passo 5. O sobrenadante é descartado.
- 9) O precipitado de ácidos húmicos é resuspensão em HCl 0,1 mol L⁻¹ – HF 0,3 mol L⁻¹ em frasco plástico e agitado à temperatura ambiente por uma noite.
- 10) Os ácidos húmicos são centrifugados e repetido o tratamento com HCl:HF se o teor de cinzas permanecer alto (> 1%). Lavagem dos ácidos húmicos com HCl 0,01 mol L⁻¹.
- 11) Transferir os ácidos húmicos para membrana de diálise e realizar a diálise contra água deionizada até teste negativo com AgNO₃ ou até a condutividade elétrica da água não apresentar mudanças.
- 12) Os ácidos húmicos são secos por liofilização.
- 13) O sobrenadante do passo 2 é passado numa coluna de XAD-8 (0,15 mL de resina por grama de amostra de solo seco) com fluxo de 15 vol da resina por hora). O eluído é descartado, a coluna com ácido fúlvico adsorvido é lavada com água destilada (0,65 volume da coluna).
- 14) A coluna de XAD-8 é eluída com 1 volume da coluna de NaOH 0,1 mol L⁻¹, seguida de 2 a 3 volumes da coluna de água destilada
- 15) O eluído é acidificado imediatamente até pH~1 com HCl 6 mol L⁻¹ e adicionado HF até concentração final de 0,3 mol L⁻¹. O volume deve ser suficiente para manter os ácidos fúlvicos em solução.
- 16) Transferir o sobrenadante do passo 6 (AF-2) através da coluna de XAD-8 (1 mL de resina por grama de solo seco).
- 17) Repetir passos 14 e 15.
- 18) Combinar os eluídos em 15 e 17 e passar a solução através da resina XAD-8 numa coluna de vidro (volume da coluna deve ser 1/5 do volume da amostra). Lavar com água destilada (volume igual a 0,65 do volume da coluna).
- 19) Eluir com 1 volume da coluna com NaOH 0,1 mol L⁻¹ seguido de 2 volumes da coluna com água destilada. Passar através de uma resina de troca saturada com H⁺.
- 20) Liofilizar o eluído para recuperar os ácidos fúlvicos saturados com H⁺.

Tratando-se o extrato alcalino com HCl concentrado até pH~1, é forçada a precipitação da fração de massa molecular relativa e aparentemente mais elevada, os ácidos húmicos. A fração das substâncias húmicas que permanece solúvel representa os ácidos fúlvicos que são compostos por moléculas de massa molecular aparente mais baixa que os ácidos húmicos e com maior conteúdo de grupos funcionais ácidos. Por fim, as substâncias que não são extraídas do solo representam a fração humificada fortemente ligada à fração mineral do solo, e denominada humina. Os ácidos húmicos, fúlvicos e as huminas podem, então, ser classificados com base na solubilidade em meio ácido ou alcalino.

A solvatação dos grupamentos funcionais extraídos com solução de base forte diluída é devida

ao mecanismo de repulsão eletrostática das cargas negativas presentes nos grupos funcionais ácidos da estrutura molecular das substâncias húmicas. Esses grupamentos funcionais são dissociados no valor de pH da solução extratora (geralmente entre 11 e 13). Apesar da grande capacidade de extração da solução alcalina, é possível identificar algumas desvantagens associadas ao seu uso, como por exemplo: (i) a dissolução de sílica do material silicatado do solo representa um contaminante não indiferente da amostra de substâncias húmicas e (ii) a dissolução de biopolímeros de tecidos vegetais frescos e a sua incorporação junto ao material humificado. Foi postulado ainda que, em condições alcalinas, pode ocorrer a produção de artefatos na estrutura molecular do material humificado através da possibilidade de ocorrência de reações de auto-oxidação e de condensação entre grupos nitrogenados dos aminoácidos e grupos carboxílicos, aldeídos aromáticos e compostos do tipo quinonas, que podem dar origem a compostos similares aos das substâncias húmicas. Krosshavn *et al.* (1992) avaliaram o efeito da extração com NaOH das diferentes frações humificadas através da técnica de RMN ^{13}C (que será discutida mais adiante no capítulo 7) e não observaram alterações significativas nas principais regiões do espectro. Além disso, como pode ser observado na Figura 1.1, a soma dos espectros da fração ácidos húmicos, fúlvicos e huminas corresponde ao espectro obtido da matéria orgânica do solo sem a extração, isolamento e purificação das substâncias húmicas. Esses dados corroboram e validam o uso do fracionamento químico como uma ferramenta para análise qualitativa da matéria orgânica.

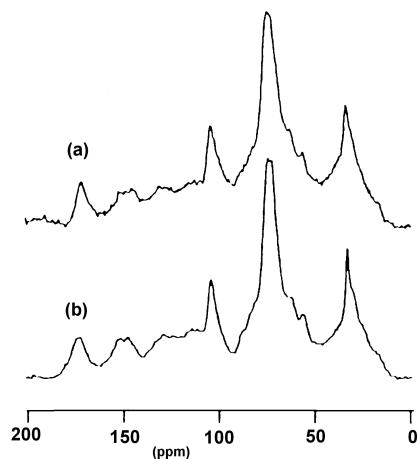


Figura 1.1. Espectro de RMN ^{13}C CP/MAS da matéria orgânica do solo sem extração (a) e da soma dos espectros dos ácidos húmicos, fúlvicos e huminas (b). Dados obtidos de Krosshavn *et al.* (1992).

Uma maneira amplamente adotada para a diminuição dos riscos de ocorrência de reações de autocondensação consiste em realizar a extração da matéria orgânica sob atmosfera de N_2 . A troca da atmosfera livre por uma inerte diminui a possibilidade de reação com o O_2 dissolvido na solução. O borbulhamento da solução alcalina por 15 min é suficiente para reduzir a concentração de O_2 livre na solução. Tan *et al.* (1991) não observaram efeitos importantes do uso da atmosfera inerte sobre as características espectroscópicas de ácidos húmicos. A Figura 1.2 mostra espectros de RMN ^{13}C obtidos no estado sólido de ácidos húmicos isolados em atmosfera livre e em N_2 . Note que as mudanças observadas não são evidentes.

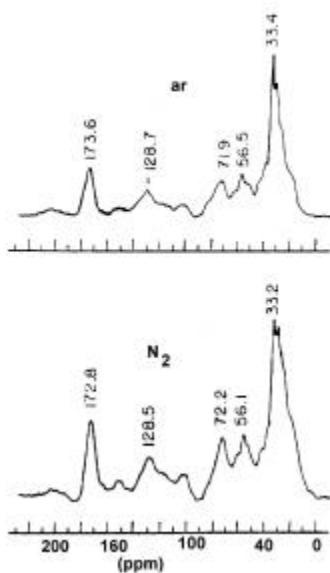
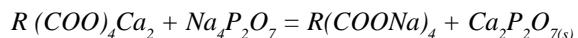


Figura 1.2. Espectro de RMN ^{13}C CP/MAS de ácidos húmicos extraídos de solo de clima temperado com $\text{NaOH}\ 0,1\ \text{mol}\ \text{L}^{-1}$ sob atmosfera livre (ar) e atmosfera inerte (N_2). Adaptado de Tan *et al.* (1991).

Durante o isolamento de substâncias húmicas uma estratégia desenhada para evitar possíveis artefatos na estrutura química do material húmico, consiste no uso de sais neutros que são extractores mais suaves. Por isso, tais extractores apresentam uma eficiência de extração bem menor do que a da base forte. O pirofosfato de sódio a pH 7 vem sendo usado como agente complexante de cátions polivalentes que, pela formação de complexos insolúveis, permite a solubilização das SH de acordo com a reação:



O uso do pirofosfato pode diminuir o fenômeno da auto-oxidação mas extraí material húmico com um conteúdo maior de silício e ainda incorpora unidades de fosfato nas estruturas das substâncias húmicas (Franciosso *et al.*, 1998).

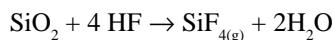
O colóide de substâncias húmicas pode ser fácil e rapidamente extraído com uma mistura de HCl diluído e solvente dipolar aprótico como acetona, dimetilssulfóxido ou dimetilformalamida. O mecanismo de extração é baseado na protonação da substância húmica pelo HCl ao mesmo tempo em que é deslocada a ligação H intermolecular das substâncias húmicas pelo átomo fortemente eletronegativo do solvente dipolar aprótico. Desse modo, as substâncias húmicas são separadas pelo fenômeno da partição química. É possível diminuir consideravelmente a quantidade de sílica removida junto com as substâncias húmicas. É, também, obtida uma fração húmica que, devido ao mecanismo envolvido no seu isolamento, apresenta características químicas mais homogêneas e dimensões moleculares menores do que as obtidas com outros extractores (Piccolo *et al.*, 1990). A mistura ácido-acetona é facilmente separada com um evaporador rotativo em baixas temperaturas. Esse método de extração é utilizado para estudos de frações com humificação recente. As desvantagens associadas ao emprego da mistura ácido – solvente dipolar aprótico consistem no baixo rendimento de extração, alto custo, riscos de contaminação e acidentes com

solventes orgânicos de manipulação não muito comum num laboratório de solos, e as características funcionais distintas das obtidas com o solvente preconizado pela IHSS.

As quantidades e as características das SH extraídas com os extratores mais comuns como NaOH e $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, e a distribuição de ácidos húmicos e fúlvicos variam consideravelmente de acordo com o tipo de solo ou de resíduo orgânico avaliado. Resultados obtidos com solos de clima subtropical sugerem que o $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ pode extrair substâncias húmicas de massa molecular média maior do que as extraídas com NaOH (Dick & *et al.*, 1999). Quanto ao tempo de extração, a Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas padronizou o tempo em 12 horas. No entanto, os autores citados anteriormente verificaram que, com quatro horas de extração, foram isolados 90% das substâncias húmicas alcalino solúveis foram isolados tanto com base forte como com o sal neutro a pH 7.

Purificação das substâncias húmicas

As substâncias húmicas extraídas do solo apresentam, normalmente, uma quantidade elevada de impurezas inorgânicas (que podem chegar em alguns casos até 50%), que devem ser eliminadas antes dos estudos de caracterização. Uma redução considerável dessas impurezas inorgânicas é obtida através de redissoluções e reprecipitações sucessivas, modificando-se o pH da suspensão. Particularmente eficiente é o tratamento do extrato com solução diluída da mistura de ácido clorídrico e fluorídrico. Tal eficiência é devido à capacidade do HF de dissolver os minerais argilosos, formando um complexo gasoso com o Si e, também, complexar os cátions polivalentes solúveis (e.g., AlF_6^{3-} , FeF_5^{2-}) que são liberados pela dissolução do silicato conforme a reação esquemática:



Depois, a suspensão é tratada com uma resina de troca de cátions na forma protonada, reduzindo o teor de cinzas a menos de 1%. No entanto, este método de purificação provoca perdas de material húmico. Foi observada, também, uma diminuição da massa molecular média das substâncias húmicas depois da purificação (Piccolo, 1988).

De acordo com Piccolo (1988), a separação de impurezas orgânicas (principalmente biopolímeros), extraídas juntamente com as substâncias húmicas e não ligadas covalentemente à estrutura, pode ser realizada com uso de solventes orgânicos *e.g.*, álcool (para extrair graxas) ou água quente (para extrair polissacarídeos). Os biopolímeros ligados através de ligações covalentes podem ser eliminados pelo tratamento de hidrólise ácida com HCl 6 M mediante refluxo. Porém, este tratamento provoca perdas consideráveis de material húmico e alterações significativas na sua estrutura. Todavia, a hidrólise ácida não tem efeito relevante sobre o conteúdo de carbono e hidrogênio e de grupos ácidos dos ácidos húmicos, bem como, sobre a razão E_4/E_6 (razão entre a absorbância de uma suspensão de ácidos húmicos ou fúlvicos em 465 nm e 665 nm), que representa um índice de dimensão molecular (uma discussão sobre a razão E_4/E_6 pode ser vista no capítulo 5). Porém, os efeitos sobre os ácidos fúlvicos são bastante drásticos durante a hidrólise ácida com perdas de acidez total, devido às reações de descarboxilação. A purificação dos ácidos fúlvicos dos contaminantes orgânicos é, eficientemente, realizada através da resina macroreticulada de adsorção seletiva, como a de polivinilpirrolidona ou a XAD-8 resina macrorreticulada acrílica não iônica. Condicionando a coluna de resina a um pH ácido (com percolação de HCl diluído) e fazendo-se eluir a solução ácida de ácidos fúlvicos sobre a resina, ocorre a adsorção hidrofóbica

da fração humificada enquanto que os biopolímeros permanecem hidrofílicos e são eluídos facilmente. Os ácidos fúlvicos são posteriormente eluídos com uma solução alcalina diluída.

Análise elementar e caracterização de grupos funcionais oxigenados

A química das substâncias húmicas no solo é, ainda, muito pouco compreendida apesar do longo tempo de pesquisa na área. Sua compreensão é o maior desafio colocado hoje para a Química do Solo (Sparks, 2001). As substâncias húmicas desempenham uma função importante no ambiente e contempla: efeito sobre estrutura do solo, formação de quelatos com metais pesados, adsorção de pesticidas e outros contaminantes tóxicos e efeitos sobre o processo de assimilação de nutrientes pelos vegetais.

A descrição desses fenômenos exige um detalhamento estrutural das substâncias húmicas para que se possa delimitar os marcos da química das substâncias húmicas. Pode-se indicar que a reatividade das substâncias húmicas e, também, o seu comportamento em faixas de reação é devida à sua polifuncionalidade (diversidade de grupos funcionais) e flexibilidade estrutural (não se chegou, ainda, a um consenso sobre o que seria a sua estrutura; uma discussão sobre os modelos estruturais é colocada no capítulo 2).

A análise da composição elementar das substâncias húmicas providencia informações sobre os seus principais elementos constituintes. A Tabela 1.2, adaptada de Rice & MacCarthy (1991), mostra que os principais elementos presentes nas substâncias húmicas são o carbono e o oxigênio. O conteúdo médio de C nos ácidos húmicos é de 55,1%, o de O é de 35,6%, o de H é de 5,0% e o de N de 3,5%. Uma série de trabalhos com ácidos húmicos de clima tropical (Bravard & Rhrigi, 1991; Canellas *et al.*, 2002a, 2002b, 2004) tem apresentado valores de C menores do que a faixa indicada e muito próximos da faixa normalmente encontrada para ácidos fúlvicos, que varia de 35 a 75% (Tabela 1.2). Já o conteúdo de O nos ácidos fúlvicos varia entre 17-55,8%. Os ácidos fúlvicos apresentam um conteúdo menor de C e N e uma quantidade maior de O do que os ácidos húmicos. A análise elementar das substâncias húmicas resulta na ordem de grandeza C>O>H>N>S>P e é rápida e facilmente determinada através de analisadores elementares disponíveis comercialmente. O conteúdo de O é, normalmente, determinado pela diferença entre 100 e o conteúdo de C,H,N determinados diretamente. Os resultados devem ser corrigidos para umidade (medida após a secagem das amostras até massa constante a 65°C) e pelo conteúdo de cinzas residuais (determinado pela queima da amostra em mufla a 700°C por 6 a 8 horas) conforme equação abaixo:

$$\% \text{ corrigido} = \frac{\% \text{ original} \times 100}{100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ cinzas})}$$

A composição elementar é a propriedade mais estável e fundamental das substâncias húmicas. Rice & MacCarthy (1991), através da análise da composição elementar, conseguiram discriminar ácidos fúlvicos, húmicos e huminas e suas diversas origens (solo, água, turfa e ambiente marinho), revelando uma estreita relação entre o processo de formação das substâncias húmicas e a distribuição relativa dos átomos que as compõem.

A partir da análise da composição elementar, van Krevelen (1961) desenvolveu um método gráfico para estudar o processo de formação do carvão, no qual a razão atômica H/C (obtida através da razão entre a concentração do átomo pela sua massa atômica *e.g.* H/1 ÷ C/12) é descrita como uma função da razão atômica O/C. Esse tipo de gráfico é conhecido agora como diagrama de van Krevelen, e é usado para classificação de carvão e de querogênios.

Tabela 1.2. Composição elementar média das substâncias húmicas (%).

Elemento	Ácidos Fúlvinos		Ácidos Húmicos		Huminas	
	Média	Faixa	Média	Faixa	Média	Faixa
C	46,2	35,1-75,70	55,1	37,18-75,76	56,1	48,29-61,60
O	45,6	16,9-55,85	35,6	7,93-56,60	34,7	28,80-45,12
H	4,9	0,43-7,90	5,0	1,64-11,68	5,5	14,2-7,28
N	2,5	0,45-8,16	3,5	0,50-10,54	3,7	2,90-6,01
S	1,2	0,10-3,60	1,8	0,10-8,30	0,4	0,10-0,90
H/C	1,3	0,77-2,13	1,1	0,08-1,85	1,17	0,82-1,72
O/C	0,76	0,17-1,14	0,5	0,08-1,20	0,46	0,37-0,61

Adaptado de Rice & MacCarthy. *Org. Geochem.*, 17:635-648, 1991.

O diagrama de van Krevelen é, freqüentemente, usado para ilustrar mudanças na composição elementar de substâncias húmicas durante as alterações na geoquímica do ambiente. Huc & Durand (1977) aplicaram o método gráfico para analisar a diagênese de substâncias húmicas e Kuwatsuka *et al.* (1978), para comparar a composição elementar de ácidos húmicos com compostos precursores (biopolímeros vegetais) e compostos mais evoluídos (carvão). A Figura 1.3 A mostra o diagrama de van Krevelen para substâncias húmicas (compilado de Rice & MacCarthy (1991) que analisaram 640 amostras de substâncias húmicas nos mais diversos ambientes). Já a Figura 1.3B mostra o diagrama para ácidos húmicos isolados do horizonte superficial de seis diferentes solos do Estado do Rio de Janeiro. Pode-se inferir que, com o aumento do grau de humificação dos ácidos húmicos, aumentam as reações de descaboxilação e demetilação. Por outro lado, diminuem as reações de oxidação.

A magnitude da relação H/C pode, também, ser usada para uma avaliação indireta das propriedades estruturais de substâncias húmicas além inferências sobre a qualidade e o uso do solo. Um grau mais elevado de aromaticidade ou de insaturação leva a valores relativos de H/C menores.

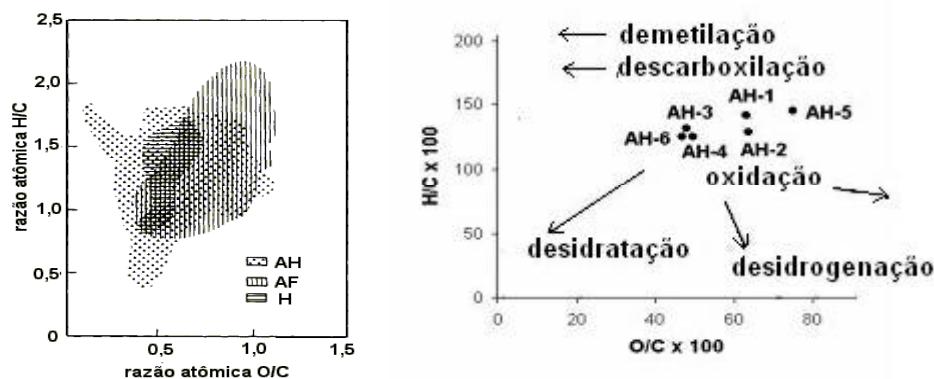


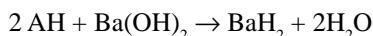
Figura 1.3. A: Diagrama de van Krevelen para ácidos fúlvinos, húmicos e huminas (Adaptado de Rice & MacCarthy. *Org. Geochem* 17 (5): 635-648, 1991). B: Principais reações envolvidas na humificação de ácidos húmicos isolados do horizonte superficial de seis solos do Rio de Janeiro de acordo com o modelo gráfico de van Krevelen. AH-1: Argissolo; AH-2 Luvissolo; AH-3 e AH4 Chernossolo; AH-5 Latossolo amarelo; AH-6 Neossolo

Da mesma forma, um grau elevado de alifaticidade deve levar a valores maiores para relação H/C. Não obstante, essa avaliação indireta da aromaticidade-alifaticidade deve ser realizada com cautela, uma vez que insaturações presentes em grupos carboxílicos e carbonilas primárias são levados em conta para o estabelecimento da relação H/C, mas não estão envolvidos na aromaticidade/alifaticidade das substâncias húmicas. A análise da relação atômica é qualitativamente útil dado o elevado grau de correlação ($r^2 = 0,85$) com os valores de aromaticidade avaliados por outros métodos, salvo algumas exceções (Perdue, 1989).

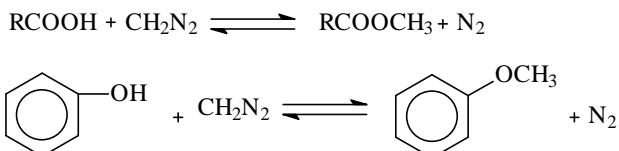
Análise de grupamentos funcionais

A análise dos grupamentos funcionais permite avaliar a reatividade das substâncias húmicas. A natureza complexa das substâncias húmicas é derivada diretamente do grande número de diferentes grupos funcionais presentes na sua estrutura. Ácidos policarboxílicos mostram uma série de constantes de dissociação que diminui à medida que os H^+ vão se dissociando. Os fenóis substituídos apresentam-se pouco mais dissociados que os não-substituídos. Talvez algum outro grupo ácido seja pouco dissociado e reativo devido à formação de pontes de H^+ inter e intramoleculares e a proteção devido a fatores estéricos. Outra dificuldade na determinação quantitativa dos grupos funcionais são: pequena solubilidade dos ácidos húmicos em água ou em solventes orgânicos, a ocorrência de reações paralelas e a natureza não estequiométrica das reações utilizadas para avaliar acidez.

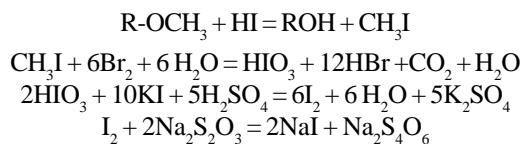
A acidez total das substâncias húmicas é normalmente determinada indiretamente fazendo-se reagir uma amostra de substância húmica com excesso de hidróxido de bário a pH próximo de 13 de modo a permitir a dissociação de todas as funções químicas, mesmo as mais fracas, fazendo precipitar o sal húmico de bário. O excesso de base que não participa da reação é titulado com HCl. Com a diferença obtida com a titulação de uma amostra em branco ($Ba(OH)_2$, sem amostra de substância húmica), é determinada a acidez total:



Os resultados obtidos com este método são muito variáveis e subestimados devido à carbonatação da solução de hidróxido de bário. O CO_2 atmosférico, em equilíbrio com a solução, subtrai OH titulável para a formação de carbonato de bário. Pode-se determinar diretamente a acidez total das substâncias húmicas através da titulação do H^+ com base forte a pH 7 ou 7,5. Piccolo & Camici (1990) determinaram a acidez da substância húmica diretamente por titulação potenciométrica eluindo-as numa resina de troca protônica e os dados foram confrontados com os obtidos pelo método do $Ba(OH)_2$. A acidez determinada com este último método é sempre maior do que aquela obtida por titulação devido, provavelmente, à incompleta protonação do material húmico que atravessa a resina. Outro método possível de ser utilizado para a determinação de acidez total implica numa estimativa dos grupos metoxilas (OCH_3) que vão se formando durante a metilação da substância húmica com diazometano (CH_2N_2), conforme reação a seguir:

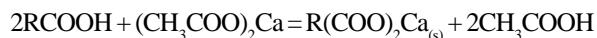


O diazometano reage com o H⁺ ácido de muitos grupos funcionais como COOH, OH fenólico e enólico e grupos N-H. Nesta técnica, o CH₃ é separado do oxigênio da metoxila, através do tratamento com HI dissolvido numa solução de fenol, de acordo com uma reação de substituição nucleofílica. O iodeto de metila (ICH₃) produzido é transportado numa corrente de arraste com N₂ numa solução contendo Br que vem produzindo a oxidação até ácido periódico (HIO₃). Este último reage com iodeto de potássio (KI) e o iodo se reduz a I₂ molecular, que é titulado com uma solução de tiosulfato de sódio (Na₂S₂O₃), utilizando-se amido como indicador, conforme a sequência de reação:



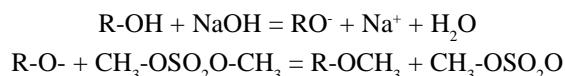
O diazometano apresenta o inconveniente de não metilar todas as funções H⁺ ácidas, tais como as presentes nos grupos OH unidos em ponte de hidrogênio intermoleculares. Além disso, podem ser produzidos artefatos tais como formação, na presença de metais pesados que agem como catalizadores, de cadeias polimetilênicas de diazometano. Os valores de acidez total por este método são sempre inferiores aos obtidos com o método do Ba(OH)₂.

O grupo carboxílico (COOH) é o principal determinante da acidez das substâncias húmicas e, geralmente, é estimado através do método do acetato de cálcio, que reage com H⁺ trocável da molécula húmica, de acordo com a reação:



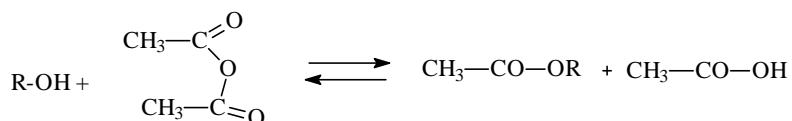
O ácido acético liberado durante a reação é titulado com uma base. O acetato de cálcio - (CH₃COO)₂Ca - reage com grupos OH ácidos superestimando a acidez e o número de grupos COOH. Além disso, a formação de um agregado húmico, através de pontes de cálcio intermoleculares, pode representar um “imbróglie” estérico para a troca de cálcio e o H⁺ do grupo carboxílico (mesmo estando facilmente disponível) fazendo, assim, uma subestimação do teor de COOH.

A determinação do número total de OH das substâncias húmicas é, geralmente, efetuada através da metilação com sulfato de metila ou, com uma acetilação com anidrido acético. A metilação com sulfato de metila (CH₃)₂SO₄ em solução alcalina produz um precipitado húmico, que pode ser analisado pelo método de Zeisel (AOAC, 1955). Somente grupos OH alcoólico e fenólico são metilados e não COOH. A reação é uma substituição nucleofílica sincronizada, de acordo com as reações:



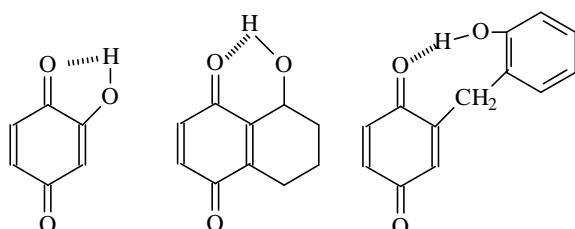
O dimetilsulfato é capaz de reagir com grupos fenólicos que não são bastante ácidos para reagir com o diazometano (CH₂N₂) e, por este motivo, vem sendo usado para determinar os grupos OH em pontes de hidrogênio. Todavia, a solução alcalina pode promover alguma alteração na estrutura das substâncias húmicas.

A acetilação de grupos OH com anidrito acético dissolvido em piridina se processa através da reação:



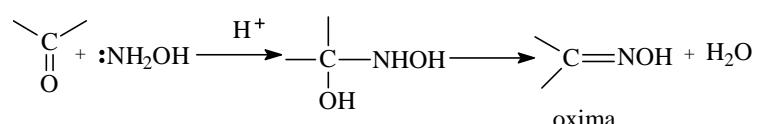
O éster produzido é separado de uma mistura de reação, hidrolizado numa base e o ácido acético liberado é destilado da mistura de hidrólise acidificada e, finalmente titulado com uma base. Esse método é muito fácil de se realizar em laboratório e os resultados são bastante reproduzíveis. Uma interferência pode acontecer devido à provável acetilação de grupos COOH superestimando o conteúdo de OH total. A quantidade de grupos OH pode ser estimada pela diferença entre a acidez total e o número de grupos COOH. Somente grupos suficientemente ácidos podem reagir com $\text{Ba}(\text{OH})_2$ e CH_2N_2 .

A determinação da acidez total do sistema hidroxiquinona com grupo OH em ponte de H No caso de metilação com diazometano (CH_2N_2) apresenta dificuldades pela incompleta metilação devida à estabilidade da estrutura do anel por meio de ligação H^+ .



Outro problema relacionado à determinação de OH fenólico resulta do fato de que certa quantidade de função alcoólica é obtida por diferença do número de OH.

Um método muito comum para a determinação de grupos carbonílicos totais (C=O) nas substâncias húmicas é baseado na formação de oxima, através da reação com hidroxilamina:



A hidroxilamina que não reage é determinada através da titulação com ácido perclórico ou através da polarografia. Uma superestimação do conteúdo de carbonilas acontece uma vez que a hidroxilamina pode reagir com outros grupos presentes no material húmico, v.g., grupo amino. Uma causa provável de subestimação acontece porque os grupos quinonas não reagem com a hidroxilamina quando em pontes de hidrogênio inter ou intramoleculares. O método descrito acima não distingue os diferentes tipos de carbonilas.

Uma estimativa da acidez carboxílica de substâncias húmicas pode ser obtida através da espectroscopia de infravermelho. Schiavo (2004) titulou a acidez carboxílica, extraída com acetado de cálcio, e verificou uma correlação significativa com a absorção de grupos C=O e COO^- de ácidos húmicos isolados de adubos orgânicos e de solos tropicais de floresta nativa e plantada

(Figura 1.4).

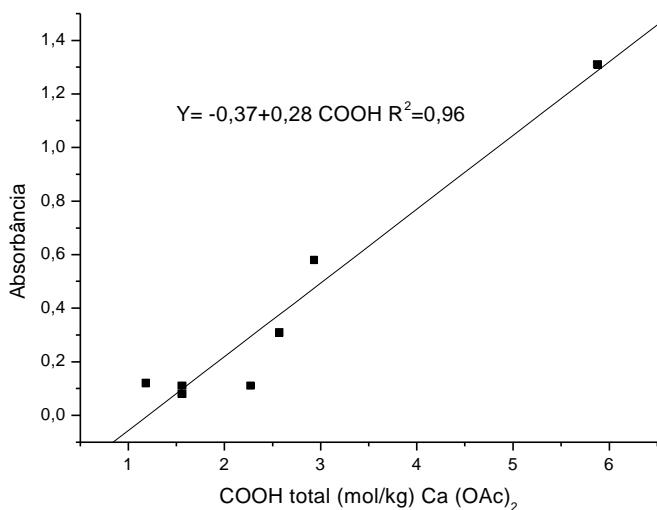
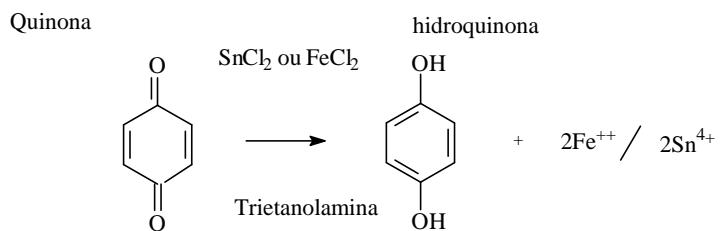


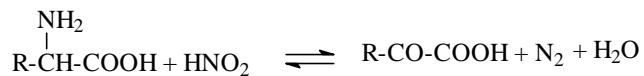
Figura 1.4. Correlação entre métodos de determinação de COOH por titulação ($Ca(OAc)_2$) e por infravermelho

As carbonilas quinônicas podem ser estudadas através de redução seletiva com cloreto de estanho II (SnCl_2) numa solução alcalina ou de FeCl_2 numa solução de trietanolamina, de acordo com o esquema:

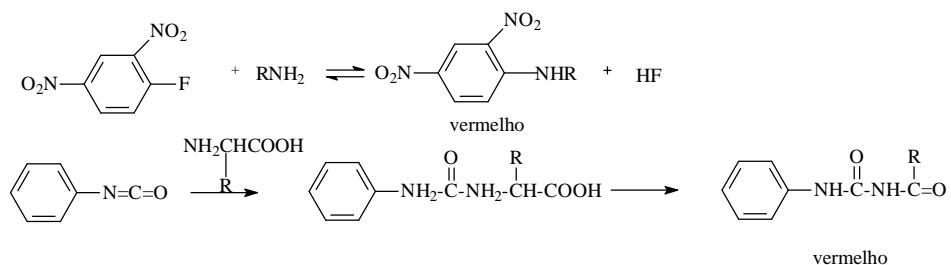


Em ambos os casos, a reação é efetuada em atmosfera de N₂ e o excesso de Sn²⁺ ou de Fe²⁺, titulado potenciométricamente com solução de dicromato de potássio.

Uma fração considerável de N nas substâncias húmicas (cerca de 30%) é formada pelos grupos amino livres. Este grupo pode ser determinado com o método do ácido nitroso:



Entretanto, a presença da lignina ou de outro composto fenólico interfere nesta reação, invalidando os resultados. Outro método inclui a formação do derivado fluorodinitrobenzeno e fenilisocianato, com formação de complexos vermelhos:



Somente este último método apresenta resultado satisfatório na determinação de grupos amino nas substâncias húmicas.

Os dados sobre o conteúdo de grupamentos funcionais nas substâncias húmicas devem ser interpretados com cuidado. Não só existe uma grande variedade de métodos de extração, fracionamento e purificação mas, também, uma miríade de métodos analíticos. Além disso, complicações adicionais são decorrentes da baixa solubilidade natural das substâncias húmicas em água. Quase todos métodos descritos até aqui requerem que as substâncias húmicas estejam solúveis. Na maioria das vezes, no entanto, elas se encontram no solo em estado sólido. Assim, qualquer discussão sobre propriedades químicas dos ácidos húmicos, fúlvicos ou huminas deve levar em conta seu comportamento em solução e em estado sólido. Se considerarmos as substâncias húmicas como um macro-íon ou um polieletrólio (uma discussão sobre modelos de estrutura das substâncias húmicas será levada a cabo na unidade 2), a quantidade e a distribuição de carga na molécula define e influencia o seu tamanho, forma e reatividade. De acordo com a postulação de Swift (1999), as substâncias húmicas têm de 4 a 8 grupos carboxílicos carregados (ou potencialmente carregados) para cada 1000 Dalton (Da) de massa, dependendo do grau de oxidação. Isso representa uma densidade de carga elevada para um eletrólito natural, e o desenvolvimento das cargas adquire um papel muito grande na determinação e existência de interações intra e intermoleculares. O outro componente determinante da solubilidade resulta de os macro-íons apresentarem flexibilidade estrutural, que permite uma expansão-contração de acordo com o grau de solvatação, que também é dependente das forças intra e intermoleculares. No primeiro caso, se todos os sítios de uma molécula húmica flexível estão dissociados (e isso pode acontecer no caso de uma concentração baixa de humato de sódio num eletrólito muito diluído, e em valores de pH neutro ou alcalino) ocorrem forças de repulsão entre as moléculas. A molécula se expande e se rearranja para minimizar seu conteúdo de energia eletrostática livre. Se mais eletrólito é adicionado ao meio, a repulsão eletrostática é diminuída e a molécula se contrai. Assim, uma mesma substância húmica pode ter valores diferentes de massa molecular dependendo do pH ou da força iônica do meio. A diminuição da repulsão eletrostática pode ser obtida através da adição de cátions di ou trivalentes. A adição de prótons pelo processo de acidificação tem o mesmo efeito, uma vez que as ligações formadas são fortes. Quando todos os sítios carregados eletricamente são neutralizados, a molécula flexível pode repelir o solvente e se contrair para um estado mais colapsado. Já na consideração dos efeitos intermoleculares na geração e comportamento das cargas, os fatores que controlam são muito semelhantes aos descritos acima, exceto que agora as forças de repulsão são entre moléculas diferentes. Quando as moléculas, em solução, são dissociadas, elas desenvolvem cargas de modo significativo. Quando estas moléculas carregadas se aproximam uma das outras, elas experimentam as forças de repulsão, que podem ser modeladas pela teoria da dupla camada. A extensão da dupla camada difusa pode ser diminuída tanto pela adição de eletrólito –aumento

da força iônica – como pela adição de cátions multivalentes. No limite, quando a concentração de sal (ou de cátions metálicos) for suficientemente alta, as forças eletrostáticas repulsivas são suprimidas e podem ser superadas pelas forças atrativas de curta distância. Nessas condições, várias associações moleculares (tais como coagulação, agregação, floculação) podem tomar lugar e, eventualmente, promover a precipitação das substâncias húmicas.

Qualquer tentativa de medir as propriedades químicas das substâncias húmicas em solução pode resultar em ilusão, incerteza ou anomalia. Os dados devem ser tratados com bom senso e sempre de forma relativa, comparando-se com alguma amostra de referência.

Experimental

Métodos quantitativos no estudo de grupamentos funcionais das substâncias húmicas.

Nas substâncias húmicas aparecem diferentes grupamentos funcionais, muitos dos quais são ionizáveis de acordo com o pH do meio. Nos vários estudos desenvolvidos para interpretar as diversas funções que desempenham as substâncias húmicas nos sistemas naturais, uma parte dos esforços são dedicados à quantificação dos grupamentos funcionais ionizáveis predominantes nessas substâncias.

Para avaliar as quantidades desses grupamentos funcionais podem-se utilizar métodos analíticos quantitativos tradicionais. Os grupamentos oxigenados e os nitrogenados têm sido os principais alvos da aplicação dos métodos quantitativos, pois intervém na estrutura das funções orgânicas que determinam as propriedades mais significativas das substâncias húmicas. A quantidade de grupamentos oxigenados, especialmente aqueles que manifestam características ácidas, constitui um dos critérios empregados para diferenciar ácidos húmicos dos fúlvicos.

Dada a complexidade da composição estrutural das substâncias húmicas, os valores obtidos nas determinações quantitativas desses grupamentos funcionais apresentam, via de regra, influência de outras funções orgânicas de natureza química semelhante, bem como, efeitos de substituições no composto onde aparecem e das interações intramoleculares ou intermoleculares.

Sabe-se, por exemplo, que nos ácidos orgânicos policarboxílicos, a dissociação em todas as carboxilas não acontece simultaneamente, verificando-se várias etapas de ionização, cada uma das quais apresenta um pK_a particular (que é maior segundo avança o grau de dissociação, o que significa que o caráter ácido diminui).

As quantidades relativas dos grupamentos funcionais que caracterizam a estrutura das substâncias húmicas modificam-se em função de diversos fatores. Logicamente, mesmo no caso dos solos, haverá diferenças que dependem do tipo de solo, da sua topografia, das condições climáticas, da vegetação, do manejo agrícola aplicado, das propriedades físicas, etc. (Canellas, 1999; Islam & Weil, 2000; Chukov, 2000; Lorenz *et al.*, 2000; Canellas *et al.*, 2001; Bayer *et al.*, 2002; Alvarez-Puebla & Garrido, 2005). Também quando se trata de materiais humificados de outras fontes (e.g. água, sedimentos, resíduos orgânicos) ocorrem variações em função do material original e das características do processo de humificação acontecido (Lamin *et al.*, 1998; Ruiz *et al.*, 1999; Landgraf *et al.*, 1999; Guridi, 2000).

A seguir aparecem os princípios básicos dos métodos quantitativos geralmente usados na caracterização da composição funcional das substâncias húmicas. Em geral os dados obtidos com um método não coincidem exatamente com aqueles oferecidos por outros métodos. Por isto, na caracterização quantitativa dos grupamentos funcionais das substâncias húmicas, é muito

importante esclarecer adequadamente qual foi a metodologia utilizada e não devem ser feitas comparações com outros trabalhos onde os procedimentos de avaliação tenham sido diferentes.

Métodos para avaliar a acidez

Acidez total

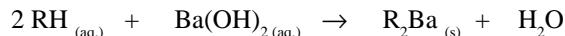
A acidez total é definida como o conteúdo de grupamentos carboxilas mais as hidroxilas de natureza ácida. Segundo Stevenson (1994), os procedimentos fundamentais para avaliar a acidez total das substâncias húmicas são: o método do hidróxido de bário, o procedimento de metilação e a reação com o diborano (B_2H_6). Esse autor também se refere à reação com $LiAlH_4$ como um procedimento potencialmente útil ao estudo das substâncias húmicas.

Método do hidróxido de bário ($Ba(OH)_2$) (Schnitzer & Gupta, 1965)

Do ponto de vista analítico, o método é classificado como uma titulação potenciométrica por retrocesso e consiste essencialmente no seguinte:

Um volume medido com exatidão (mínimo 20,0 mL) de uma dissolução aproximadamente 0,1 mol L⁻¹ de $Ba(OH)_2$ (pH > 13), adiciona-se numa amostra dissolvida que contenha uma massa conhecida de substância húmica (entre 50 e 100 mg) dentro dum frasco com tampa. O ar interior do frasco é substituído por N_2 e coloca-se a mistura em agitação por 24 horas à temperatura ambiente. Paralelamente, realiza-se o mesmo procedimento num outro frasco que apenas contenha um volume idêntico da dissolução do hidróxido de bário, para utilizá-lo como “branco”.

A reação química que ocorre entre as substâncias húmicas e o hidróxido de bário é a substituição dos H⁺ potenciais dos grupamentos ácidos pelo cátion Ba^{2+} , representada pela equação geral:



(considerando-se R como o resíduo duma macromolécula húmica que possui um H⁺ ionizável):

Neste método, assume-se que todos os humatos (os sais) de bário são compostos pouco solúveis (às vezes isto não é assim, introduzindo erros na análise). Uma filtração simples posterior, incluindo as lavagens necessárias do sólido retido no papel de filtro com água livre de CO₂ (lembre que o dióxido de carbono precipita como carbonato de bário quando está em contacto com o cátion Ba^{2+}) permite obter um filtrado onde fica o excesso de $Ba(OH)_2$ que não reagiu.

Procede-se, então, à titulação potenciométrica (utilizando-se o eletrodo de vidro como indicador e um eletrodo de calomelano como referência, ou, ainda, um eletrodo combinado) com uma dissolução padrão de um ácido forte (usualmente HCl em concentração entre 0,1000 e 0,5000 mol L⁻¹) até pH = 8,4 (Schnitzer, 1972). Essa titulação é feita tanto no frasco que contém a amostra quanto no branco.

Calcula-se a acidez total a partir da diferença do volume gasto do padrão nas titulações do branco (será o maior) e da amostra, pois quando multiplicada pela concentração do ácido é obtida a quantidade de substância do hidróxido de bário que reagiu com a massa de substância húmica utilizada. O resultado numérico obtido até aqui teria como significado (se os volume são reportados em mL) mmol (equivalentes) de grupamentos ácidos por unidade de massa de substância húmica avaliada (mg ou g) de acordo com a fórmula

$$\text{acidez total (mmol H}^+/\text{g de SH}) = (V_B - V_{SH}) \times C_A \times 1000 / m_{SH}$$

Na qual V_B e V_{SH} representam os volumes, em mililitros, da solução ácida padronizada usada para a titulação do branco e da amostra de substância húmica, respectivamente. C_A é a concentração do ácido em mol/L e m_{SH} é a massa de substância húmica (em mg) usada na titulação.

Daqui em diante, é possível transformar essa informação para outras unidades. Na literatura científica, deve-se reportar a massa em kg, pois é a unidade indicada pelo Sistema Internacional para essa grandeza. No caso da acidez total das substâncias húmicas a unidade mais frequentemente utilizada pelos autores é cmol kg⁻¹, embora também sejam encontrados dados em mmol kg⁻¹ de substância húmica (que serão 10 vezes superiores no valor numérico).

Em geral, o intervalo dos valores da acidez total em ácidos húmicos é inferior ao encontrado para os ácidos fúlvicos, tanto no caso dos oriundos do solo quanto dos obtidos a partir das diversas fontes de matéria orgânica compostada. Têm-se encontrado relações lineares entre os valores do coeficiente óptico E_4/E_6 e a acidez total das substâncias húmicas, especialmente nos ácidos húmicos. Com o aumento da acidez total, os valores deste coeficiente óptico diminuem. Pela sua simplicidade, o método descrito tem sido o mais usado pelos pesquisadores para a caracterização da acidez total das substâncias húmicas.

Processo de metilação

O diazometano (CH_2N_2) reage com uma grande variedade de funções orgânicas que possuam determinadas características ácidas. O método consiste em provocar a metilação dos grupamentos funcionais ácidos transformando-os em $-\text{OCH}_3$ mediante a reação com diazometano, trabalhando-se com uma massa exatamente conhecida da substância húmica que se deseja estudar. Além do produto metilado (humato de metila), é produzido N_2 gasoso. A seguir, executa-se a avaliação dos grupamentos $-\text{OCH}_3$ adicionados à estrutura húmica analisada, utilizando-se um método quantitativo tradicional (método de Zeisel). Esta análise química inclui várias etapas. Uma breve descrição dessas etapas apresenta-se a continuação.

Demetilação mediante reação com HI em meio fenólico como dissolvente: Obtém-se o iodeto de metila (CH_3I), que é extraído do meio mediante um fluxo de ar livre de CO_2 , e é recolhido em água de bromo, onde acontece a oxidação do iodeto até periodato, a redução do dibromo para brometo, e o carbono da metila oxida-se a dióxido de carbono gasoso.

Redução do periodato obtido em meio ácido: O ácido periódico que se forma em meio ácido se faz reagir com suficiente iodeto de potássio para reduzi-lo até I_2 . Posteriormente, titula-se com uma dissolução padrão de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), usando-se amido como indicador (titulação iodométrica). Mesmo assim, ainda o resultado não é definitivo pois inclui os possíveis grupamentos metoxilas ($-\text{OCH}_3$) existentes na estrutura antes do processo de metilação. Isto quer dizer que é necessário realizar um ensaio em “branco” com uma massa idêntica da substância avaliada, executando-se, segundo o descrito, a determinação desses grupamentos metoxila pré-existentes.

Neste procedimento, o produto da multiplicação do volume gasto de tiosulfato (que será a diferença entre o volume gasto na amostra metilada e na não-metilada ou “branco”) pela sua concentração é igual à quantidade de substância de grupamentos metilas incorporados na estrutura da substância húmica. Isto é a quantidade de grupamentos ácidos originais. Quando no referido cálculo utiliza-se o volume em mL, essa quantidade de substância obtida corresponde-se com mmol. Resta apenas dividir pela massa de substância húmica analisada, para poder reportar o valor da acidez total, sendo válidas as considerações expostas no caso do método do $\text{Ba}(\text{OH})_2$.

Como se comprehende, o procedimento da metilação tem maior complexidade que o método do

hidróxido de bário, requer maiores condições de trabalho laboratorial e consumo reagentes mais variados. Como já indicado anteriormente, os resultados obtidos mediante estes métodos não têm, necessariamente, que coincidir no valor numérico específico, mas sim as tendências e generalidades referidas para ácidos húmicos e ácidos fúlvicos, bem como as variações no estudo de diferentes tipos de solos, outros materiais orgânicos humificados, sistemas de manejo, etc.

Total de grupamentos carboxílicos (- COOH)

Dentre os grupamentos com características ácidas existentes na estrutura das substâncias húmicas, as carboxilas são as que apresentam valores de pK_a mais baixos (maior caráter ácido).

Método do acetato (Schnitzer & Gupta, 1965)

Este método está baseado na capacidade do ânion acetato, CH_3COO^- , de intercambiar o cátion acompanhante (normalmente Na ou Ca) pelo H^+ de outra substância de natureza ácida (ou que possua hidrogênios ionizáveis numa função carboxila) em meio aquoso. Como resultado da interação, forma-se o ácido acético (CH_3COOH), um ácido fraco. A quantidade de ácido acético produzido é titulada com uma base forte. Para a aplicação desse método às substâncias húmicas, procede-se aproximadamente como se indica a seguir:

Uma massa entre 50 e 100 mg da substância húmica que se deseja estudar é colocada em contato com um volume exato (geralmente 10,0 mL) de um sal de ácido acético (acetato de cálcio ou de sódio) de concentração 1 mol L^{-1} e 40 mL de água destilada livre de CO_2 , dentro de um frasco com tampa. Simultaneamente, procede-se da mesma maneira com um outro frasco que será o “branco”, e que somente se diferencia do anterior porque não contém a substância húmica. Essa mistura é agitada durante 24 horas à temperatura ambiente. Após a agitação, o conteúdo de ambos os frascos é filtrado e lavado (com água livre de CO_2) e os filtrados obtidos são titulados potenciometricamente (utilizando-se eletrodos iguais à titulação do método do hidróxido de bário) com uma dissolução padrão de uma base forte (frequentemente NaOH em concentração 0,1000 mol L^{-1}) até atingir um valor de pH igual a 9,8.

Para calcular a quantidade de grupamentos carboxilas (que teoricamente deve ser igual à quantidade de ácido acético titulado) multiplica-se a diferença entre os volumes gastos (volume gasto na amostra menos o volume gasto no “branco”) pela concentração da base padrão. Essa quantidade fica expressa em mmol se o volume estiver em mL, ou mol se for em L.

$$\text{Acidez carboxílica (mmol H}^+ / \text{g de SH}) = (V_{SH} - V_B) \times C_B \times 1000 / m_{SH}$$

Na qual V_{SH} e V_B representam o volume (mL) de base padrão usado para a titulação da amostra de substância húmica e da prova em branco, respectivamente, C_B é a concentração da base (mol/L) e m_{SH} é a massa de substância húmica, em miligramas.

Para reportar o conteúdo de grupamentos carboxila deve-se utilizar a mesma unidade que a acidez total. Isto é, haverá que dividir a quantidade de grupamentos carboxila pela massa de substância húmica analisada. Stevenson (1994) indica algumas críticas ao método descrito. Tais críticas consideram principalmente a possibilidade de intercâmbio de H^+ oriundos de outros grupamentos que não os carboxílicos, bem como, a provável formação de complexos de Ca^{2+} (caso fosse utilizado o acetato de cálcio) com grupamentos diferentes das carboxilas. Diante destas críticas, alguns autores têm proposto, por exemplo, extrair o ácido acético mediante destilação antes da sua titulação (não é necessária, então, a filtração) e utilizar sempre o acetato de sódio.

Embora apresente algumas limitações como as indicadas anteriormente, este método é muito simples, o que o torna o mais utilizado, e é válido para diversos fins das pesquisas segundo os objetivos que se pretendam atingir.

Celi *et al.* (1997) encontraram coincidência entre os valores das quantidades de grupamentos carboxilas quando comparados o método do acetato com os resultados obtidos apartir de métodos espectroscópicos. Evangelou *et al.* (2002) avaliaram a estabilidade dos complexos entre íons metálicos e frações humificadas usando métodos potenciométricos e espectroscópicos.

Processo de metilação

Para estimar a quantidade de grupamentos carboxila também pode ser aplicada a metilação seguida da saponificação para obtenção do estearato de metila ($R-COOCH_3$). Têm-se experimentado vários procedimentos, mas nem sempre se consegue um processo quantitativo, pois a saponificação é uma reação termodinamicamente reversível. Algumas variantes praticadas incluem a demetilação (perda da $-OCH_3$) para obter metanol (CH_3OH), e extração mediante destilação, para depois transformá-lo em formaldeído (através de uma reação com $KMnO_4$ diluído em meio básico), o qual finalmente avalia-se por um procedimento colorimétrico tradicional.

Além destes dois métodos descritos, outras alternativas podem ser empregadas para avaliar a quantidade de grupamentos carboxilas nas substâncias húmicas, tais como, método iodimétrico e a descarboxilação com quinolina. Essa última, especialmente útil para avaliar as carboxilas ligadas a anéis aromáticos, oferece dados semelhantes aos obtidos mediante o método da troca com os acetatos, o que foi interpretado como sendo consequência de que os grupamentos carboxilas predominam nas estruturas aromáticas das substâncias húmicas.

Total de grupamentos hidroxilas ($-OH$)

Para determinar as quantidades totais dos grupamentos hidroxilas, os métodos de metilação e de acetilação têm sido mais utilizados no estudo das substâncias húmicas.

A seguir, apresenta-se uma descrição resumida destes métodos e alguns comentários encontrados na literatura.

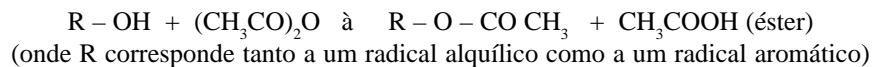
Método da metilação

Para executar a metilação, usa-se o sulfato de dimetila, $(CH_3)_2SO_4$. Este reagente somente provoca a metilação nos grupamentos hidroxilas fenólicas e alcoólicas. Quando esse procedimento é feito em meio alcalino, precisa ser realizado repetidamente, mas se o meio é excessivamente básico, podem acontecer reações colaterais. Outra alternativa para uma metilação menos drástica inclui: refluxar a substância húmica estudada com o sulfato de dimetila sobre carbonato de potássio sólido, usando-se acetona como dissolvente, ou substituindo a acetona pelo metanol (Leenheer & Noyes, 1989). Após se obter o precipitado metilado, realiza-se a avaliação das $-OCH_3$ mediante o procedimento de Zeisel, que foi exposto já ao tratarmos a metilação para a acidez total. Como dito lá, esse procedimento é trabalhoso e requer várias etapas até chegar à titulação iodométrica.

Método da acetilação

A acetilação aparece como a variante mais amplamente difundida na avaliação do conteúdo total de grupamentos hidroxilas. A reação é feita com o anidrido acético para formar ésteres de

acetato, e pode ser representada através da seguinte equação:



Uma massa conhecida da substância húmica (entre 50 e 100 mg) é refluxada durante 2 ou 3 horas com anidrido acético (aproximadamente 5 mL). Após esfriar a mistura, filtra-se o sólido e lava-se com água destilada. O material é seco com vácuo em ambiente contendo P_2O_5 . A seguir, uma parte do produto acetilado (pelo menos 50 mg) é refluxado com uma dissolução aquosa de NaOH (geralmente 25 ml em concentração 3 mol L⁻¹) durante duas horas em atmosfera de N₂. Paralelamente, realiza-se o mesmo procedimento, mas sem a amostra da substância húmica, para ter um “branco” ou referência. Finalmente, ao resultado do refluxado anterior adicionam-se 25 mL de dissolução aquosa de H₂SO₄ 3 mol L⁻¹ e 25 mL de água destilada. Esta mistura é destilada e posteriormente titulada com dissolução padrão de NaOH (de concentração próxima a 0,1000 mol L⁻¹). Serão obtidos dois volume do padrão: um deles correspondente à amostra (V_a) e o outro ao branco (V_b). O conteúdo de grupamentos acetilas é calculado segundo a expressão (Schnitzer, 1972):

$$\text{Conteúdo de Acetilas (C.A.) em cmol kg}^{-1} = (V_a - V_b) \times c(\text{NaOH}) \times 10^6 / m_{SH}$$

Onde, c(NaOH) = concentração do padrão de NaOH e m_{SH} = massa de substância húmica avaliada em mg. Depois se calcula o conteúdo de grupamentos hidroxilas segundo:

$$\text{Conteúdo de hidroxilas (cmol kg}^{-1}) = \text{C.A.} / 1 - (0,042 \times \text{C.A.})$$

Grupamentos hidroxilas fenólicas (fen-OH)

Na maioria dos trabalhos realizados com substâncias húmicas, o conteúdo de grupamentos hidroxilas ligadas a anéis aromáticos (fenóis) é estimado pela diferença entre a acidez total e o conteúdo de grupamentos carboxilas. Na verdade esse cálculo refere-se às hidroxilas de natureza ácida.

Um outro método que tem sido utilizado para avaliar as hidroxilas fenólicas é o método de Ubaldini que consiste em esquentar a substância húmica com KOH em meio alcoólico e depois borbulhar dióxido de carbono na mistura após esfriamento. Assume-se, neste método, que somente os sais potássicos oriundos dos fenóis reagirão com o CO₂ para formar carbonato de potássio, que é titulado posteriormente. Muitas críticas têm sido feitas ao método de Ubaldini pela pouca especificidade da reação e pelos riscos de processos colaterais durante o tratamento com o meio básico.

Métodos para avaliar outros grupamentos funcionais em substâncias húmicas.

Grupamentos hidroxilas alcoólicas (-OH ligado a radicais alifáticos)

O conteúdo de hidroxilas alcoólicas pode, também, ser estimado a partir de dados anteriores. Neste caso, o cálculo é feito com a diferença entre o conteúdo total de hidroxilas e o conteúdo de hidroxilas fenólicas (de natureza ácida). Porém, nem sempre esse procedimento oferece dados confiáveis. Alguns autores têm tentado, sem sucesso, estimar o conteúdo de grupamentos hidroxilas alcoólicas pela diferença entre o valor dos hidrogênios ativos obtidos com o método do diborano e a acidez total do método do Ba(OH)₂.

É possível estimar as hidroxilas alcoólicas subtraindo-as da quantidade total de OH e a diferença entre a acidez total (método da acetilação) e a quantidade de –COOH (do método do acetato). Os dados obtidos por quaisquer dessas alternativas devem ser considerados com reserva.

Grupamentos carbonilas (C=0)

A função carbonila, do ponto de vista da Química Orgânica, apresenta um conjunto de reações características, potencialmente úteis para serem aplicadas ao estudo das substâncias húmicas. Dentre elas, as mais utilizadas com esses fins têm sido as reações com hidroxilamina, fenilhidrazina e 2,4-dinitrofenilhidrazina. Vários desses reagentes não excluem a possibilidade de que as funções carbonilas que pertencem às quinonas (cetonas aromáticas de particular importância na estrutura das substâncias húmicas) também produzam uma reação positiva.

Formação de oximas

No caso de utilizarmos a hidroxilamina (na prática uma dissolução aquosa de cloreto de hidroxilamina), os produtos obtidos da adição na função carbonila nomeiam-se oximas.

Um procedimento viável para aplicar estes fundamentos ao estudo das substâncias húmicas, proposto por Schnitzer (1972) e recomendado por Stevenson (1994), tem sido empregado em muitas pesquisas. As principais etapas são descritas a seguir:

Uma massa conhecida da substância húmica que se deseja estudar (entre 25 e 50 mg) é colocada no interior de um frasco com tampa que contenha 5 mL de dissolução aquosa de 2-dimetilaminoetanol em concentração 0,25 mol L⁻¹ mais 6,3 mL de dissolução 0,4 mol L⁻¹ de cloreto de hidroxilamina. A mistura do frasco (devidamente tampado) é agitada e aquecida em banho maria durante 15 ou 20 minutos. Após o esfriamento até a temperatura ambiente, a hidroxilamina que não reagiu é titulada potenciometricamente (o sistema de eletrodos é o mesmo que no método do Ba(OH)₂ para avaliar a acidez), usando-se uma dissolução padrão de ácido perclórico. Como em outros procedimentos descritos anteriormente, é necessário preparar um “branco” para realizar as mesmas operações e utilizando-se idênticas quantidades de todos os reagentes excluindo a amostra da substância húmica. Esse branco também é titulado com o ácido perclórico. Para obter o valor da quantidade de grupamentos carbonilas deve-se ter em conta que a referida titulação vai oferecer a quantidade de hidroxilamina que não reagiu. Por tanto, o produto da multiplicação da concentração do ácido padrão pela diferença entre o volume gasto na titulação do branco (será o maior) e o volume gasto com a amostra corresponderá à hidroxilamina em excesso. É calculado, então, o conteúdo de oxima produzido por diferença entre a quantidade original de hidroxilamina adicionada no frasco antes da reação, e a quantidade dessa substância que reagiu com o ácido. Finalmente, deve-se dividir o valor obtido pela massa de substância húmica, e realizar as transformações necessárias nas unidades para reportar a quantidade de grupamentos carbonilas, geralmente expressas em cmol kg⁻¹. Analisando-se as quantidades de grupamentos carboxilas de diferentes ácidos húmicos com as suas respectivas quantidades de grupamentos carbonilas é possível encontrar uma relação quase linear, o que quer dizer que a dupla ligação carbono-oxigênio apresenta-se principalmente sob a forma de –COOH.

As carbonilas das quinonas

Para a estimativa da quantidade de grupamentos carbonilas nas quinonas das substâncias húmicas têm-se utilizado reduções específicas empregando cloreto de estanho (II) e sais do cátion Fe^{2+} . Em ambos os casos, o fundamento do processo consiste na transformação (redução) da quinona para hidroxiquinona, avaliando o excesso do redutor. Com o SnCl_2 é possível executar a reação tanto em meio ácido (esquentando durante 4 horas de interação) como em meio alcalino (sob atmosfera de N_2 durante 1 hora). Uma massa conhecida de substância húmica é dissolvida em NaOH de concentração 0,1 mol L^{-1} (em ausência de O_2 durante uma hora). Depois titula-se potenciometricamente o excesso de Sn^{2+} com uma dissolução padrão de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (eletrodo de platina e calomelano). Também é preparado um branco que exclui somente a massa de substância húmica avaliada.

O tratamento em meio ácido é considerado muito drástico e pode induzir modificações na estrutura original da substância húmica estudada. Geralmente os valores reportados com o uso desse tratamento são significativamente superiores aos obtidos com o tratamento em meio básico. No caso dos sais de Fe^{2+} utiliza-se trietanolamina em meio alcalino e o excesso de Fe^{2+} é titulado potenciometricamente em condições semelhantes às descritas para o cloreto de estanho (II) em meio básico.

Grupamentos amino ($-\text{NH}_2$) livres.

Os estudos espectroscópicos feitos sobre a estrutura dos ácidos húmicos e fúlvicos evidenciam a presença de ligações N–H correspondentes a agrupamentos amino ($-\text{NH}_2$). Para determinar a quantidade de grupamentos amino nas substâncias húmicas têm-se utilizado os seguintes procedimentos: a reação com ácido nitroso, a formação de derivados orgânicos e, ainda, o tradicional método de determinação colorimétrica com Cu^{2+} . No caso da reação com ácido nitroso os dados obtidos dos conteúdos de grupamentos amino são muito elevados, atribuíveis provavelmente às interferências de resíduos de lignina e outros compostos fenólicos existentes na estrutura das substâncias húmicas.

A reação com fluordinitrobenzeno para produzir o dinitrofenilderivado do grupamento amino livre (compostos amarelos) é uma das alternativas na formação de derivados orgânicos.

Ruiz *et al.* (1999) e Guridi (2000) utilizaram a determinação colorimétrica para avaliar o conteúdo de NH_2 em ácidos húmicos de vermicomposto, obtendo valores entre 5 e 7 mol de N por kg de ácido húmico. Como dito para os grupamentos funcionais anteriores, as quantidades de grupamentos amino na estrutura das substâncias húmicas varia em função de diversos factores. Tendo em conta que as aminas classificam como compostos orgânicos com características básicas fracas (geralmente com pK_b entre 4 e 6), estes autores consideram possível a avaliação dos grupamentos NH_2 livres contidos nos ácidos húmicos, com uma titulação potenciometrica utilizando-se uma dissolução padrão dum ácido forte (por exemplo HCl em concentração perto de 0,1 mol L^{-1}) até $\text{pH} = 3$, apartir de uma massa conhecida (entre 50 e 100 mg) do ácido húmico dissolvida em NaOH 0,1 mol L^{-1} em ausência de oxigênio, desde que seja feito o procesamento dos dados obtidos, seguindo-se o tratamento da primeira derivada para a faixa de valores de pH entre 6 e 3. Na curva $\Delta\text{pH} / \Delta\text{V}$ v.s. V do ácido padrão, a quantidade de grupamentos amino livres poderia se estimar en função do volume de ácido correspondente à largura da altura média do máximo que deverá aparecer na faixa de pH mencionada.

capítulo 2

Modelos estruturais de substâncias húmicas

Luciano P. Canellas

Ary C. X. Velloso

Gabriel de A. Santos

Nenhum desafio na Ciência do Solo passou tanto tempo sem uma resposta: mas o que são mesmo as substâncias húmicas? A procura dessa resposta atravessa a história moderna do conhecimento e carrega consigo um passado controverso e um futuro não previsível. A busca de uma estrutura para as substâncias húmicas tem garantido o emprego de muita gente. Equipamentos cada vez mais caros e sofisticados, cursos de formação de pessoal especializado, publicações cada vez mais robustas e refinadas. No entanto, a pergunta persiste. Essa unidade refaz o início do caminho da pesquisa de ácidos húmicos e discute os três principais modelos vigentes para explicar a estrutura das substâncias húmicas, o modelo de estrutura macromolecular que considera as substâncias húmicas um polieletrólio de ácido fraco, o modelo micelar e, por último, o modelo de associação supramolecular de pequenos agregados húmicos. Todas as propostas têm algumas de suas evidências empíricas apresentadas. São realizados, ao longo do texto, comentários sobre as limitações do nosso modo de conhecer as coisas. Talvez explique alguma coisa do porque de tanta controvérsia a respeito da estrutura das substâncias húmicas.

Introdução

Não há tema mais controverso na área da Ciência do Solo do que a procura de uma estrutura ou de modelos estruturais para as substâncias húmicas. A pesar disso, vários pesquisadores têm apresentado suas propostas, cada qual com suas evidências empíricas e seus problemas metodológicos. Se a funcionalidade das substâncias húmicas pode ser acessada por uma série de métodos químicos e espectroscópicos (estes últimos serão vistos mais adiante), a busca de um modelo estrutural constitui, ainda, um desafio. As várias concepções sobre a estrutura das substâncias húmicas podem ser reunidas em três vertentes principais. A mais aceita pelos pesquisadores que compõem a IHSS (entidade que se auto-assume como padronizadora de metodologias de estudo para as substâncias húmicas) é a visão de que as substâncias húmicas são macromoléculas de um polieletrólio que tem sua conformação variável de acordo com as condições da solução do solo (*e.g.* força iônica, pH). Essa concepção trata as substâncias húmicas como um colóide orgânico que pode ter as suas principais propriedades acessadas, tais como massa molecular, densidade de carga elétrica e acidez. Esse conceito foi popularizado pelos trabalhos de Schnitzer & Khan (1978), Kononova (1982), Stevenson (1994) e de Santos & Camargo (1999). Tem sua defesa nos trabalhos de Clapp, Hayes e Swift (o número 5 do v. 127 da revista Soil Science, 1999 foi dedicado ao tema). Por se tratar de um modelo robusto e explicar macroscopicamente as principais interações das substâncias húmicas, tais como capacidade de

adsorção e complexação de íons, interação com minerais do solo, ou seja, as principais reações de interesse agronômico-produtivista foi consolidado como o modelo mais aceito.

Outra concepção sobre estrutura foi proposta por Wershaw (1986, 1993) que considerou as substâncias húmicas em solução como pseudo-micelas ou possuidora de estrutura do tipo micelar, com uma parte hidrofóbica voltada para o interior e uma parte hidrofílica voltada para o exterior. Uma evolução dessa proposta coincide com as teorias de Piccolo (2002) e colaboradores sobre um arranjo supra-estrutural de pequenas unidades de substâncias húmicas através de forças de interação fracas como as de van der Waals e outras ligações hidrofóbicas a pH neutro e de pontes de H^+ em valores mais baixos de pH. Esse modelo tem grande utilidade: se olhadas macroscopicamente as macromoléculas húmicas formam colóides se olhadas microscopicamente possuem muitos microcosmos químicos (agregados) que, como se verá mais adiante no capítulo 4, ajusta a humificação aos parâmetros da termodinâmica, bem como, justifica a ação direta sobre receptores celulares que desencadeiam algumas das respostas fisiológicas das substâncias húmicas (o que pode ser visto no capítulo 10).

Nessa unidade, serão abordadas as principais teorias e modelos sobre estrutura das substâncias húmicas. Antes, um pouco de história. Segue uma síntese do trabalho de Michael Susic (www.fortunecity.com/skyscraper/solomon/1735/history-acesso em setembro 2005). A descrição dos modelos estruturais é uma adaptação livre do trabalho de Piccolo (2002 a e b).

Aspectos históricos sobre o debate “substâncias húmicas”

Nos últimos 150 anos, um pouco mais ou um pouco menos, foram elucidadas as estruturas dos principais produtos naturais. O exemplo clássico é o projeto genoma. Já se conhece a seqüência exata de aminoácidos que compõem o DNA de bactérias como o do amarelinho (*Xyllela fastidiosa*). Tem muita gente ocupada com o que fazer da codificação dos genes humanos. O caso das substâncias húmicas é bem diferente.

Além de um clima favorável, são necessárias terras férteis para a existência, sobrevivência e para a qualidade da vida humana. As civilizações antigas foram baseadas essencialmente na atividade agrícola. Para estas civilizações, terras férteis eram responsabilidade dos deuses. O conhecimento sobre o ambiente cresceu vagarosamente, especialmente na Idade Média, onde se prestou atenção numa possível relação entre a obtenção de bons rendimentos da produção agrícola e aspectos do ambiente. As diferenças encontradas na produção quando eram usados diversos tipos de resíduos provenientes de plantas e estercos animais constituíram um objeto bastante óbvio para estudo. Portanto, unir a fertilidade das terras com a presença de resíduos orgânicos não foi nenhuma surpresa. A necessidade primeira do homem, ou seja, a de obter comida, trouxe o húmus e, mais tarde, as substâncias húmicas, para uma posição central na história da civilização.

A pressão para melhorar a agricultura nos séculos XVIII e XIX trouxe ânimo para busca do entendimento da química do húmus. O conhecimento, desde seu princípio, fundado na observação da natureza e no registro dos resultados dessa observação gerou a abordagem racional da natureza. Seus fundamentos foram consolidados na filosofia do século XVIII numa Europa anticlerical e democrática, baseado na tentativa do homem em compreender sua situação e controlar racionalmente seu desenvolvimento. Somente no final dos anos 1700s e no meio dos 1800s foram descobertas coisas consideradas hoje como muito simples, tais como, a existência do oxigênio, do hidrogênio, do gás carbônico e dos gases nobres. Contudo, a pergunta já tinha sido feita: O que são as substâncias húmicas?

Essa pergunta surgiu muito cedo e com o conhecimento e a tecnologia disponíveis na época,

pontos de vista contraditórios foram se consolidando. Esta atitude (o que chamaremos de debate) persistiu mesmo depois da segunda Grande Guerra Mundial quando foi vivido o monstruoso salto tecnológico proporcionado pela modernização da indústria e pelos avanços da física e da química quântica. Os primeiros experimentos com ressonância magnética nuclear (RMN) em Stanford datam de 1950. O primeiro aparelho comercial é de 1956 e já em 1960 se obteve o primeiro espectro de RMN ^1H de ácidos húmicos. Até num acelerador de partículas os ácidos húmicos já foram parar (Solomon *et al.*, 2005). Mesmo assim, não foi possível ainda dissipar as névoas que obscureceram os horizontes dos tempos mais remotos.

O termo húmus significou a reunião de todos os compostos no solo com origem nas plantas. Húmus foi usado pela primeira vez por Wallerius em 1761¹ para denominar a matéria orgânica do solo. Saussure (1802) introduziu esse termo para designar os compostos de coloração escura que depois foram chamados de ácidos húmicos. Durante o período entre 1630-1750, a pesquisa sobre o *princípio vegetal*, ou seja, como as plantas cresciam, foi o centro das preocupações intelectuais (exceto as religiosas). Mesmo antes dessa época, já se percebia que os solos não tinham a mesma fertilidade, mas ninguém soube descobrir porque isto acontecia assim. O botânico Linnaeus (1707-1778) classificou as terras de modo semelhante à sua classificação de plantas (apud Waksman, 1936) considerando, principalmente, a coloração do solo, relacionando termos como coloração escura, húmus e terras boas para existência humana. Quando Wallerius indicou o termo húmus para designar os resíduos orgânicos decompostos de plantas e do solo, foi rapidamente postulado que o húmus era a substância que fazia a planta crescer, *a essência*. Foi postulado, também, que as plantas cresciam absorvendo o carbono do húmus. Surpreendentemente, esta idéia persistiu até os 1800s, mesmo após Saussure, em 1804, ter demonstrado que as plantas podiam assimilar uma parte do seu carbono através do gás carbônico do ar atmosférico e Leibig, em 1841, ter demonstrado que as plantas podiam crescer na ausência de húmus.

A partir de 1865, cresceu o interesse sobre o papel dos microrganismos no solo. Os trabalhos de Pasteur modificaram rapidamente a forma de enfrentar qualquer problema científico e os primeiros trabalhos de microbiologia aplicada ao solo surgiram sob sua influência. Só neste momento o ciclo de carbono vem a ser entendido. O carbono das plantas é decomposto pelos microorganismos até gás carbônico e é devolvido à atmosfera para ser reabsorvido pelas plantas. Como os ácidos húmicos são mais refratários à decomposição microbiana, tendem a permanecer na matéria orgânica do solo. Assim, os primeiros cientistas não tiveram muita dificuldade para isolá-los.

Uma vez estabelecido o entendimento dos mecanismos básicos das ligações e formação dos compostos orgânicos pela Química, ocorreu uma explosão de conhecimentos na área. Sobre a composição do húmus, os resultados dessa explosão de idéias ocorreu ao redor de 1871 com a descoberta das proteínas em solos e continuou até ao redor da década de 1920, especialmente com os trabalhos de Schreiner & Shorey, que descobriram uma plethora de componentes orgânicos no húmus, tais como, esteróis, hidrocarbonetos, glicerídeos, ésteres (resinas), quitina, celulose, xilano, alcóois de açúcar, lecitina, piridinas, amidas, aminoácidos, bases púricas, vanillina, numerosos ácidos alifáticos e aromáticos e carbono elementar. Os ácidos nucléicos e as ligninas foram conhecidos somente um tempo atrás, e os hormônios de plantas descobertos muito mais recentemente. Nos anos 1930 a composição do húmus já era bem estudada. De quando o termo húmus foi cunhado até o estabelecimento da sua composição, decorram, aproximadamente, 170

¹ Para consulta das referências dos pesquisadores citados neste texto veja as obras de Waksman (1936), Kononova (1992), Stevenson (1994).

anos, um tempo muito longo para um campo de pesquisa.

A elucidação estrutural dos ácidos húmicos é, no entanto, um desafio para mais tempo. E não por falta de esforço. Numa revisão sobre fracionamento de matéria orgânica feita, em 1954, Bremner comenta: “A literatura relativa ao fracionamento de matéria orgânica é tão extensa que nenhuma tentativa pôde ser feita aqui para revisar os trabalhos antes de 1940”. Hoje, com a rede mundial de computadores, essa dificuldade não foi vencida e, inclusive, aumentou. Uma procura rápida no sistema de busca mais popular de artigos científicos na Universidade brasileira (base de dados da ISI disponibilizada pelo portal da capes www.capes.periodicos.gov.br/webofscience) mostra cerca de 5500 artigos sobre húmus desde 1954 até 2005 na busca com a palavra-chave “humic substances”.

Os primeiros trabalhos registrados sobre ácidos húmicos relatam seu isolamento em turfas da Alemanha por Achard em 1786 e de resíduos de plantas por Vauquelin em 1797. Saussure e Döbereiner começaram os estudos em solos em 1804 e 1822, respectivamente. Os primeiros resultados de Sprengel foram publicados em 1826. Sprengel extraiu ácidos húmicos de solo com o mesmo método que Achard usou para turfa, e este foi, desde então, o método preferido para extração dos ácidos húmicos.

Braconnot em 1819 adicionou ácido ao amido e à sacarose e obteve um precipitado escuro que se assemelhava aos ácidos húmicos do solo. Isto deu início a um esforço para se preparar o que se chamou então de *ulmin* artificial. Foi descoberto que a glicose fornecia o mesmo tipo de produto e, ao redor de 1835, a explicação para a transformação de carboidratos em ácidos húmicos sintéticos foi realizada por Malguti. Quando a celulose foi transformada em ácidos húmicos sintéticos em 1839 por Mulder, fundou-se a gênese de ácidos húmicos a partir de polissacarídeos. O debate ainda está aberto 150 anos depois! Embora houvesse acordo sobre a origem dos ácidos húmicos nesse tempo, muito se discutiu sobre a sua classificação. Os ácidos húmicos estão presentes em quase todos os recursos naturais (solo, água, sedimentos) e, além disso, podem estar em proporções diferentes de acordo com o solvente utilizado para a sua extração. Naturalmente, os diferentes extratos resultaram em solubilidade, cores, texturas e, lógico, suas principais propriedades também variaram de acordo com a ocasião. Isto levou à invenção de um conjunto de nomes que confundiu sua identidade química. A multiplicidade da nomeclatura foi gradualmente abandonada, provavelmente porque jamais se poderá chegar a um consenso, uma vez que, cada tipo de solo, horizonte, manancial hídrico de onde eram isoladas as substâncias húmicas geravam nomes diferentes para os ácidos húmicos. O batismo individual de cada composto foi sendo gradualmente abandonado em favor de denominações mais genéricas tais como substâncias húmicas de origem natural e do tipo húmicas para fontes como compostos, vermicompostos, lodos.

Ao redor de 1870 duas descobertas tiveram grande impacto na pesquisa sobre a natureza dos ácidos húmicos. Primeiro, foi demonstrado que outras combinações de produtos orgânicos com estruturas tão simples quanto tetracloreto de carbono poderiam dar substâncias de coloração escura que se assemelhavam aos ácidos húmicos naturais. Além disso, as fórmulas químicas e a composição dos ácidos húmicos ficaram tão diversas e confusas incorporando carbono, hidrogênio e oxigênio, mas também nitrogênio, anidridos, éteres, cetonas, hidroxilas, grupos alquílicos, aromáticos e furanos à sua estrutura levando a uma miríade de produtos diferentes. Esta complexidade, junto com a perda do consenso da origem de polissacarídeos, levou à idéia de que os ácidos húmicos eram produtos essencialmente das reações de síntese e ressíntese de microorganismos.

A microbiologia era um campo recente e popular na época e foi aplicada rapidamente ao

debate “ácidos húmicos”. Ainda que a presença de ácidos húmicos favorecesse a transformação microbiana dos compostos orgânicos, discutiu-se bastante se o conjunto de elementos e grupos orgânicos presentes nos ácidos húmicos eram resultados de uma sopa orgânica, algo que poderia ser elaborado através de microorganismos. A idéia que os ácidos húmicos se originavam de polissacarídeos foi reavivada fortemente ao redor de 1914 pelos pesquisadores Gortner e Marcusson através da descoberta da presença da estrutura de furanos nos ácidos húmicos (o mecanismo de quebra de um açúcar gera diversos tipos de furanos). Fischer & Schrader em 1921 demonstraram que microorganismos consomem os polissacarídeos rapidamente. Foi postulado, então, que era improvável que os açúcares não pudessem ser precursores de ácidos húmicos.

A degradação de ligninas, muito mais lenta, deveria, então, estar correlacionada com a geração de ácidos húmicos dada a proximidade de suas características químicas. Embora com alguma oposição, a teoria da lignina tornou-se hegemônica com o passar do tempo. Evoluiu de modo paralelo a teoria que considerava a proteína-lignina como a origem dos ácidos húmicos. Muitos investigadores começaram a detectar pequenas quantidades de nitrogênio nessas substâncias e a postularem explicações de como o N poderia estar fazendo parte da estrutura dos ácidos húmicos. Em 1938, Waksman publicou um livro que virou um clássico chamado Húmus, no qual ele apostou fortemente na alteração microbiana de ligninas como o modo principal de formação de ácidos húmicos: “Nenhuma outra fase da química esteve tão confusa como essa do húmus...” Waksman enfatizou que o papel das bactérias e as alterações da matéria orgânica por fungos eram importantes na formação de húmus. Bremner, em 1954, acautelado contra as idéias de Waksman, declara: “Muita informação útil relativa à matéria orgânica do solo foi obtida por métodos de investigação sem o fracionamento e isolamento de compostos como preconiza o sistema de análise de Waksman. Geralmente é percebido, porém, que tais métodos são de valor muito limitado e incertos, e que para alcançar algum progresso real na elucidação da natureza química da matéria orgânica do solo nós temos que voltar ao método de investigação por isolamento usado por Schreiner & Shorey no começo do século”. A ciência moderna aprofunda seu dilema: fracionar para conhecer o todo.

As substâncias húmicas vieram a ser vistas como produtos misteriosos envoltos numa aura de mistério tão complexa que, provavelmente, nunca poderia ser entendida completamente como preza a racionalidade ocidental. A teoria da origem de lignina, por necessidade, deu à luz ao conceito que os ácidos húmicos são basicamente compostos aromáticos em vez de alifáticos. Muitos investigadores começaram a só procurar combinações aromáticas nos ácidos húmicos consolidando uma idéia no senso comum de que os ácidos húmicos são, por excelência, compostos aromáticos e, por isso, recalcitrantes a ação biológica. No entanto, uma revisão estatística extensa encontrou um grau de aromaticidade médio de 36% para os ácidos húmicos (Mathieu *et al.*, 1999), valor esse bem abaixo do postulado teoricamente no início do século XX. Mesmo assim, até hoje a maior parte dos trabalhos se refere às substâncias húmicas como compostos aromáticos de coloração escura e recalcitrantes à ação biológica.

A nomeclatura técnica que designa húmus, ácidos fúlvicos e húmicos e as huminas como se comprehende hoje foi cunhada por Oden, em 1919. Shapiro foi o reintrodutor de procedimentos experimentais convencionais da química orgânica no estudo das substâncias húmicas tais como a cromatografia, o infravermelho em solução e uso de solventes orgânicos na análise de ácidos húmicos. Porém, esse trabalho foi praticamente ignorado, provavelmente porque demonstrou que os ácidos húmicos, ou pelo menos a fração solúvel em acetato de etila era predominantemente alifática e não aromática como postulava o estamento científico da época.

Nos anos 50, ficou popular o uso da cromatografia gasosa (CG) e da CG acoplada à espectrometria de massas como uma ferramenta para investigar compostos orgânicos. A técnica foi, inicialmente, de pouca utilidade no caso dos ácidos húmicos inalterados, mas produziu-se uma série sem fim de trabalhos a partir da produção dos derivados dos ácidos húmicos através de reações de oxidação. Embora a CG fosse popular, os produtos oxidados foram identificados através de métodos mais convencionais e consistiam, principalmente, de compostos aromáticos, especialmente ácidos benzo-carboxílicos. Os resultados foram interpretados de forma a confirmar que os ácidos húmicos eram compostos essencialmente aromáticos, e então, originados de ligninas. Porém, os estudos de oxidação devem ser realizadas com cuidado. Reuter *et al.*, em 1983, demonstrou uma destas falhas. A quantidade de compostos aromáticos produzidos era proporcional à severidade das condições de oxidação i.e., um artefato. Em 1966, foi traduzido para o inglês e publicado o livro de M.M. Kononova (ilustre professora do Instituto de Solos de Moscou) sobre substâncias húmicas, que reuniu e sintetizou o conhecimento sobre o húmus da Escola Russa (e do Leste Europeu) de matéria orgânica. A publicação se tornou muito popular e, somada à de Waksman, reforçou a teoria da lignina como a principal via de formação das substâncias húmicas. Para esse material foi consultada a versão em espanhol do livro de Kononova, que é de 1982.

No terço final do século passado, mais precisamente no início dos anos 70, a análise de infravermelho de amostras sólidas de ácidos húmicos através de pastilhas de KBr e as experiências de RMN se tornaram mais comuns no estudo da matéria orgânica. Essas técnicas demonstraram, entretanto, que os ácidos húmicos são, essencialmente, alifáticos. No início dos anos 80, muitos investigadores perceberam que a situação da pesquisa sobre os ácidos húmicos tinha ficado bastante complicada, mas os problemas foram sentidos de formas diferentes pelos diversos grupos de pesquisa.

A Química do Húmus, publicado por F.J. Stevenson em 1982 (a segunda edição do *Humus Chemistry* é de 1994), nos EUA, consolidou a teoria de origem das substâncias húmicas a partir das ligninas como a principal teoria de humificação. Porém, os investigadores nos anos oitenta, baseados em métodos espectroscópicos cada vez mais sensíveis, demonstraram que ácidos húmicos consistiam em estruturas predominantemente alifáticas e de caráter hidrofóbico. A ponto de Harvey e colaboradores, em 1984, propor uma origem de ácidos húmicos a partir dos ácidos graxos.

Em contraste com os estudos de oxidação degradativa de ácidos húmicos, os estudos de redução foram bem menos numerosos. A maioria dos produtos de redução eram compostos alifáticos de baixo peso molecular (Dubach *et al.*, 1964; Martin *et al.*, 1987). Com a evidência sempre crescente obtida durante os anos oitenta sobre a natureza alifática dos ácidos húmicos, a maioria dos pesquisadores veio aceitar que essas substâncias tenham pelo menos alguma estrutura de compostos alifáticos. A relutância no abandono de convicções científicas, apesar de uma série de evidências tão “científicas” quanto outras, é um fenômeno bastante interessante. Uma possível explicação está relacionada ao próprio modelo hegemônico de ciência convencional. Este termo foi cunhado por Thomas Kuhn para explicar como a ciência se desenvolve. Para Kuhn (1972), isso se dá através da construção de paradigmas por disciplinas especializadas que reafirmam suas ‘certezas’ internas e ignoram a complexidade dos problemas que ultrapassam as suas fronteiras. Esse modelo de ciência possui dificuldades para analisar e enfrentar problemas complexos. Os seus fundamentos foram estabelecidos no século XVII, baseados num novo e original método de investigação criado e defendido por Francis Bacon que envolvia a descrição matemática da natureza e o método analítico de raciocínio

concebido pelo gênio de Descartes. De acordo com Capra (1989), a clareza dos procedimentos indutivos e de realizar experimentos e extrair deles conclusões gerais a serem novamente testadas por novos experimentos consiste, até hoje, no vigor do paradigma científico atual e, também, na sua grande falha. O método consiste em decompor pensamentos e problemas em suas partes componentes e dispô-las em sua ordem lógica. A característica essencial da contribuição de Descartes para o moderno pensamento científico é a sua fragmentação e reducionismo com o objetivo de dominar e controlar a natureza. Isaac Newton convergiu as idéias de Bacon e Descartes adequando a abordagem empirista e indutiva do primeiro com a racional e dedutiva do segundo, formulando um procedimento robusto de ciência que culminou com a descrição geral da natureza através da concepção mecanicista. As leis gerais de funcionamento do cosmos foram aplicadas com sucesso até na biologia. O todo se fez em pedaços e até o próprio corpo humano foi considerado uma máquina formada por unidades (célula) formadoras de tecidos gerando os órgãos, etc. O sucesso monumental desse empreendimento científico deriva da exuberância de seus resultados, da sua facilidade de entendimento e de suas aplicações práticas alimentando a revolução industrial. Fragmentando é possível gerar uma “cadeia de produção científica” para cada segmento envolvendo as redes de abastecimento de produtos e serviços cada vez mais especializados e sofisticados. A crença na Ciência como fator de progresso dissolveu ideologias aproximando pólos distintos (ex-URSS e EUA). As desigualdades sociais geradas pela assimetria tecnológica e, principalmente, a inconcebível crise ambiental decorrente da aplicação do conhecimento produzido (desde a possibilidade de explosão do mundo inteiro milhares de vezes por artefatos atômicos até a contaminação de todo manancial de água doce por contaminação atmosférica). No entanto, desde o princípio do século XX foi demonstrada a fragilidade dessa concepção científica. Por exemplo, Albert Einstein, em 1905, desenvolveu um novo modelo de considerar a radiação eletromagnética que se tornaria característico da teoria quântica, a teoria dos fenômenos atômicos que, elaborada 20 anos mais tarde por um conjunto de pesquisadores, aboliu o método científico tradicional para descrever que as partículas subatômicas não são coisas, mas interconexão entre coisas e essas coisas por sua vez são interconexão entre outras coisas... (Capra, 1989). Utilizando o exemplo acima, os problemas colocados hoje à biologia são devidos ou derivados de sua abordagem estreita e fragmentada. O empenho na dissecação do corpo humano até seus componentes mais elementares levou à reunião de uma quantidade assombrosa de conhecimentos acerca de mecanismos celulares e moleculares, mas absolutamente incapazes de descrever ações integrativas, as interações dos sistemas vivos com a totalidade do ambiente. Essa pequena digressão do texto aqui tem sentido se for colocada novamente a pergunta: o que são, então, as substâncias húmidas? Se tratadas como um processo, termo que designa aqui unidades físicas e químicas em interconexões com outras unidades, ou seja, um ambiente complexo, os princípios básicos da experimentação científica vão sempre levar a respostas inconclusivas.

O fundamento básico da ciência da complexidade é a termodinâmica. De acordo com Capra (1989):...

“a primeira grande realização dessa nova ciência foi a descoberta de uma das leis mais fundamentais da física, a lei da conservação de energia. Diz essa lei que a energia total envolvida num processo é sempre conservada. Pode mudar de forma mais complicada mas nenhuma porção dela se perde. A segunda Lei é a da dissipação da energia. Enquanto a energia total envolvida em um processo é sempre conservada, a quantidade de energia útil diminui, dissipando-se em calor, fricção, etc... (). Há uma certa tendência nos processos... (...) Quando se juntam água quente com água fria o que resulta é a água morna. da mesma forma

quando se mistura um saco de areia branca com um saco de areia preta resulta em areia cinza e quanto mais se agita a mistura mais uniforme é o cinzento. Não veremos as duas espécies de areia se separarem espontaneamente. O que todos os processos têm em comum é que avançam em uma certa direção – da ordem para a desordem e esta é a formulação mais geral da segunda lei da termodinâmica. Qualquer sistema físico isolado avançará espontaneamente na direção de uma desordem sempre crescente. Em meados do século XX, para expressar essa direção dos processos físicos numa forma matemática precisa, Rudolf Clausius introduziu uma nova quantidade e a chamou de entropia. O termo representa uma combinação de energia e TROPOS termo grego que designa transformação ou evolução. Assim entropia é uma quantidade que mede o grau de evolução de um sistema físico.

Muito poucos foram os trabalhos que consideraram as substâncias húmicas como um processo, um contínuo de transformação das diversas formas de carbono no ambiente. O pensamento ocidental fluiu para a concepção de uma molécula com estrutura discreta. Porém, a aplicação dos conceitos da termodinâmica para avaliação de características estruturais das substâncias húmicas tem gerado, às vezes, contradições que são eventualmente ignoradas (uma proposta para o tratamento termodinâmico para o fenômeno da humificação se encontra na segunda parte do capítulo 4). Os avanços obtidos na descrição dos modelos estruturais levaram em consideração as variáveis termodinâmicas. Descritas como um processo, as substâncias húmicas não poderiam assumir modelos discretos de estrutura. Se descritas num estado inicial e outro final, o caminho percorrido entre os dois estados pouco importa. Esse itinerário, porém, é a essência do problema, desconsiderada por questões metodológicas. Como a ciência não possui respostas claras para problemas complexos, a busca de um modelo estrutural discreto poderá fracassar.

Para a ciência oficial tão importante quanto o resultado de uma descoberta é o seu processo de investigação – um bom método de pesquisa pode ser sempre usado novamente para outras descobertas. Para Sagan (1989) “o método científico é comprovado e verdadeiro. Não é perfeito, é apenas o melhor que temos. Abandoná-lo, junto com seus protocolos cépticos, é o caminho para uma idade das treva”. Os avanços obtidos são óbvios, por exemplo, é mais prudente vacinar uma criança contra a poliomielite do que levá-la a uma rezadeira. A crítica necessária é a de que o método científico precisa incorporar novas abordagens, uma vez que a metodologia tradicional engessa a ciência e permite avanços somente dentro de limites pré-estabelecidos. Viana Moog (1954) lembra que é preciso não esquecer que a ciência oficial tinha dado círculo a Sócrates e amargurado a velhice de Galileu. Como sugere Moog, ninguém deveria esquecer-se de que quando Copérnico, Newton, Pasteur, Einstein ou Freud assombraram o mundo e honraram a humanidade, é porque haviam se rebelado contra os dogmas da ciência oficial. Não obstante, segue a roda-viva da pesquisa e são apresentados agora os principais modelos de substâncias húmicas.

Estrutura macromolecular

De acordo com o modelo de humificação originado das teorias de Waksman e compilado por Stevenson (1994), a humificação é o processo pelo qual a biomassa constituída pelas plantas e animais é convertida até húmus, um dos passos básicos do ciclo de carbono na natureza. Compostos orgânicos que fazem parte da planta e dos tecidos dos animais são termodinamicamente instáveis na atmosfera oxidante da superfície da terra. Depois da morte,

esses compostos (oriundos de plantas e animais) são convertidos até dióxido de carbono e água por reações de degradação catalizadas por enzimas associadas aos microrganismos. Entretanto, nem todos os compostos são convertidos imediatamente a dióxido de carbono e água. Uma parte é oxidada apenas parcialmente. O resíduo da oxidação parcial desses compostos se acumula no solo na forma de húmus. Essa é a base da teoria da lignina.

As plantas vasculares são de longe o grupo dominante no ambiente terrestre. Os tecidos dessas plantas são constituídos, principalmente, por três grupos de biopolímeros: celulose, hemicelulose e ligninas. Em menor extensão, poliésteres alifáticos, amido, proteínas, espécies fenólicas macromoleculares e lipídeos. A formação das substâncias húmicas foi considerada como uma sequência de reações espontâneas de heteropolicondensação entre vários pequenos compostos intermediários liberados durante a quebra enzimática das biomacromoléculas. As teorias de humificação foram baseadas na observação de que constituintes bioquímicos simples (*e.g.*, aminoácidos, fenóis, açúcares) condensados abioticamente (especialmente em condições de altas concentrações e temperaturas) produzem uma reunião extremamente complexa de moléculas que exibem, de maneira geral, coloração escura e a maioria das características físico-químicas da matéria orgânica do solo, tais como, polifuncionalidade, flexibilidade estrutural e carga líquida negativa. Nas reações de condensação foram incluídas as reações de Maillard (caramelização) entre carboidratos e aminoácidos (ou proteínas) para formar produtos escuros, de caráter aromático.

Stevenson (1994) considera três mecanismos básicos de formação das SH: (i) compostos nitrogenados oriundos da atividade microbiológica reagem com ligninas modificadas (ii) polifenóis são oxidados até quinonas e, posteriormente, condensados através de reações com compostos aminados e (iii) açúcares reduzidos reagem com compostos aminados evoluindo até macropolímeros de coloração escura e massa molecular elevada. De uma forma bastante simplificada, verifica-se, na reunião das teorias de humificação, dois grandes processos que ocorrem concomitantemente durante a humificação: um processo degradativo onde os biopolímeros são quebrados através da ação de enzimas oxidativas secretadas pelos microrganismos num mecanismo biológico rápido e dependente da pressão de oxigênio (PO_2). A degradação é acompanhada de maneira simultânea pela síntese de novos compostos. O segundo processo é referido como processo de condensação abiótica que envolve a quebra da ligação de componentes moleculares dos biopolímeros e resíntese de produtos macromoleculares através de reações entre as moléculas. A oxidação de polihidróxidos benzenos até quinonas e a condensação via reação com grupos aminados até macromoléculas é o exemplo mais conhecido desse processo.

Existe uma série de razões pelas quais é aceito que as substâncias húmicas tenham uma estrutura polimérica. É conveniente assumir que as substâncias húmicas são polímeros mesmo apesar do fato de que estas não sejam produtos da síntese celular como outras biomoléculas sem a possibilidade de se identificar um monômero precursor qualquer. A rápida degradação e decomposição no solo dos biopolímeros liberados da lise celular foram processos considerados a partir da perspectiva biológica. Além disso, a característica das substâncias húmicas de serem refratárias à degradação biológica no solo é atribuída, historicamente, à sua natureza polimérica (e aromática). O carbono estabilizado nas substâncias húmicas do solo é conhecido como possuidor de um longo tempo de residência no solo (de 250 até mais de 3000 anos). Não obstante, Canellas *et al.* (2002) estimaram ao redor de 12 anos a ciclagem completa de um ácido húmico do trópico quente e úmido através da análise isotópica (^{13}C). Além disso, a hipótese tradicional de formação das substâncias húmicas através da condensação entre aminoácidos e

componentes da degradação da lignina espalhou a teoria de que as substâncias húmicas são polímeros estruturais semelhantes às ligninas. A lignina é um polímero disperso numa faixa de massa molecular que varia de <1000 até vários milhões de Da (Abreu, 1994) e a sua resistência à degradação biológica no solo tem sido atribuída à sua estrutura macromolecular (Amalfitano *et al.*, 1992). Por analogia direta, as substâncias húmicas foram consideradas macromoléculas. Da mesma forma, outra hipótese clássica de formação das substâncias húmicas como a teoria dos polifenóis (Flaig, 1988) ou a teoria das reações de Maillard (Maillard, 1913) reside na mesma lógica que perpetua o paradigma das substâncias húmicas como um processo de polimerização que pode ocorrer em condições de laboratório.

Além de questões históricas, outro aspecto que tem contribuído muito para a consideração das substâncias húmicas como um macropolímero: são as propriedades coloidais das substâncias húmicas que são consideradas como análogas às de um polieletrólito em meio aquoso (Flaig *et al.*, 1975; van Dijk, 1972). A maioria das propriedades dos colóides, tais como, processos de floculação e dispersão, respostas aos eletrólitos e comportamento de dupla camada também foram observadas para as substâncias húmicas. Dessa forma pôde se transferir, facilmente, para o extrato de substâncias húmicas o conceito de macromoléculas de elevada massa molecular. Exemplos de estruturas macromoleculares para substâncias húmicas são mostradas nas Figuras 2.1 a 2.3. As reações de troca e de complexação são facilmente descritas sob esse ponto de vista.

Apesar de amplamente aceito, o conceito de uma estrutura macromolecular para as substâncias húmicas nunca foi demonstrado, sem dúvida, em termos químicos ou físico-químicos em extratos obtidos de solos (Piccolo, 2002). As evidências são mais resultantes de um modelo teórico de formação do que de evidências experimentais. Considerada como uma macromolécula de um polieletrólito de ácido fraco, é evidente e necessário que se acesse com acurácia e exatidão o tamanho molecular desse polímero. No entanto, a procura de um tamanho molecular médio é um capítulo à parte nessa história de pesquisa. Quanto vale um mol de ácido húmico? Cameron *et al.* (1972), através de procedimentos convencionais de ultracentrifugação, determinaram a massa molecular média de uma série de ácidos húmicos de solos orgânicos, que também foram fracionados através de cromatografia por exclusão de tamanho e por filtração a pressão em membranas de poros de tamanho conhecido. Os dados foram interpretados como a evidência empírica de uma estrutura macromolecular dos ácidos húmicos, com valores de massa molecular variando de 2000 até 1.300.000 Da. Aproximadamente 75% da massa dos ácidos húmicos foi menor que 100.000 Da e 25% apresentam valores menores que 10.000 Da. Menos de 20% dos ácidos húmicos apresentam massa molecular muito elevada. Mesmo com tamanha dispersão de valores, os ácidos húmicos foram considerados compostos com estrutura discreta. A crítica ao trabalho de Cameron e colaboradores está escrita no próprio trabalho. Para misturas complexas é impossível predizer um coeficiente de sedimentação confiável. Mais tarde, foi sugerida uma conformação em espiral para a macroestrutura, uma vez verificada a dependência entre a concentração de íons, do pH da solução e a distribuição da massa molecular e o tamanho molecular (Schnitzer & Ghosh, 1979). A origem dessa concepção remonta aos trabalhos sobre substâncias húmicas no início do século XX. A síntese desse entendimento sobre a natureza química das substâncias húmicas foi realizada por Kononova (1966, 1982).

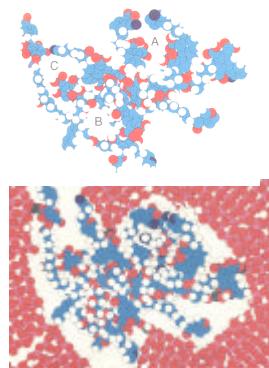


Figura 2.1. Modelo de estrutura para ácidos húmicos postulados por Shulten & Schnitzer (1989). A, B e C são representação dos espaços vazios na estrutura. Esses espaços podem ser preenchidos por aminoácidos, carboidratos ou outras moléculas como as portadores de atividade hormonal, por exemplo. Abaixo é representado a interação da estrutura húmica com a fração mineral do solo. Adaptado de Schulten H, -R. & Schnitzer, M. Naturwissenschaften, 82: 487-498, 1995. legendas C(azul), O(vermelho) H(branco), N(azul escuro). Modelo construído a partir de dados de RMN ^{13}C , Pi-CG-EM com software HyperChem.

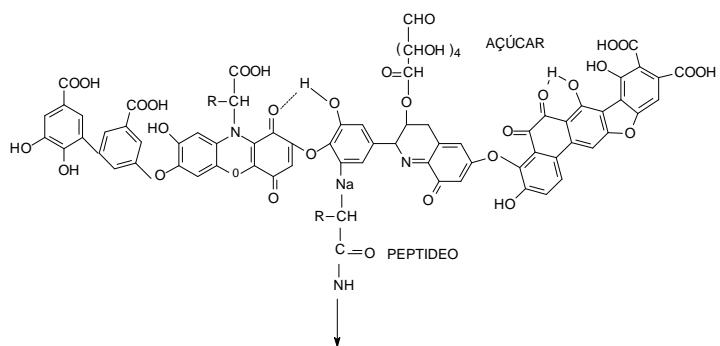


Figura 2.2. Modelo de estrutura de ácidos húmicos postulado por Stevenson (1994)

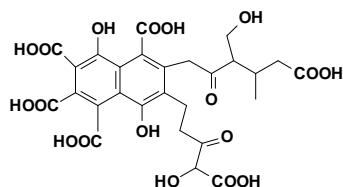


Figura 2.3. Modelo de estrutura para ácidos fúlvicos postulado por Buffle (conforme Stevenson, 1994)

Kononova introduziu o conceito de polímero para as substâncias húmicas baseado em propriedades como composição elementar, acidez trocável, propriedades óticas, propriedades eletroforéticas e massa molecular que variavam de acordo com a classe de solo de onde eram extraídas as substâncias húmicas. Baseando-se nessa concepção, as várias frações de substâncias húmicas obtidas durante a extração e fracionamento da matéria orgânica do solo, de acordo com sua solubilidade, em meio aquoso alcalino, ou ácido, foram imaginadas como parte de uma mistura heterogênea de moléculas com massa molecular variando de poucos até alguns milhões de Da e exibindo um contínuo de propriedades químicas. Um esquema ilustrativo desta concepção é

apresentado na Figura 2.4. Note a evolução química contínua das substâncias húmicas

As principais modificações dos resíduos vegetais com o processo de degradação incluem o aumento da acidez, da aromaticidade e, ainda, enriquecimento seletivo de unidades metil e metileno nas substâncias húmicas (Kononova, 1982).

Substâncias húmicas				
ácidos fúlvicos	ácidos húmicos	huminas		
Amarelo claro	Amarelo escuro	marrom	Cinza/preto	preto
-----aumento da intensidade de coloração-----→-----→-----→				
-----aumento do grau de polimerização-----→-----→-----→				
-----aumento da massa molecular-----→-----→-----→				
-----aumento no conteúdo de C-----→-----→-----→				
-----diminuição do conteúdo de O-----→-----→-----→				
-----decréscimo na acidez trocável-----→-----→-----→				
-----decréscimo na solubilidade-----→-----→-----→				

Figura 2.4. Esquema ilustrativo da evolução contínua das substâncias húmicas de acordo com Stevenson (1994). Adaptado para o português do sítio eletrônico www.ar.wroc.pl/~weber/kwasy2.htm (acesso em setembro de 2005)

Baseando-se na solubilidade das substâncias húmicas num extrator, é possível extrair diversos sistemas de polímeros carregados eletricamente (polieletrólitos) com diferentes constantes de dissociação (comportamento de ácido fraco) que são avaliados quimicamente através de suas propriedades óticas, acidez trocável, propriedades eletroforéticas e distribuição de massa molecular. Assim, para Piccolo (2002), a assunção de que as substâncias húmicas são polímeros foi baseada num fundamento histórico (produtos da síntese microbiana a partir da degradação de ligninas e outros biopolímeros) e numa medida físico-química simples (a absorbância de luz na região do visível).

Se os valores de massa molecular para as substâncias húmicas são uma fonte de confusão, contradição ainda maior existe sobre a forma atribuída à estrutura polimérica das substâncias húmicas. Forma globular (Visser, 1964), configuração linear flexível (Mukherjee & Lahiri, 1959), forma elipsoidal (Orlov *et al.*, 1975), polieletrólito esferóide (Ghosh & Mukherjee, 1971) e cadeia longa ramificada (Cameron *et al.*, 1972). Ghosh & Schnitzer (1980a) reunificaram esses diferentes pontos de vista através da medida da pressão de superfície e viscosidade das substâncias húmicas em diferentes pHs e concentração de eletrólito e adaptando os resultados para relacionar com os desenvolvidos para polímeros verdadeiros. Eles explicaram o comportamento das substâncias húmicas (material não carregado a pH baixo e polieletrólito a alto pH) com base na teoria polimérica e estabeleceram uma configuração macromolecular para as substâncias húmicas que não é única, mas que varia com o pH e com a força iônica do meio onde as substâncias húmicas são dissolvidas. Foi estabelecido que as substâncias húmicas são colóides esférico rígidos em concentrações elevadas de amostra e força iônica e a baixo pH enquanto que em pH elevado e em força iônica baixa são polímeros lineares. No entanto, através de técnicas de microscopia eletrônica (“small-angle X ray scattering”) foi possível observar a formação de agregados de substâncias húmicas em solução com tamanho dependente do pH (Wershaw, 1989). As várias frações obtidas por cromatografia por exclusão de tamanho foram quimicamente diferentes e as diferenças encontradas no comportamento de agregação foram reflexo da interação de diferentes

mecanismos de ligação. Frações húmicas de diferentes fontes apresentaram propriedades de superfície ativa (Hayase & Tsubota, 1983), levando à formulação de uma alternativa à estrutura polimérica em espiral.

Wershaw (1989, 1993) propôs que as substâncias húmicas consistiam em agregados ordenados de compostos anfifílicos, principalmente, de polímeros pouco alterados de plantas com segmentos possuindo funções ácidas. Nesse modelo, as substâncias húmicas são consideradas como agregados unidos por forças hidrofóbicas (ligações π - π e ligações de transferência de cargas) e interações através de pontes de H^+ . No modelo, a parte hidrofóbica se localiza no interior do agregado e a parte hidrofílica é voltada para a superfície do agregado. Os agregados ordenados de substâncias húmicas no solo foram descritos como semelhante a membranas bipolares envolvendo as partículas minerais do solo ou como uma micela em solução. O modelo de Wershaw representou uma grande ruptura devido à introdução do conceito de agregação de diferentes tamanhos de partículas de constituinte húmico em contraste com a visão tradicional do polímero linear polidisperso.

Estrutura micelar ou pseudo-micelar

Foi sugerido que as substâncias húmicas constituem uma macroestrutura só aparente e que as propriedades macromoleculares são derivadas de associações de pequenas espécies moleculares em estruturas micelares ou pseudo-micelares envolvendo associações fracas de moléculas não polares como ácidos graxos, longas cadeias alifáticas de hidrocarbonetos, ésteres e compostos similares à suberina.

A degradação de polímeros de plantas envolve reações de despolimerização e oxidação que são catalizadas por enzimas. Polímeros de polissacarídeos, como a celulose, são degradados sob reações de despolimerização hidrolítica enquanto que a lignina é degradada, principalmente, por oxidação. Os lipídeos são atacados por hidrólise e oxidação. Os produtos resultantes são, geralmente, fragmentos com grande parte de sua estrutura original preservada. Assim, ácidos graxos alifáticos, por exemplo, são degradados por mecanismos de α -oxidação na qual o grupo ácido é quebrado no final da cadeia alifática. É produzido um ácido graxo com uma cadeia 2 átomos mais curta. Da mesma forma, parece que o principal mecanismo de degradação da lignina é a oxidação de um ou dois grupos COH da parte final livre da unidade fenilpropano. A despolimerização libera, em tese, fragmentos de estrutura pouco alterados. A parte pouco alterada da lignina é um fragmento relativamente hidrofóbico e o carboxilato no final da unidade se constitui um fragmento hidrofílico, gerando uma molécula anfifílica. Além dos compostos anfifílicos produzidos pela degradação de algumas ligninas algumas unidades do tipo ligninas-carboidratos podem estar presentes. A porção “carboidratos” dessas moléculas tem caráter hidrofílico e a parte lignina é hidrofóbica. Grupos fenilpropano de ligninas ligados a cadeias de hemicelulose por ligação benzil-éter são exemplos deste tipo de unidade. Esses complexos têm uma massa molecular média de 6.000 a 8.000 Da. Os complexos ligninas-carboidratos, bem como outros fragmentos anfifílicos, têm forte tendência para formar agregados na forma de micelas em solução aquosa.

Uma micela é um agregado globular de moléculas anfifílicas na qual a parte hidrofóbica forma o interior da micela e a parte polar (hidrofílica) forma a superfície exterior. A formação do húmus no solo ocorre quando produtos lixiviados da serrapilheira se movem para o interior do perfil do solo. Esses lixiviados que constituem os componentes anfifílicos dos produtos de degradação e complexos ligninas-carboidratos interagem com as partículas minerais. É essa interação em camadas que constitui o húmus do solo. Para Wershaw, a representação diagramática

da estrutura micelar é a mostrada na Figura 2.5. O húmus é representado como uma membrana revestindo a superfície de um oxidohidróxido com carga líquida positiva. Além do filme que reveste a superfície mineral, os produtos da degradação dos biopolímeros podem co-existir como micelas em solução.

A agregação espontânea de substâncias húmicas em agregados micelares foi também postulada por outros autores (Engebretson & Wandruszka, 1994; 1997) para justificar o elevado grau de interação das substâncias húmicas com compostos orgânicos apolares no solo. Havia uma dificuldade de explicação desses resultados baseada na complexa natureza polimérica das substâncias húmicas. O fenômeno da partição química pode ser usado facilmente considerando-se a parte hidrofóbica da micela como um “solvente orgânico”.

A concentração crítica micelar (CMC) encontrada para as diferentes substâncias húmicas varia numa faixa de concentração bastante elevada (de 1 a 10 g L⁻¹), muito maior do que para compostos com superfície ativa que produzem uma estrutura micelar regular (Tanford, 1980).

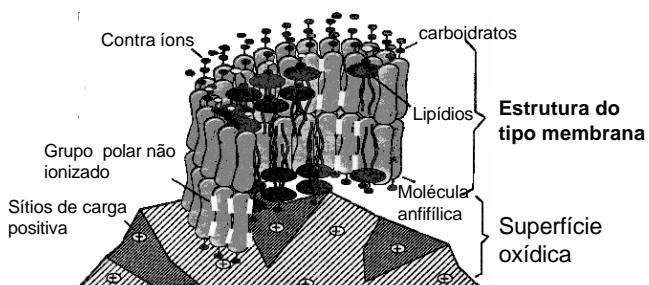


Figura 2.5. Representação esquemática do modelo micelar para substâncias húmicas. Adaptado de Wershaw, R.L. *Environ. Sci. Technol.* 27: 814-816, 1993.

Apesar de todas estas limitações, o conceito de agregação das partes hidrofóbicas das substâncias húmicas pode explicar resultados como o espalhamento da luz (light scattering) encontrado quando da adição de íons Cu⁺⁺ (Ryan & Webwe, 1982), o aumento na solubilidade de compostos não polares em solução húmica devida ao fenômeno de partição/adsorção no interior hidrofóbico das substâncias húmicas (Carter & Suffet, 1982), a liberação de matéria húmica através de membranas de diálise de material extensivamente dialisado quando é realizado o tratamento com compostos anfifílicos como ácido acético ou outro eletrólito (De Haan *et al.*, 1987; Nardi *et al.* 1988).

O possível entendimento do comportamento ambiental das substâncias húmicas através do modelo de agregação não abalou o “paradigma polimérico” incluindo novos modelos de estruturas gerados por modelagem computacional alimentada por dados obtidos das técnicas modernas de espectroscopia (Figura 2.4). Apesar das muitas limitações inerentes ao método da pirólise das substâncias húmicas (Saiz-Jimenez, 1994, 1995; 1996) compostos identificados por espectrometria de massas acoplado à pirólise com massa molecular maior que 500 Da foram usados para computar um modelo molecular arbitrariamente unido por ligações covalentes e que produz uma imagem de um polímero ramificado. Essas macromoléculas têm sido propostas até hoje como um modelo de substâncias húmicas e usadas para explicar seu comportamento no solo (Schulten & Leinweber, 2000). Outros modelos como de Daillo *et al.* (2003) seguem a mesma lógica de construção (Figura 2.6) e são auto-referendados pela análise de propriedades espectroscópicas e termodinâmicas que, ao mesmo tempo, são tomadas para elaboração do próprio modelo.

Um exemplo das possibilidades de simulação é encontrado na Figura 2.7. extraída do projeto

Virtual Museum of Minerals and MoleculesTM que tem como curadores Barak, P.; Nater, E. e Stiles, C (www.soils.wisc.edu/virtual_museum/index.html)

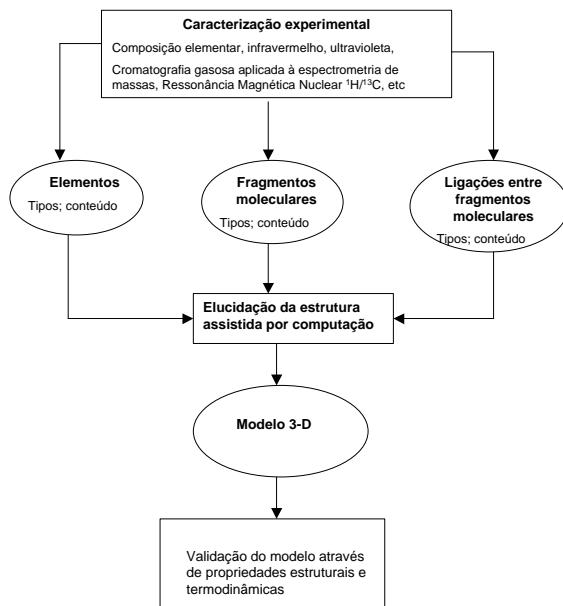


Figura 2.6. Representação esquemática da construção e geração de modelos computacionais para a estrutura tridimensional de substâncias húmicas. Adaptado de Daillo et al. 2003. (Environm. Sci. Thecnol., 37: 1783-1793, 2003)

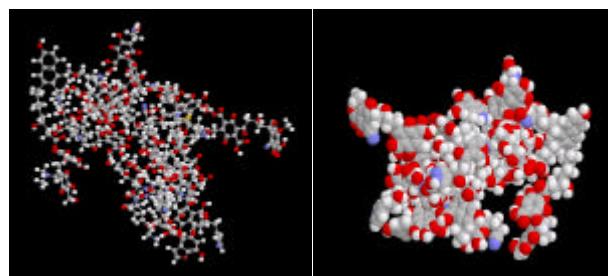


Figura 2.7. Modelo 3-D de ácidos húmicos Adaptado www.soils.wisc.edu/virtual_museum/index.html (Virtual Museum of Minerals and MoleculesTM curadores: Barak, P.; Nater, E.; Stiles, C. acesso em setembro de 2005.

Estrutura supramolecular

Piccolo e colaboradores (1996) sugeriram que as substâncias húmicas consistem na associação de pequenas moléculas orgânicas. Agregados ordenados de húmus no solo semelhante às membranas biológicas bipolares envolvendo partículas minerais, como descrito no modelo de Wershaw, representou um salto não linear sobre a estrutura das SH. A introdução do conceito de agregação de partículas de diferentes tamanhos representou um contraste com a visão macromolecular tradicional. No entanto, a questão do tamanho da molécula continuou sem resposta com a adoção do modelo micelar.

A cromatografia por exclusão de tamanho tem sido extensivamente aplicada às frações humificadas para avaliar o tamanho molecular médio de materiais húmicos (De Nobili *et al.*, 1989; Wershaw & Aiken, 1985). É bem claro que a separação num gel não é puramente uma separação por tamanho e um grande número de interferências pode ocorrer, principalmente, a exclusão iônica e a adsorção. No primeiro processo, forças de repulsão eletrostática entre cargas negativas presentes, tanto nas substâncias húmicas dissolvidas, como no gel de dextrano, provocam aumento da velocidade de separação cromatográfica. No segundo processo, predominam as interações hidrofóbicas entre as substâncias húmicas e a fase estacionária retardando a eluição (Lindquist, 1967). Assim, a força iônica da fase móvel usada no processo de separação deve ser suficientemente alta para prevenir interações eletrostáticas, mas não tão altas (maiores do que 0,5 mol L⁻¹) para induzir interações hidrofóbicas (Chicz & Regnier, 1990). Tanto a exclusão iônica (eletrostática) ou a interação hidrofóbica entre o gel e o soluto podem ser adequadamente reduzidas a valores desprezíveis utilizando-se procedimentos simples como uso de tampão diluído.

Piccolo (2002) propôs, a partir de dados obtidos de cromatografia por exclusão de tamanho, um novo modelo para organização estrutural das substâncias húmicas. Segue-se uma breve descrição dos experimentos que levaram ao conceito de arranjo supra-estrutural de compostos húmicos.

O aumento da concentração de substâncias húmicas no gel de sephadex-100 em água mostrou mudanças de picos da faixa de alta para baixa massa molecular (Swiff & Posner, 1971). Nesse experimento, foi descartada a possibilidade de uma retardação da eluição por interação hidrofóbica e explicada qualitativamente como uma repulsão entre as cargas negativas do sephadex e das substâncias húmicas. Os autores assumiram que a repulsão poderia ser mais forte com o decréscimo da concentração de substâncias húmicas com a redução da força iônica contrariando os resultados obtidos. Usando a visão clássica (a do polieletrólito polimérico), foi postulado que a dupla camada carregada eletricamente sobre o soluto e o gel em solução, resultaria numa molécula efetivamente maior e poros menores no gel. O efeito de repulsão de cargas ocorre a longas distâncias, levando ao aumento da exclusão com o decréscimo da concentração da amostra. Não foi realizada nenhuma medida de densidade de cargas nas diferentes concentrações da amostra ou no gel para corroborar a hipótese. Apesar de poucos e inconclusivos experimentos com gel de exclusão por tamanho, foi utilizado tampão de força iônica para suprimir esse efeito (De Nobili *et al.*, 1989; Swift, 1989; Swift & Posner, 1971). A força iônica elevada do tampão reduz o volume das substâncias húmicas em solução favorecendo, termodinamicamente, a associação hidrofóbica de moléculas húmicas e, invariavelmente, produz cromatogramas com distribuição bimodal. Além disso, também produz aumento na adsorção hidrofóbica com a fase sólida do gel. A adsorção de substâncias húmicas nas colunas tem sido tradicionalmente explicada tanto pela salinidade como pela força iônica. Usando-se tampão fosfato (0,1 mol L⁻¹) com uréia (2 mol L⁻¹) e variando o pH de 4,7 até 11,2, foi observado o aumento progressivo do tamanho molecular. A fração de maior tamanho foi obtida com pH 4,7, que apresentou, também, considerável quantidade de material húmico adsorvido. Em pH mais baixo foi atribuído um processo de agregação das moléculas húmicas, mas foi utilizado o argumento do aumento da repulsão eletrônica para a diminuição do tamanho da molécula húmica em pH mais elevado, desconsiderando que a força iônica elevada e a inclusão da uréia excluem os efeitos eletrostáticos das condições experimentais. Hattori

(1987) mediou a tensão superficial das substâncias húmicas e verificou diminuição com a utilização de fosfato e uréia e aumento com a concentração da amostra, sugerindo que o aumento da agregação aumenta a atividade de superfície. Das frações estudadas, somente a de maior massa teve superfície ativa, que foi a fração com maior número de cadeias alquílicas alifáticas. As frações com baixa atividade de superfície apresentaram elevado conteúdo de grupos COOH. As diferentes frações apresentaram comportamento químico diferente e sua associação em frações com superfície ativa maior foi favorecida pelas forças atrativas dos compostos alifáticos. Desta forma, compostos hidrofóbicos têm capacidade de aumentar aparentemente o tamanho molecular e também produzir compostos mais estáveis com o tempo. Piccolo *et al.* (1996), analisando estes resultados anteriores e empregando a cromatografia de exclusão por tamanho para monitorar variações cromatográficas de soluções alcalinas que foram levadas até pH 2,0 com adição de diferentes ácidos orgânicos e inorgânicos, chegaram a uma nova concepção sobre a estrutura das substâncias húmicas através da análise da sua distribuição de massa. As condições experimentais foram previamente definidas com o objetivo de reduzir a adsorção de substâncias húmicas e a repulsão de cargas (tampão Borato: $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,02 mol L⁻¹ a pH 9,2) numa coluna comercial sem manipulação para preenchimento (Biorad P 100 Biogel, 5 – 100 Kda). Quando o controle com solução alcalina de substâncias húmicas foi cromatografado com o gel no tampão borato, a maioria do material húmico foi eluída com a maior massa molecular possível. Ao contrário, quando foram adicionados ácidos orgânicos, o pico total de absorbância foi mudado ‘para volumes de eluição perto do volume total (vt) da coluna, sugerindo massa molecular média menor que 25 Kda. Ácidos minerais não tiveram qualquer efeito ou influência sobre a performance cromatográfica das substâncias húmicas. A mudança progressiva de baixo para altos volumes foi também observada quando os valores de pH foram progressivamente mudados até valores menores com utilização de ácido acético sobre a coluna. O fenômeno foi reversível (adição de KOH 0,5 mol L⁻¹). O experimento está representado esquematicamente na Figura 2.8. A grande originalidade de Piccolo e colaboradores foi na interpretação desses resultados. Mais do que efeitos de repulsão-adsorção, a variação cromatográfica foi atribuída a um comportamento intrínseco das substâncias húmicas. Esse comportamento reflete mais um arranjoamento de associação molecular do que de um polímero e ocorrem evidentes mudanças conformacionais durante a cromatografia. O modelo tradicional de substâncias húmicas baseado na concepção polimérica macromolecular criticou fortemente os trabalhos de Piccolo resumidos acima (Swift, 1999). No entanto, tais críticas não foram baseadas na reprodução do experimento e sim em bases teóricas e na interpretação qualitativa das interações gel-soluto. Os experimentos foram qualitativamente reproduzidos por Façanha *et al.* (2002) que, usando sephadex G-200, observaram mudanças no perfil cromatográfico de ácidos húmicos isolados de vermicomposto utilizando-se a exsudação direta de ácidos orgânicos pelas plantas numa solução de ácidos húmicos.

Os resultados de Piccolo *et al.* (1996) não podem ser atribuídos à ação do tampão do ácido orgânico e o eluente alcalino porque a quantidade dos diferentes ácidos orgânicos variaram 2 ordens de magnitude mas não mudaram a quantidade de volume eluído que permaneceu o mesmo para todos os ácidos. O atraso observado na eluição não pode ser atribuído à deposição de sólidos sobre o gel e subsequente resolubilização pelo eluente, pois as amostras tratadas permaneceram solúveis a baixo pH e foram imediatamente eluídas depois da colocação na coluna. Não obstante, se isso fosse o caso, a neutralização

progressiva da capacidade de tamponamento do ácido pelo eluente alcalino teria causado um recobrimento por fora da coluna numa mistura polidispersa de material húmico e uma banda difusa do menor para o maior volume deveria ser observado (o que não ocorreu, Figura 2.8). Além disso, o efeito da força iônica não pode ser invocado para justificar a mudança reversível do pico mostrado na Figura 2.7 porque a eluição numa força iônica como a do tampão borato ou dez vezes mais concentrada produziu a mesmo efeito tanto com adição de ácido acético ou KOH.

Piccolo *et al.* (1996), Cozzolino *et al.* (2001) e Piccolo (2002) consideraram esses resultados como a expressão da natureza associativa das substâncias húmicas que se agregam para formar uma estrutura de massa molecular aparentemente elevada. Essa interpretação está de acordo com os resultados prévios que demonstraram o comportamento de associação molecular. Além disso, observações de laboratório têm indicado que, mesmo após a diálise exaustiva de substâncias húmicas, a adição de ácidos orgânicos promove a liberação de pequenas moléculas (Nardi *et al.*, 1988). Essa fração de baixa massa ou tamanho molecular foram consideradas como produtos de um rearranjo conformacional e de composição química diferente das substâncias húmicas.

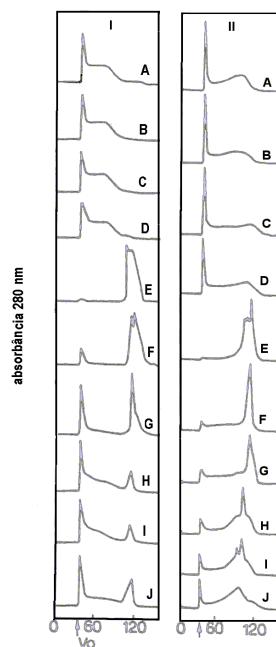


Figura 2.8. Cromatogramas de exclusão por tamanho a baixa pressão de ácidos húmicos tratados com ácido acético e eluídos com $Na_4B_2O_7$ 0,02 M a pH 9,2 (I) e com $Na_4B_2O_7$ 0,1 M a pH 9,2 (II). Os ácidos húmicos foram tratados antes da eluição como se segue: (A) dissolvido a pH 11,8, (B) titulado com ácido acético até pH 6, (C) pH 4,5 (D) pH 3,5, (E) pH 2,0; (F) o material foi levado de pH 2 até 3,5 com KOH, (G) até pH 4,5, (H) até pH 6,0 e (I) até pH 8,5. (J) O último material (pH 8,5) foi seco para eliminar o resíduo de ácido acético. Adaptado de Piccolo (2002).

A grande crítica ao trabalho de Piccolo (1996) é a falta de reprodutibilidade que a cromatografia de exclusão de tamanho a baixa pressão tem. É uma condição intrínseca do método. Os dados só podem ser repetidos qualitativamente. Para o aumento da reprodutibilidade Conte & Piccolo (1999) usaram a cromatografia por exclusão de tamanho a alta pressão. Os resultados anteriores foram obtidos novamente.

A luz do modelo micelar, Piccolo *et al.* (1996) postularam que ácidos orgânicos podem penetrar dentro do núcleo hidrofóbico da micela enquanto neutralizam as funções ácidas com o decréscimo do pH até 2,0. A associação entre os ácidos orgânicos e as substâncias húmicas podem ocorrer em função das propriedades anfifílicas dos ácidos que, por sua vez, podem reagir tanto com o domínio hidrofílico como com o hidrofóbico das substâncias húmicas. Tais interações são capazes de romper ligações fracas que estabilizam a conformação e, consequentemente, a eluição cromatográfica separa pequenas unidades do agregado e previne a reagregação que deve ocorrer em condições estáticas. Uma visão simplificada do modelo de Piccolo é apresentada na Figura 2.9.

As evidências experimentais inequívocas do modelo de estrutura para as substâncias húmicas foram obtidas por Simpsom (2002) que, usando técnicas avançadas de ressonância magnética nuclear (RMN) bidimensionais e com difusão de campo, observaram a variação dos agregados húmicos com a adição de ácidos orgânicos diretamente na solução sem o fracionamento cromatográfico. Detalhes desse experimento podem ser vistos no capítulo 7 sobre RMN.

O modelo de arranjo supraestrutural de substâncias húmicas é especialmente útil para descrever o comportamento ambiental das substâncias húmicas bem como os efeitos que elas exercem sobre os organismos vivos, mais precisamente sobre a ação no metabolismo e na bioquímica das plantas. Considerados como um macropolímero ou como uma micela, as substâncias húmicas apresentam um comportamento coloidal pouco compatível com a elevada estimulação em sistemas enzimáticos e inclusive indução de genes em plantas (Canellas *et al.*, 2002; Quaggiotti *et al.*, 2004). A interação planta-microrganismo pode alterar a estrutura e a conformação das substâncias húmicas e pequenas unidades portadoras de bioatividade podem estimular o crescimento e o metabolismo dos organismos. Esse tópico será abordado adiante com mais detalhes. Por hora, é possível que cada modelo ou interpretação sobre a concepção de estrutura

estrutura dos ácidos
e dissolução de cargas

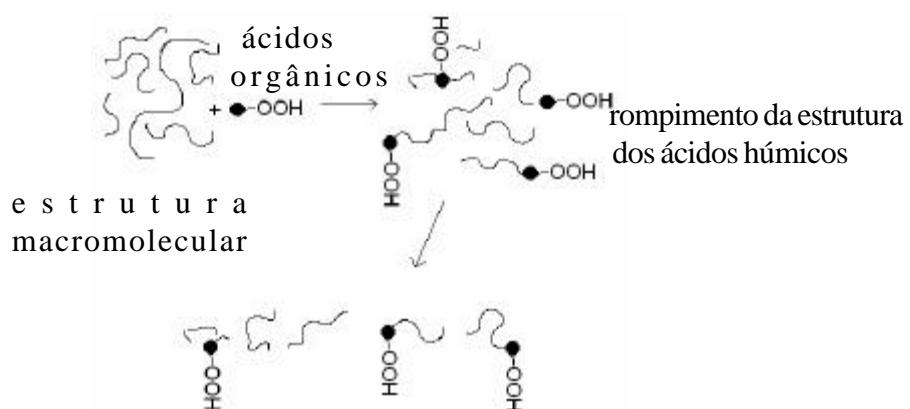


Figura 2.9. Representação esquemática do modelo supra-estrutural para ácidos húmicos concebido por Piccolo (1997)

das substâncias húmicas se ajuste à descrição de um determinado tipo de comportamento químico e bioquímico. Assim, provavelmente a natureza da estrutura das substâncias húmicas não seja do tipo substantiva (no sentido que G. Bachelar, 1996, emprega para o conhecimento), ou seja, uma substância húmica não é, mas *está* de acordo com o meio em que ela se encontra ou com a vontade do pesquisador. O que queremos dizer é que, como fruto de um processo ecológico complexo, as substâncias húmicas não podem ser particularizadas em modelos estruturais discretos, muito embora o uso dos modelos possa colaborar para o estudo da sua função no ambiente. É um problema complexo e, como tal, o debate sobre a estrutura das substâncias húmicas e sua relação com a função desempenhada durará, quem sabe, mais algumas centenas de anos...

capítulo 3

Fracionamento da matéria orgânica humificada de solos brasileiros

Tony J. Ferreira Cunha

Luciano P. Canellas

Gabriel de A. Santos

Lucedino P. Ribeiro

A pergunta que, geralmente, é feita no primeiro dia do curso sobre matéria orgânica é: qual é o conteúdo ideal de matéria orgânica no solo? A resposta quase sempre frustra o aluno. Nos solos tropicais intemperizados, bem drenados, o conteúdo de carbono raramente excede 5 % da massa de solo, com valores da mediana em torno de 1%. Mesmo fazendo parte da menor fração sólida do solo, suas características imprimem e ao mesmo tempo refletem as suas propriedades. Foram reunidas aqui as experiências com fracionamento da matéria orgânica em alguns solos brasileiros obtidos de artigos publicados, principalmente, na Pesquisa Agropecuária Brasileira e na Revista Brasileira de Ciência do Solo. Como há uma plethora de métodos de fracionamento, a comparação entre os resultados requer cautela por parte do leitor. Realizaram-se análises qualitativas sobre a distribuição das frações humificadas e suas relações com aspectos de fertilidade do solo. No início da unidade são tecidos alguns comentários sobre o uso da matéria orgânica como base da fertilidade do solo e da produção da agricultura familiar e os princípios da transformação dos resíduos orgânicos adicionados ao solo. Ao final, é realizada de forma muito sucinta uma análise sobre recuperação de teores de matéria orgânica com adição de resíduos orgânicos.

Introdução

O conteúdo de matéria orgânica é controlado pelos fatores de formação do solo. O clima, o material de origem, o relevo, a atividade biológica e o tempo condicionam o balanço de carbono em sistemas naturais não perturbados. Com o cultivo, ou seja, a perturbação do equilíbrio dinâmico, as condições para oxidação da matéria orgânica são favorecidas e um novo estado de equilíbrio é alcançado. Porém, geralmente, com menor conteúdo de matéria orgânica no sistema. O direcionamento do fluxo de energia e de matéria proveniente da fotossíntese para obtenção de produtos agrícolas com valor de mercado provoca uma simplificação do ecossistema, reduzindo ao mínimo, com a monocultura, a diversidade de organismos e suas interrelações. Essa simplificação diminui a qualidade do ambiente. Doran & Parkin (1994) consideraram a qualidade do solo como a capacidade do mesmo em funcionar

dentro dos limites de um ecossistema natural ou manejado, a fim de sustentar a produtividade biológica, manter ou aumentar a qualidade ambiental e promover a saúde das plantas e dos animais. Essa conceituação traz implícita uma contradição: manejear um sistema natural é alterar sua qualidade ambiental, ou seja, aspectos econômicos (e.g. produção agrícola) são incompatíveis com a preservação do ambiente (aspectos ecológicos). Esse choque de interesses orienta a questão do debate sobre um *desenvolvimento sustentado* com sérias limitações ou até impossíveis dentro dos marcos da economia neoliberal. Um aprofundamento dessa questão será visto mais adiante no capítulo 11 sobre manejo da matéria orgânica sob a perspectiva Agroecológica.

Transformação dos resíduos orgânicos no solo

Em clima úmido e quente os resíduos vegetais que chegam ao solo são rapidamente transformados (Dabin, 1981), podendo sofrer seqüestro imediato pela fração mineral ou transformação através de processos bioquímicos de natureza não clara que levam até a sua estabilização. Através da análise da matéria orgânica de diferentes regiões de clima tropical e subtropical do Brasil, Volkoff & Cerri (1988) postularam que os principais fatores que controlam a formação do húmus (tanto húmus como matéria orgânica serão utilizados daqui para frente como sinônimos da fração de compostos orgânicos do solo formados pelas substâncias húmicas e não-húmicas) são a temperatura, presença ou ausência de bases e drenagem, ou seja, os fatores que mais influenciam a atividade biológica. Indicam, ainda, que a presença de bases tem um efeito mais importante do que os outros fatores. Na ausência de bases, a diferenciação é feita, antes de tudo, em função da drenagem e, em condições bem drenadas, a humificação é controlada pelas mudanças de temperatura. Se uma mudança relativa desses fatores altera as frações que compõem a matéria orgânica, parece óbvio que o estudo das relações entre as frações refletirão a intensidade da atividade biológica sobre o solo. Como o processo de formação da matéria orgânica é lento, flutuações no conteúdo relativo de suas frações expressam mudanças efetivas de curso duradouro. Em outras palavras, é um indicador estável, conservador. Somente mudanças significativas no sistema em estudo serão refletidas na distribuição dos componentes humificados da matéria orgânica.

O conteúdo de matéria orgânica foi definido por Kononova (1968) como o produto do balanço entre as quantidades relativas formadas e decompostas anualmente somadas ao húmus inicial do solo. Essa reserva de compostos orgânicos reflete, principalmente, o balanço entre a produção de biomassa microbiana, a estabilização dos resíduos orgânicos oriundos de plantas e animais e a mineralização dos compostos orgânicos.

A composição química dos resíduos vegetais, principais precursores da matéria orgânica humificada, é bastante conhecida. C, H, O, N, P e S compõem os tecidos, celulose, hemicelulose, proteínas, amido, pectinas, taninos, ligninas e lipídeos totalizam entre 10 a 25% da massa vegetal. Desses constituintes, os principais são a celulose e a hemicelulose (30-65%), as ligninas (8-25%), as proteínas e aminoácidos (1-5%) que, de acordo com sua distribuição relativa, grau de maturidade, natureza dos tecidos incorporados e atuação dos fatores de clima e solo controlam a velocidade de conversão dos compostos de carbono

dos resíduos da fitomassa para matéria orgânica humificada. O coeficiente de humificação dos materiais orgânicos (fração remanescente após um ano de decomposição) varia com a composição química da planta, sendo, via de regra, maior quanto mais elevado o teor de lignina do material, devido à sua maior resistência ao ataque microbiano (Flaig, 1988). A Figura 3.1 mostra os principais constituintes dos vegetais que, ao chegarem ao solo, servirão como substrato para a atividade microbiana e como precursores do processo ecológico da humificação. A decomposição dos resíduos vegetais e animais compreende, em termos teóricos, uma fase inicial de perdas constantes e bastante rápidas, preferencialmente de carboidratos. Uma fase posterior corresponde ao período de perdas mais lentas dominado pela degradação de compostos insolúveis em meio ácido. Em termos médios, as taxas de humificação do carbono fixado pela fotossíntese são da ordem de 0,7% (Zech *et al.*, 1997).

Nem toda a massa remanescente dos processos de decomposição é convertida em húmus e nem todas as substâncias húmicas recentemente formadas são retidas no solo. Uma taxa de estabilização tão baixa de carbono no solo comparada às reservas totais de húmus de solos do mundo inteiro (estimadas em $2,5 \times 10^{12}$ Mg) levou Kononova (1982) a constatar que aproximadamente 1000 anos foram necessários para a formação dessas reservas. Apesar da grande variabilidade intrínseca dos métodos de datação de carbono, os valores obtidos para substâncias húmicas indicam um tempo médio algo entre 250-1000 anos. Para ambientes tropicais, esse tempo tende a ser menor. Por exemplo, a partir de dados de delta C-13 foi estimada uma taxa de renovação de ácidos húmicos de cerca de 13 anos (Canellas *et al.*, 2002b).

Além da relativa estabilização do húmus, é observada a longa duração dos processos de sua formação. A chave dessa questão é: em química do solo, a avaliação de características (atributos do solo) requer que o sistema esteja em equilíbrio, o que é impossível num sistema aberto como o solo e dependente de tempos geológicos. A análise da qualidade do solo a partir de atributos e propriedades químicas da matéria orgânica do solo será o resultado do processo de sua formação e das mudanças proporcionadas pelo manejo (ou os tratamentos de um experimento) que terão pouca influência sobre a distribuição relativa dos componentes humificados num período curto de tempo. Alterações na natureza química das frações humificadas implicarão, portanto, mudanças marcantes nas condições ecológicas e aponta para uma intervenção imediata no sentido de se assegurar a qualidade da matéria orgânica.

Apesar da matéria orgânica humificada no solo apresentar-se como um *continuum* indissociável de compostos de carbono que vão desde os encontrados em células vivas até biomacromoléculas pouco ou muito transformadas, é possível separar distintas frações com base em aspectos químicos, tais como, solubilidade, densidade e massa molar. As diferentes frações de carbono orgânico humificado extraído do solo apresentam características químicas, físicas e morfológicas diferenciadas, e a distribuição destas frações no solo podem indicar, portanto, a qualidade da matéria orgânica. O uso da distribuição relativa das frações de matéria orgânica, como indicador da mudança de manejo do solo ou da qualidade do ambiente, encontra respaldo nos trabalhos de Kononova (1982), Schnitzer & Khan (1978) e Schnitzer (1991).

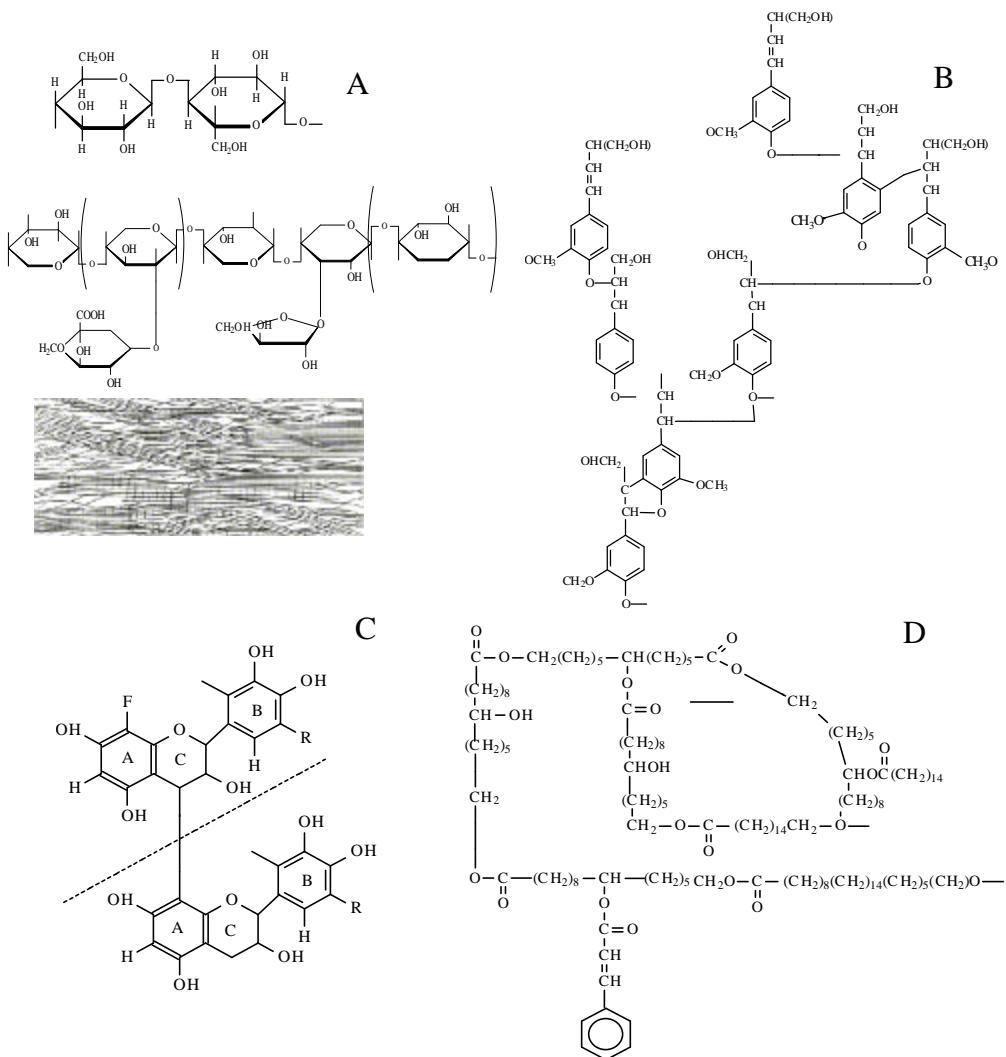


Figura 3.1. A: Monômeros de celulose e de hemicelulose. Rede de microfibrilas responsáveis pela sustentação da parede celular vegetal. B: *Representação esquemática de uma lignina e suas principais* C: *Representação esquemática dos monômeros dos taninos (genericamente conhecidos como os polifenóis do solo)*. D: Esquema representativo de lipídeos presentes nos tecidos vegetais. Todas as figuras foram adaptadas de Kogel-Knabner, I. *Soil Biology & Biochemistry*, 34: 139-162, 2002.

A formação das substâncias húmidas é caracterizada por um processo complexo baseado na síntese e/ou ressíntese dos produtos da mineralização dos compostos orgânicos que chegam ao solo. É possível, teoricamente, simplificar os vários caminhos da humificação em dois mecanismos: a preservação seletiva de biopolímeros e a policondensação de moléculas pequenas (Camargo *et al.*, 1999). Essas transformações incluem um conjunto de reações de oxidação, desidratação, hidrólise, descarboxilação e condensação que são influenciadas pelas condições do solo, tais como, tipo de argila, pH e teor de bases (Zech *et al.*, 1997). Assumindo qualquer das várias possibilidades para o processo de estabilização

dos compostos orgânicos no solo, os ácidos húmicos representam a fração intermediária entre a estabilização dos compostos pela interação com a matéria mineral e a ocorrência de ácidos orgânicos oxidados livres na solução do solo (ácidos fúlvicos livres ou associados). Os ácidos húmicos são, portanto, um marcador da direção do processo de humificação e refletem, como tal, tanto a condição de gênese, como de manejo do solo. Solos de ambientes temperados, naturalmente férteis, apresentam teores relativos maiores de ácidos húmicos e valores da relação C_{AH}/C_{AF} maiores que 1,0 (Kononova, 1982). Já a fração orgânica dos solos tropicais é dominada pelas huminas e, tanto a intensa mineralização dos resíduos, como restrições edáficas à atividade biológica, torna os valores da relação C_{AH}/C_{AF} menores do que 1,0 (Dabin, 1981; Ortega, 1982; Canellas *et al.*, 2000). De acordo com Kononova (1982), a faixa dos valores da relação C_{AH}/C_{AF} para solos temperados varia de 0,7 a 2,5. Para solos tropicais, os valores médios são mais baixos (Ortega, 1982). De uma forma geral, o baixo conteúdo de bases trocáveis nos solos mais intemperizados diminui a intensidade dos processos de humificação (condensação e síntese). Em consequência, a relação C_{AH}/C_{AF} é menor.

Fracionamento químico da matéria orgânica humificada

A Tabela 3.1. apresenta uma possibilidade de interpretação dos dados obtidos a partir do fracionamento químico da matéria orgânica. Note que a interpretação é sempre relativa. Isso denota a importância da contextualização do estudo da matéria orgânica do solo.

Tabela 3.1. Proposta de Interpretação do fracionamento químico da matéria orgânica do solo de acordo com Labrador Moreno (1996).

Índice	Avaliação
C_{AH}/C_{AF}	É um indicador de condensação da matéria orgânica solúvel. Valores normais superiores a 1. Valores inferiores podem indicar: evolução limitada da matéria orgânica devido a razões edáficas ou de manejo; aportes recentes de matéria orgânica.
$C_{HUM}/(C_{AH}+C_{AF})$	Indica a estabilidade estrutural da matéria orgânica. Quanto mais elevado o valor melhor; avaliar mais sua evolução do que os valores absolutos.
$C_{AH}+C_{AF}+C_H/C_{TOTAL}$	Avalia o grau de humificação da matéria orgânica do solo. Valores normais entre 65 e 92%. Valores inferiores podem indicar: resíduos orgânicos recém adicionados ao solo que ainda não tiveram tempo para evoluir; Valores superiores indicam solos empobrecidos sem aportes de matéria orgânica.

É difícil recomendar um valor absoluto de C no solo como sendo o valor ideal, bem como uma concentração de C em cada uma das frações humificadas. É preciso conhecer o ambiente original, a cultura e o grau de impacto que o agricultor proporciona no ambiente agrícola decorrente de sua necessária atividade. A pesquisa sobre matéria orgânica não pode, portanto, perder seu nexo com a história do ambiente estudado que envolve, além das questões ambientais de clima, aspectos sociais e econômicos.

A maioria dos trabalhos realizados diz respeito a solo e de resíduos orgânicos em países de clima frio. O levantamento sistemático dos diversos trabalhos realizados com fracionamento da matéria orgânica na zona tropical asiática, africana e americana ainda está para ser feito. Segue uma revisão de alguns dos trabalhos realizados com solos brasileiros.

Fracionamento químico da matéria orgânica humificada em alguns tipos de solos do Brasil

Para elaboração deste tópico foram revisados diversos trabalhos realizados no Brasil sobre fracionamento das substâncias húmicas. Muitos trabalhos não puderam ser utilizados para o cálculo médio da distribuição das frações húmicas por classe de solo, uma vez que os dados foram apresentados em gráficos. Outros apresentavam os dados do fracionamento, porém não faziam referências aos dados químicos do solo. Além disso, os trabalhos não seguem uma metodologia padronizada de fracionamento dificultando a análise dos mesmos. Como se vê, limitações de ordem metodológica impedem um detalhamento quantitativo mais apurado. No entanto, a análise qualitativa pode ser realizada sem grandes riscos.

Foram coletadas informações dos diferentes horizontes “A” analisados em 99 perfis de solo. Essas informações foram agrupadas nas principais classes de solos, quando possível, ou em função do ambiente (hidromórfico ou não, etc.). Dos trabalhos que não apresentaram informações quantitativas foram coletadas informações qualitativas com vista ao enriquecimento do presente texto.

As fontes de informações, as diferentes classes de solos estudadas, o método de extração utilizado e os respectivos conteúdos de cada fração húmica, podem ser visualizados na Tabela 3.2.

Matéria orgânica humificada nas principais classes de solos do Brasil

Latossolos

Os Latossolos são os solos mais representativos da cobertura pedológica no Brasil, abrangendo cerca de 40% do território brasileiro. Diversos estudos foram realizados com vistas ao entendimento e conhecimento da dinâmica das frações húmicas nestes solos em diferentes regiões bioclimáticas do Brasil.

A composição da matéria orgânica do horizonte superficial de Latossolos Amarelos álicos de textura argilosa a muito argilosa em diferentes regiões bioclimáticas do Brasil foi estudada por Longo (1982). Os Latossolos da região de Viçosa-MG e do Vale do Jequitinhonha apresentaram teores maiores de ácidos húmicos do que o Latossolo da região Amazônica que apresentou maior teor de ácidos fúlvicos em relação aos demais solos estudados. O autor atribuiu esse resultado ao ciclo mais rápido de mineralização da matéria orgânica em solos sob clima quente e úmido como os da Amazônia. Além disso, a ausência de contrastes climáticos suficientes podem impedir a polimerização dos precursores húmicos e sua conversão em compostos de massa molecular aparentemente mais elevada (Andreux & Becerra, 1975).

Tabela 3.2. Principais classes de solos estudadas, frações húmicas em % relativa do carbono total, autores e método utilizado na extração e fracionamento.

Solo	Hor.	AH	AF	H	AH/AF	SHS/H	Autor	Método
-----% do C-----								
Cambissolo	A1	19,6	6,36	62,39	3,1	0,42	Cunha	Dabin
Cambissolo	A1	5,22	16,62	55,69	0,3	0,39	(1998)	
Cambissolo	A1	12,53	11,16	67,09	1,1	0,35		
Cambissolo	Ap	7,18	18,77	62,45	0,4	0,42		
Cambissolo	Ap	12,03	15,41	63,27	0,8	0,43		
Cambissolo	A1	13,27	15,36	63,77	0,9	0,45		

Tabela 3.2. Principais classes de solos estudadas, frações húmicas em % relativa do carbono total, autores e método utilizado na extração e fracionamento (continuação)

Solo	Hor.	AH	AF	H	AH/AF	SHS/H	Autor	Método
Latossolo	A	14,3	24,0	61,7	0,6	0,62	Coelho	Kononova
Latossolo	A	8,8	33,8	57,4	0,3	0,74		(1991)
Latossolo	A	9,6	32,7	57,7	0,3	0,73		
Latossolo	A	8,7	32,6	58,7	0,3	0,70		
Latossolo	A	10,5	31,4	58,1	0,3	0,72		
Latossolo	A	12,7	28,5	58,8	0,4	0,70		
Latossolo	A1	15,9	11,8	61	1,3	0,45	Santa Isabel	Dabin
Latossolo	A1	18,8	14,7	56,5	1,3	0,59		(1988)
Planossolo	A1	13,5	19,6	58,3	1,3	0,66		
Manzatto								
Gleissolo	A1	13,99	15,43	67,35	0,7	0,57		Dabin
Latossolo	A1	0,85	2,3	7,6	0,9	0,44	Borges	Dabin
Latossolo	Ap	0,72	2,7	6,5	0,4	0,41		(1993)
Latossolo	Ap	0,3	2,1	5,8	0,3	0,53		
Latossolo	Ap	0,41	2	5,2	0,1	0,41		
Latossolo	Ap	0,88	2,6	7,2	0,2	0,46		
Organossolo	Hp	33,2	39,4	27,4	0,3	0,48	Conceição	Dabin
Organossolo	Hp	27,5	12,8	59,7	0,8	2,65		(1989)
Gleissolo	Ap	42,7	36,8	20,5	2,1	0,68		
Gleissolo	Ap	29,6	45,2	25,2	1,2	3,88		
Terra preta	A	39,89	9,28	39,34	0,7	2,97	Lima	IHSS
Terra preta	A	34,1	9,53	56,35	4,3	1,25		(2001)
Terra preta	A	29,74	1,98	56,94	3,6	0,77		
Latossolo	A	11,02	30,14	54,41	15,0	0,56		
Latossolo	A	20,27	23,64	58,1	0,4	0,76		
Gleissolo	A	4,81	18,07	67,46	0,9	0,76		
Neossolo	A	11,34	13,4	70,1	0,3	0,34		
Plintossolo	A	18,75	20,13	56,25	0,8	0,35		
Alissolo	A	10,16	15,25	73,3	0,9	0,69		
Plintossolo	A	24,76	14,76	49,52	0,7	0,35		
Latossolo	A1	1,61	2,64	5,07	1,7	0,80	Volkoff	Dabin
Latossolo	A1	0,37	3,85	4,87	0,6	0,84		(1976)
Latossolo	A1	2,11	5,9	9,49	0,1	0,87		
Latossolo	A1	16,29	11,68	18,78	0,4	0,84		
Melo								
Latossolo	A	5,27	20,43	73,62	1,4	1,49		Dabin
Latossolo	A	10,46	25,58	64,34	0,3	0,33	Longo	Schnitzer
Latossolo	A	6,67	17,03	76,29	0,4	0,56		(2000)
Cambissolo	Ap	4,29	4,56	56,93	0,4	0,31	Canellas	Kononova
Cambissolo	Ap	2,74	6,47	69,68	0,9	0,16		(2003)
Cambissolo	Ap	2,12	3,81	38,24	0,4	0,13		
Cambissolo	Ap	1,78	3,3	32,65	0,6	0,16		

Tabela 3.2. Principais classes de solos estudadas, frações húmicas em % relativa do carbono total, autores e método utilizado na extração e fracionamento (continuação)

Solo	Hor.	AH	AF	H	AH/AF	SHS/H	Autor	Método
Latossolo	A1	10,2	12,8	65,4	0,5	0,16	Cunha	Dabin
Latossolo	A1	14,3	9	63,5	0,8	0,35	(2003) Oliveira	
Latossolo	Ap	4,99	41,26	37,02	1,6	0,37	(1990) Canellas	Kononova
Argissolo	Ap	0,42	1,48	52,33	0,1	1,25		Dabin
Argissolo	Ap	0,29	2,07	71,43	0,3	0,04	(2004)	
Argissolo	Ap	0,47	3,61	48,78	0,1	0,03		
Planossolo	A1	2,9	3,65	39,76	0,1	0,08		
Planossolo	A1	2,78	2,19	29,91	0,8	0,16		
Glei	Ap	0,61	2,88	33,4	1,3	0,17		
Terra preta	Au	25	10	51	0,2	0,10	Cunha	IHSS
Terra preta	Au	31	21	52	2,5	0,69	(2005)	
Terra preta	Au	31	22	33	1,5	1,00		
Terra preta	Au	35	9	41	1,4	1,61		
Terra preta	Au	35	13	41	3,9	1,07		
Terra preta	Au	29	13	52	2,7	1,17		
Terra preta	Ap	26	10	49	2,2	0,81		
Terra preta	Ap	40	11	42	2,6	0,73		
Terra preta	Ap	26	16	46	3,6	1,21		
Terra preta	Ap	45	11	41	1,6	0,91		
Terra preta	Ap	46	17	31	4,1	1,37		
Terra preta	Ap	37	15	56	2,7	2,03		
Terra preta	Ap	25	11	61	2,5	0,93		
Terra preta	Ap	41	8	31	2,3	0,59		
Terra preta	Ap	28	11	41	5,1	1,58		
Terra preta	Ap	26	11	43	2,5	0,95		
Terra preta	Ap	28	8	39	4,7	0,85		
Terra preta	Ap	18	16	51	3,5	0,92		
Latossolo	A	22	20	43	1,1	0,67		
Latossolo	A	16	21	55	1,1	0,98		
Latossolo	A	19	8	48	0,8	0,67		
Latossolo	A	25	10	51	2,4	0,56		
Plintossolo	A1	21	36	46	0,6	1,24	Benites	IHSS
Planossolo	Ap	21	29	44	0,7	1,14	(2000)	
Argissolo	Ap	16	25	46	0,6	0,89		
Argissolo	AP	11	24	55	0,5	0,64		
Chernossolo	Ap	15	17	59	0,9	0,54		
Planossolo	Ap	17	30	61	0,6	0,77		
Luvissolo	Ap	14	23	54	0,6	0,69		
Luvissolo	Ap	11	27	53	0,4	0,72		

Tabela 3.2. Principais classes de solos estudadas, frações húmicas em % relativa do carbono total, autores e método utilizado na extração e fracionamento (continuação)

Solo	Hor.	AH	AF	H	AH/AF	SHS/H	Autor	Método
Neossolo	Ap	16	24	41	0,7	0,98	Benites	IHSS
Argissolo	Ap	19	33	58	0,6	0,90	(2000)	
Luvissolo	Ap	11	28	56	0,4	0,70		
Latossolo	Ap	12	35	43	0,3	1,09		
Latossolo	Ap	14	31	51	0,5	0,88		
Latossolo	A1	15	28	47	0,5	0,91		
Latossolo	A1	12	41	45	0,3	1,18		
Cambissolo	A	16	25	50	0,6	0,82		
Nitossolo	A1	13	35	46	0,4	1,04		
Nitossolo	Ap	11	34	54	0,3	0,83		
Latossolo	Ap	12	37	49	0,3	1,00		
Argissolo	A	19	26	43	0,7	1,05		

AH: ácidos húmico; AF: ácido fúlvico; H: humina; AH/AF: razão ácido húmico/ácido fúlvico; SHS/H: substâncias húmicas solúveis/humina;

Estes fatores devem contribuir para que a velocidade de condensação dos precursores húmicos ocorra de forma menos acentuada nos Latossolos da região Amazônica. A relação AH/AF foi de 1,02, para os Latossolos da região de Viçosa (clima temperado chuvoso mesotérmico) e Vale do Jequitinhonha (clima contrastado em estações secas e úmidas) e de 0,66 para os Latossolos da Amazônia (clima úmido). Somente para o Latossolo de Viçosa foi realizado o estudo em profundidade e foi observado aumento da fração ácidos fúlvicos com a mesma, onde a relação AH/AF diminuiu de 1,02 no horizonte superficial para 0,31 em subsuperfície.

Comparando a composição do húmus de Latossolos Amarelos na Amazônia, sob diferentes coberturas vegetais (capoeira jovem, sob floresta primária e sob capoeira de 35 anos) Manarino *et al.* (1982), concluíram que a matéria orgânica humificada do solo sob capoeira jovem se distingue nitidamente daquele do solo sob floresta. Sob capoeira de 35 o fracionamento apresentou resultados muito próximos ao obtido na floresta.

Na Amazônia, a maior parte do carbono constituinte da matéria orgânica humificada do solo sob floresta natural encontra-se na forma de ácidos fúlvicos livres (30%) e humina (50%). O restante (20%) distribui-se nas frações alcalino-solúveis (ácidos húmicos e fúlvicos ligados), Manarino *et al.*, (1982). De modo geral, foi verificado que, em profundidade, ocorre aumento dos ácidos fúlvicos livres, mas a fração humina manteve-se praticamente constante ao longo do perfil. Já as frações alcalino-solúveis diminuíram em profundidade. Tanto na serrapilheira como no solo, a razão AH/AF correlacionou-se com os teores de H^+ e Al^{+++} , ou seja, tanto a serrapilheira como o solo com maior conteúdo de ácidos húmicos são mais ácidos. Para os autores, o desmatamento, mesmo seguido por cultura de curta duração, provoca importantes mudanças na dinâmica do carbono, resultando numa distribuição diferente do carbono no perfil do solo, numa modificação das características da matéria

orgânica humificada e no aumento da acidez do solo. Neste caso, o novo estado húmico não é permanente, sendo a matéria orgânica possuidora de características de agente desestabilizador. É pouco condensada e ácida e se o solo desmatado for mantido sob cultura contínua, seria necessário limitar a acidificação e a lixiviação utilizando-se plantas de cobertura apropriada.

Em Latossolos distróficos da Floresta Amazônica na região do rio Madeira, Volkoff & Cerri (1981) verificaram que a matéria orgânica humificada do horizonte A foi diferente daquela encontrada em profundidade. No horizonte A foi observada a seguinte composição: 50% de carbono na humina, 15% nos ácidos fúlvicos livres e 35% nos alcalino-solúveis. Já o horizonte B o húmus apresentou: 40% de carbono na forma de humina, 40% nos ácidos fúlvicos livres e 20% nos alcalino-solúveis. Nestes solos tanto no horizonte A como no horizonte B a fração alcalino-solúvel foi constituída por proporções elevadas de ácidos fúlvicos. Apesar dos autores não terem apresentado a razão AH/AF ao longo dos perfis, ficou claro que a fração ácidos fúlvicos foi a dominante em relação à fração ácidos húmicos ao longo de todo o perfil de solo. A fraca condensação e a rápida renovação são as características da matéria orgânica humificada na superfície do solo diretamente relacionada com a dinâmica da floresta (Volkoff & Cerri, 1981).

De modo geral, em solos ferralíticos típicos de clima tropical úmido, verifica-se uma dominância importante dos ácidos fúlvicos sobre os ácidos húmicos e a relação AH/AF diminui à medida que aumenta a profundidade (Dabin, 1981). Comportamento bastante diferente é observado nas frações húmicas de Latossolos possuidores de horizonte A antrópico (Terra Preta de Índio), quando comparados a outros Latossolos não antropogênicos (Cunha, 2005). O horizonte A antrópico é bastante enriquecido em bases trocáveis, principalmente Ca^{++} , apresenta pH em torno de 6,5, teor elevado de matéria orgânica e portanto, elevada fertilidade química. O conteúdo elevado de carbono nos solos antropogênicos, mesmo localizados em ambientes favoráveis à decomposição e lixiviação, pode ser atribuído à formação de complexos de alta estabilidade matéria orgânica-cálcio, ou ainda, à própria composição da matéria orgânica rica em carbono pirogênico (carvão) adicionado ao solo pela atividade dos povos indígenas pré-colombianos. Um estudo sistemático deste solo poderá indicar o caminho para uma agricultura sustentável nos trópicos úmidos e quentes. Uma forte indicação já pode, no entanto, ser obtida com o fracionamento químico da matéria orgânica. A maior parte das substâncias húmicas destes solos é constituída pela fração humina, sendo a fração ácidos húmicos a dominante das frações alcalino-solúveis. A fração ácidos húmicos nos solos antropogênicos encontra-se num estádio mais avançado de humificação, devido à maior concentração de estruturas estáveis (aromáticas) e reativas (grupos carboxílicos). Na Tabela 3.3 pode-se observar o maior enriquecimento em ácidos húmicos nos Latossolos antropogênicos comparados com outros Latossolos do Brasil. Verifica-se também um grande predomínio da fração ácidos fúlvicos em relação à fração ácidos húmicos e uma dominância da fração humina nos Latossolos não antropogênicos. O predomínio da fração ácidos húmicos sobre a fração ácidos fúlvicos nos solos antropogênicos, ao contrário do que se observa nos demais solos de terra firme e várzea da Amazônia, pode ser o resultado de intensa humificação e rápida mineralização de grandes quantidades de material orgânico rico em N, P, e Ca incorporados ao solo (Zech *et al.*, 1990).

Tabela 3.3. distribuição percentual das frações humificadas em relação ao carbono total de alguns solos brasileiros

Tipo de solo	H	AF	AH	AH/AF
	% do carbono total			
Latossolos	44	17	10	0,60
Terra Preta do Índio	45	12	33	2,75
Argissolos	57	10	4	0,40
Cambissolos	57	10	8	0,80
Neossolos	70	13	11	0,85
Organossolos	43	26	30	1,16
Planossolos	43	8	6	0,75
Plintossolos	53	17	21	1,25
Gleissolos	43	24	18	0,77
Média (excluída as terras pretas)	51	16	13	0,82

H: humina; AF: ácidos fulvicos; AH: ácidos húmicos

Em Latossolos antropogênicos sob mata, a fração ácidos húmicos foi dominante no horizonte A antrópico e quando sob uso agrícola foi dominante em todo o perfil do solo, inclusive no horizonte Bw, em relação à fração ácidos fulvicos (Figura 3.2). Neste caso, o cultivo favorece a oxidação de frações humicas menos evoluídas e o acúmulo relativo de frações mais estáveis (ácidos húmicos e humina).

Em relação a Latossolos sob cerrado, Volkoff & Cerri (1988), verificaram que a matéria orgânica humificada foi composta de aproximadamente 50% de humina e que as frações alcalino-solúveis predominavam sobre os ácidos fulvicos livres. Em profundidade, a proporção de humina permaneceu constante e a fração ácidos fulvicos livres predominou sobre as frações alcalino-solúveis. A razão AH/AF nestes solos foi igual ou inferior a 1, indicando a predominância de frações menos evoluídas, estando estas relacionadas à reação ácida dos solos sob cerrado.

Em Latossolos em região semi-árida, Santa-Isabel (1988), verificou que a matéria orgânica humificada foi caracterizada pelo enriquecimento em huminas (mais de 60% do carbono total) e que a fração alcalino-solúvel foi constituída, principalmente, por compostos orgânicos pouco condensados (ácidos fulvicos precursores, ácidos húmicos marrons e provavelmente ácidos hidrossolúveis). Ocorre naturalmente uma concentração maior de ácidos húmicos em superfície (razão AH/AF = 1,35) e diminuição em profundidade (razão AH/AF = 0,27). A maior atividade biológica em superfície junto com o maior aporte de resíduos orgânicos concorre para a formação de substâncias húmicas alcalino solúveis mais condensadas.

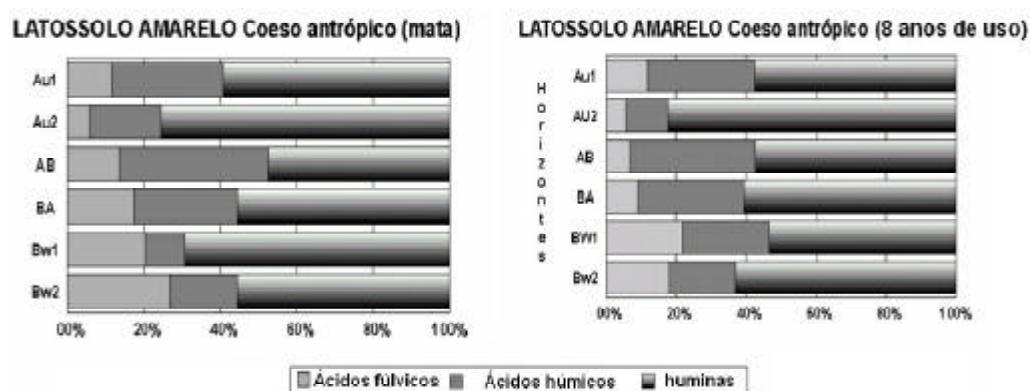


Figura 3.2. Distribuição das frações húmicas em perfis de Latossolos Antrópicos da Amazônia, (Cunha, 2005).

Em Latossolos Amarelos coesos distróficos de tabuleiro na região do Recôncavo Baiano Cunha *et al.*, (2003b), verificaram que a maior parte do carbono foi encontrada na fração humina, seguida pela fração ácidos fúlvicos, semelhante ao comportamento observado por Santa Isabel (1988). Os valores da razão AH/AF foram sempre menores do que 1 indicando predomínio da fração ácidos fúlvicos sobre a fração ácidos húmicos ao longo de todo o perfil de solo. Também verificou-se aumento da fração ácidos fúlvicos livres com a profundidade e diminuição da fração humina.

Em Latossolos distróficos do Nordeste sob floresta tipo equatorial úmida, floresta de altitude com clima mais seco e vegetação de caatinga, foi observado que o conteúdo de matéria orgânica não depende diretamente dos aportes vegetais, mas sim dos fatores climáticos tais como, temperatura e umidade (Volkoff, 1977). Sob clima quente e úmido os baixos teores de matéria orgânica são explicados, sobretudo, pela mineralização rápida da matéria orgânica. Sob clima seco e frio, ao contrário, ocorre uma diminuição da biodegradação e consequentemente maior acumulação de matéria orgânica. A repartição do húmus em Latossolos distróficos evidenciou que a matéria orgânica leve é quase inexistente, resultado da pequena persistência dos produtos vegetais no solo, pois a mesma é rápida e totalmente humificada (Volkoff, 1977). A proporção das frações alcalino-sólíveis é muito grande representando entre 60 a 70% do carbono total do solo. A humina apresenta os menores teores (10 a 20% do carbono total). A repartição do carbono ao longo de 50 a 100 cm de profundidade indicou que os compostos orgânicos percussores da humificação liberados dos restos vegetais na superfície não eram imediatamente imobilizados e migravam até grandes profundidades. A fração ácidos fúlvicos livres representou entre 1 a 6% do carbono total do solo em superfície chegando a compor entre 40 - 60% do C em profundidade, consequentemente houve diminuição da razão AH/AF. Os ácidos fúlvicos livres constituem uma das frações mais importantes do húmus dos Latossolos distróficos e sua presença está associada à presença do Al^{+++} trocável (Volkoff, 1977). Em Latossolos distróficos do Nordeste, os restos vegetais são rapidamente mineralizados formando grande quantidade de produtos pré-húmicos solúveis. Estes produtos podem migrar para baixo do perfil. A forte humificação, a instabilidade das matérias húmicas formadas, a abundância e permanência de frações de massa molecular aparentemente menos elevada e, ainda, o deslocamento destas frações mostram que, nos Latossolos distróficos, a matéria orgânica pode exercer uma ação importante na mobilização de elementos minerais. As substâncias húmicas mais móveis migram para o horizonte B. A sua acumulação pode explicar o aparecimento de características estruturais particulares, como uma consistência mais forte, ligada à desorganização estrutural do horizonte B (Volkoff & Andrade, 1976).

Em resumo, na superfície dos Latossolos, a mineralização dos detritos vegetais é sempre rápida; os produtos pré-húmicos que se formam no decorrer da mineralização migram facilmente em profundidade; uma proporção variável desses produtos dá origem a ácidos fúlvicos (AFL) que são adsorvidos nas argilas ou retidos sob forma de complexo com o alumínio; o restante precipita e se condensa mais ou menos rapidamente, transformando-se em ácidos húmicos e também em produtos de massa molecular relativamente mais elevada que vão integrar a humina (Volkoff & Andrade, 1976; Volkoff, 1977). No que diz respeito ao húmus dos Latossolos distróficos este é constituído por duas partes: uma bastante transitória e outra mais permanente. Na primeira, têm-se os ácidos húmicos e uma fração da humina herdada. A outra parte é formada pelos ácidos fúlvicos e uma outra fração da humina chamada de humina de precipitação. No horizonte A, a humina se renova mais rapidamente que todas as frações, enquanto que em profundidade ela aparece mais estável. Os ácidos fúlvicos livres, no horizonte A são, em comparação a outras frações, os que se renovam mais lentamente e, em profundidade, eles se renovam quase tão

lentamente quanto a humina (Volkoff *et al.*, 1978).

Argissolos e Cambissolos

Argissolos e Cambissolos eutróficos, ricos em argila montimorilonita e vermiculita foram estudados por Volkoff *et al.*, (1989). Na parte superior do perfil do Cambissolo argissólico e do Argissolo câmbico, 50 a 60% do carbono foi encontrado na forma de humina, enquanto 40 a 50% nas frações alcalino-solúveis. Na parte inferior dos perfis foi verificado que apenas entre 10 a 20% do carbono constituíram a fração alcalino-solúvel. A maior parte do carbono foi encontrado na fração humina. Nos dois solos estudados por Volkoff e colaboradores foi verificada pouca quantidade de ácidos fúlvicos livres (menos de 10%). Foi observado, ainda, acúmulo de ácidos fúlvicos livres na superfície; o conteúdo de ácidos alcalino-solúveis foi na ordem de 50-60% do carbono total, sendo a maior parte pertencente à fração huminas. Em subsuperfície foram observadas quantidades não negligenciáveis de ácidos fúlvicos livres (20% do carbono total). Neste solo a razão AH/AF foi sempre menor do que um.

Num Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico submetido a diferentes sistemas de cultivo, foi observado por Saraiva (1987) que a fração ácidos fúlvicos foi três a quatro vezes maior do que a fração ácidos húmicos. O autor verificou que a humina correspondeu a mais da metade do carbono do solo, em todas as situações analisadas. Comportamento semelhante também foi verificado em estudos realizados por Parra (1986) e Nascimento (1989).

Em frações humificadas da matéria orgânica de uma toposequência no estado do Rio de Janeiro, foi verificado que os perfis situados nos terços superior e médio da encosta apresentaram maior percentual de humina do que os perfis situados no terço inferior e em geral, menor percentual de ácidos húmicos, mesmo nos Argissolos eutróficos (Canellas *et al.*, 2000). O valor da razão AH/AF foi sempre menor do que um em praticamente todos os horizontes dos perfis estudados. Entretanto, observou-se que os valores desta relação aumentaram com a descida na encosta.

Estudando a composição da matéria orgânica de Cambissolos eutróficos desenvolvidos sob calcário na região de Irecê-Ba, Cunha & Ribeiro (1998) observaram que a fração humina representou mais de 50% do carbono total. Sob cultivo, os solos apresentaram maiores quantidades de ácidos fúlvicos. Entretanto, esta fração diminuiu em profundidade. No solo sob mata foi observado menor quantidade de ácidos fúlvicos livres e maior de humina. A diminuição em profundidade foi atribuída ao teor elevado de cálcio que promove a estabilização dos compostos orgânicos e à transformação imediata dos compostos orgânicos precursores hidrossolúveis. A migração da fração solúvel pode ser desfavorecida uma vez que o cálcio pode provocar precipitação dos ácidos fúlvicos, que seguida pelas reações de condensação provocada pela ação de outros íons tais como ferro por exemplo, favorecem a formação de substâncias húmicas mais condensadas (Jacquin *et al.*, 1980).

A composição média do húmus do horizonte superficial de Argissolos e Cambissolos do Brasil pode ser observada nas Tabela 3.3. Pode ser observados o predomínio da fração humina e baixo conteúdo de ácidos húmicos nos Argissolos estudados. A distribuição da fração humificada nos Cambissolos também é qualitativamente a mesma, ou seja, maior conteúdo de humina, predominância de ácidos fúlvicos em relação aos ácidos húmicos nas frações alcalino solúveis.

Solos com problemas de hidromorfia

A natureza da matéria orgânica humificada é determinada por fatores diretamente ligados ao solo, principalmente à presença ou à ausência de nutrientes (Volkoff & Cerri, 1988, 1980, 1981;

Volkoff *et al.*, 1984). Em condições de drenagem impedida ou má drenagem (Volkoff & Cerri, 1980) observaram uma proporção elevada de frações alcalino-solúveis com razão AH/AF > 1, e os ácidos húmicos com valores baixos para a relação E_4/E_6 (para ver detalhes da razão E_4/E_6 , consulte o capítulo 5) tanto em meio alcalino como nos Gleissolos, como em meio distrófico nos Plintossolos (Volkoff & Cerri, 1981). Foi observada ausência da fração ácidos fúlvicos livres no Gleissolo, enquanto que no Plintossolo essa fração foi abundante. Isso pode ser um indicativo de que a formação de ácidos fúlvicos livres ocorre em ambientes ácidos, ou seja, independe das condições de drenagem (Cerri & Volkoff, 1988). Em relação aos outros solos, os solos hidromórficos apresentam-se relativamente enriquecidos em ácidos húmicos.

Em Vertissolos, Gleissolos e Planossolos (todos distróficos em superfície e eutróficos em profundidade) foi verificado que o húmus apresentou composição bastante semelhante (Cerri & Volkoff, 1988). A matéria orgânica encontrava-se bastante humificada e aproximadamente 50% do húmus foi constituído de frações alcalino-solúveis. Os ácidos húmicos, no entanto, apresentaram baixa mobilidade eletroforética e pequena absorção de luz na região do visível, o que caracterizou um húmus de elevado grau de maturação. Nesses três solos foi observada uma pequena quantidade de ácidos fúlvicos. Estes ácidos estão geralmente associados a solos distróficos.

Em solos de restinga, sob influência da hidromorfia, Gomes *et al.*, (1998), verificaram em Espodossolos que a fração ácidos húmicos foi dominante em relação à fração ácidos fúlvicos, e a razão AH/AF foi sempre maior do que 1 ao longo de todos os perfis estudados. Farmer *et al.* (1983), também verificaram em horizontes Bh de Espodossolos hidromórficos que mais de 90% da fração extraível foi composta pela fração ácidos húmicos. Cerri & Volkoff (1988) encontraram valores similares para outros Espodossolos. Gomes *et al.*, (1998) verificaram decréscimo da razão AH/AF em profundidade nos perfis de Espodossolos brasileiros e atribuíram este comportamento à maior mobilidade e menor condensação dos ácidos fúlvicos em relação aos ácidos húmicos, permitindo que os ácidos fúlvicos estejam presentes em maiores proporções nas partes inferiores dos horizontes Espódicos. Alterações na matéria orgânica de um Espodossolo hidromórfico pelo uso com pastagens cultivadas no Pantanal Mato-grossense foram estudadas por Fernandes *et al.*, (1999). Os autores observaram alterações nas proporções relativas das frações húmicas em função da introdução da pastagem. No cerrado nativo predominou a fração ácidos fúlvicos (82% do carbono total); sob pastagem de dez anos, predominou a fração humina (62% do carbono total) em detrimento da fração ácidos fúlvicos, além de uma pequena diminuição no conteúdo de ácidos húmicos. No solo sob pastagem (20 anos) os ácidos fúlvicos voltaram a predominar novamente, seguido pela fração ácidos húmicos e diminuição do conteúdo de humina diminuiu. Após 20 anos de cultivo da pastagem foi observado uma redução de 28% no conteúdo de carbono na profundidade de 0-40 cm. Essa dinâmica de evolução das frações húmicas foi atribuída por Fernandes *et al.*, (1999) como uma consequência do aumento do conteúdo de cálcio que tem papel importante na formação de humatos de cálcio (Oades, 1988). Uma elevação no conteúdo de cálcio pode provocar aumento no conteúdo das frações húmicas mais estáveis representado pelo aumento da humina observado no solo sob pastagem de dez anos. A diminuição dos teores de cálcio no perfil sob pastagem de 20 anos, até valores próximos aos observados no solo sob cerrado nativo, pode ter provocado diminuição do conteúdo de humina e aumento do conteúdo de ácidos fúlvicos, fração menos estável, característica de solos mais ácidos (Cerri & Volkoff, 1988).

Uma evolução parecida dos compartimentos húmicos foi observado por Dabin (1982) em solos da Costa do Marfim, onde o cultivo contínuo, durante cinco anos, com uma leguminosa do gênero *Pueraria*, levou a aumentos nos teores de cálcio, acompanhados de aumentos do carbono

total e da fração humina. De modo inverso, numa área contígua submetida a cultivo contínuo com milho foi observada diminuição nos teores de cálcio, com predomínio de ácidos fúlvicos na fração húmica.

O predomínio da fração ácidos fúlvicos em solos de cerrado também foi observado por Andreux & Becerra (1975) estudando áreas de savana inundáveis na Colômbia sob solos arenosos. Segundo esses autores, nas áreas de solos mais arenosos, a alta porosidade favorece o arraste dos precursores húmicos para as camadas mais profundas. Além disso, a baixa disponibilidade de água nas camadas superficiais durante a estação seca é um fator limitante para a atividade biológica e, consequentemente, para a condensação dos precursores da humificação, refletindo em valores baixos da razão AH/AF.

Em Organossolos da baixada litorânea do Rio de Janeiro Freixo *et al.* (1997) verificaram que a matéria orgânica humificada foi constituída, principalmente, pela fração humina e apenas uma pequena parte pelas frações alcalino-solúveis. Os valores da razão AH/AF foram próximos da unidade. Conceição (1989), estudou solos hidromórficos de elevado teor de matéria orgânica (Organossolos e Gleissolos Distróficos) e constatou que o húmus apresentou um conteúdo relativamente baixo de ácidos fúlvicos livres e de humina e proporções mais elevadas de substâncias alcalino-solúveis principalmente de ácidos húmicos. Nos solos orgânicos, a razão AH/AF variou de 2,1 em superfície até 1,6 em profundidade. No Gleissolo os valores para esta razão foram da ordem de 0,4 em superfície a 0,7 em profundidade. Freixo *et al.* (1997) e Valadares (2003), verificaram baixos teores de substâncias húmicas alcalino-solúveis em outros Organossolos do Estado do Rio de Janeiro. Ambos os trabalhos relatam a predominância da fração humina na composição da matéria orgânica destes solos indicando a necessidade de estudos mais sistemáticos sobre o fracionamento químico da fração humificada dos solos orgânicos.

Na região semi-árida do Rio Grande do Norte a matéria orgânica humificada de um Gleissolo eutrófico, rico em argila montmorilonita, apresentou a mesma composição ao longo de todo o perfil do solo (Volkoff & Cerri, 1980). Foi observado um conteúdo baixo de humina e aumento nas frações alcalino-solúveis, principalmente ácidos húmicos extraídos com pirofosfato de sódio. Foram encontrados, ainda, valores entre 1 e 2 para a razão AH/AF. Os autores observaram influência da reação do meio e do tipo de argila sobre a distribuição das frações humificadas. O meio alcalino e a argila do tipo 2:1 (montmorilonita), favorecem o processo de condensação das substâncias húmicas uma vez que esta é um processo ecológico mediado pela atividade biológica favorecida nestas condições.

Em solos degradados de várzea (Gleissolos distróficos) localizados no Rio de Janeiro Manzatto (1990), observou o domínio da fração humina (60%) sobre as frações alcalino-solúveis (20-30%) e ácidos fúlvicos livres (menos de 10%). A concentração de humina foi atribuído à humificação direta dos tecidos lignificados modificados por processos de demetilação, uma vez que as vias de humificação através dos mecanismos de insolubilização e de neossíntese microbiana são bastante reduzidas em condições de hidromorfismo (Duchaufour, 1977). A maior parte das frações alcalino-solúveis correspondeu aos ácidos húmicos. Uma composição semelhante do húmus de Gleissolos foi descrita por Ortega (1982), que também relacionou o alto conteúdo de humina às condições hidromórficas que limitam os processos de humificação da matéria orgânica, dominantes durante a formação desses solos. Por outro lado, Cerri & Volkoff (1988) encontraram proporções mais elevadas das frações alcalino-solúveis, menos de 50% da fração humina e proporção muito reduzida de ácidos fúlvicos livres na matéria orgânica humificada de Gleissolos eutróficos com argila de atividade alta da ilha do Marajó. Da mesma forma, Conceição (1989) estudando a composição do húmus de Gleissolos álicos com argila de atividade alta no Rio de

Janeiro, detectou um predomínio das frações alcalino-solúveis sobre as frações humina e ácidos fúlvicos livres em proporções semelhantes àquelas obtidas por Cerri & Volkoff (1988). A proximidade destes resultados foi atribuída à presença de argila de atividade alta e de cátions polivalentes (Ca^{++} , Mg^{++} e Fe^{+++}), que atuam intensificando os processos de condensação e estabilização dos ácidos húmicos desencadeados, provavelmente, no período de drenagem sazonal ou artificial.

O predomínio da fração ácidos fúlvicos em relação à fração ácidos húmicos em todo o perfil do um Gleissolo distrófico foi observado por Manzatto (1990). Nesse solo, a razão AH/AF foi maior nos horizontes superficiais ($\text{AH/AF}=0,7$), enquanto em profundidade a fração ácidos fúlvicos foi mais dominante ($\text{AH/AF}=0,2$). Ortega (1982), também observou decréscimo da razão AH/AF com a profundidade em Gleissolos, com valores mudando de 1,0 em superfície para 0,7 a 50 cm de profundidade. O autor atribuiu a maior proporção de AH em superfície à melhor aeração do horizonte superficial nos períodos de abaixamento do lençol freático, que favorece a atividade biológica e, por conseguinte, a mineralização da matéria orgânica e a produção de compostos fenólicos solúveis, os quais por sua vez, através de processos de policondensação dão origem a fração ácidos húmicos (Duchaufour, 1977). A presença de um horizonte glei quase que permanentemente reduzido, torna desfavorável a síntese de ácidos húmicos, podendo contribuir para a formação preferencial de substâncias húmicas pouco condensadas e humina em profundidade conforme constatado no estudo realizado por Manzatto (1990). Dessa forma, podemos observar que a presença ou ausência de hidromorfia modifica a distribuição das frações húmicas. Martins (1987) verificou que essa distribuição foi idêntica nos solos imperfeitamente e moderadamente drenados, porém diferente da encontrada nos solos bem drenados. As diferenças ocorreram, principalmente, na fração ácidos húmicos e nos ácidos fúlvicos ligados. Em solo bem drenado foi observado maior conteúdo de ácidos húmicos e menor de ácidos fúlvicos extraídos com hidróxido de sódio. Este comportamento sugere o favorecimento da formação de ácidos húmicos em detrimento dos ácidos fúlvicos em solos bem drenados, ou seja, de condições físicas favoráveis à atividade biológica.

A composição da matéria orgânica de Gleissolos degradados foi estudado por Conceição (1989) que observou menor razão AH/AF (0,7) em solos com horizonte A parcialmente decapitado em relação a uma maior razão AH/AF (1,2) em solos onde o horizonte A não se encontrava degradado. Manzatto (1990) observou que o cultivo em Gleissolos promoveu variações rápidas na distribuição das frações húmicas ao longo do ciclo da cultura de arroz inundado. Estas consistiram, resumidamente, em aumento na proporção dos ácidos húmicos e ácidos fúlvicos livres e diminuição das frações humina e ácidos fúlvicos ligados, indicando que, além da mineralização, a matéria orgânica destes solos deve sofrer processos de condensação com o cultivo. Não foi verificado efeito da aplicação de doses de calcário + aração profunda na distribuição das frações humificadas após o cultivo. Entretanto, quando a aração não foi seguida pela calagem, a quantidade de ácidos fúlvicos diminuiu e de humina aumentou, sugerindo que a aração pode favorecer a insolubilização das frações mais lábeis. Nas parcelas que receberam apenas doses de calcário e não foram aradas foi observada uma redução no conteúdo de ácidos fúlvicos e aumento da fração humina. Esse comportamento foi atribuído por Manzatto (1990) à ação do cálcio na formação de agregados estáveis insolúveis. O papel do cálcio na estabilização das substâncias húmicas foi discutido por Duchaufour (1970).

A composição do húmus de Organossolos e Gleissolos do sudoeste da Bahia, distróficos e álicos, respectivamente, foi estudada por Couto & Resende (1985). Foi observado maior evolução do húmus nos Organossolos (predomínio de ácidos húmicos). Os autores não apresentaram

dados quantitativos referentes às diferentes frações húmicas.

Santa-Isabel (1988) observou em Planossolos predomínio da fração humina na composição da matéria orgânica. Os ácidos fúlvicos constituíram a maior parte da fração solúvel em todo o perfil. Foi verificado, ainda, baixo teor de ácidos fúlvicos livres. A composição do húmus destes solos foi atribuída à presença de hidromorfia que dificulta a evolução das substâncias húmicas. Modificações no uso do solo proporcionaram mudanças na composição da matéria orgânica de um Planossolos hidromórficos somente nos primeiros 5. Foi verificado diminuição no conteúdo de ácidos fúlvicos nos sistemas sob cultivo, revelando tendência de maior redução desta fração nos sistemas com maior revolvimento do solo. A maior parte do carbono total foi encontrado na forma de humina (46-62%), seguida pela fração ácidos húmicos (25-40%) e fúlvicos (7-2%) independente do sistema de manejo. Os sistemas de cultivo do solo com preparo convencional reduziram os teores de carbono total e das frações ácidos húmicos e humina, quando comparado ao solo com cobertura vegetal original.

Canellas *et al.* (2000) verificaram, em ambiente com drenagem limitada, que o impedimento de drenagem encontrado no terço inferior da encosta e o fluxo vertical de água mais intenso favorecem as reações de policondensação dos compostos orgânicos, aumentando a relação AH/AF à medida que se descia na encosta, onde ocorrem os Planossolos e Gleissolos. A posição do solo na toposequência influencia a dinâmica da água, que por sua vez, condiciona os teores das frações da matéria orgânica, principalmente das frações ácidos fúlvicos livres e ácidos fúlvicos, que são transportados pelo fluxo lateral e vertical de água no relevo.

A composição média do húmus do horizonte superficial de alguns solos sob influência de hidromorfia pode ser observada na Tabela 3.3. Nos Gleissolos e Planossolos verificou-se o predomínio da fração ácidos fúlvicos sobre a fração ácidos húmicos. Nos Organossolos e Plintossolos a fração ácidos húmicos predomina sobre a fração ácidos fúlvicos. A fração humina foi a fração com maiores teores nos diferentes solos estudados.

Solos de campos de altitude

A composição da matéria orgânica humificada dos horizontes superficiais de três solos distróficos de campo de altitude em Minas Gerais, Paraná e Santa Catarina (Cambissolo, Chernossolo e Cambissolo húmico, respectivamente), estudados por Volkoff *et al.*, (1984) foi marcada pela nítida acumulação de material humificado. O fracionamento da matéria orgânica apresentou as seguintes características: proporção elevada de ácidos fúlvicos livres (10-20%) e de frações alcalino-solúveis (40%) no horizonte A acompanhado do menor conteúdo de humina (40%). Foi observado (nos três solos) aumento dos ácidos fúlvicos livres em profundidade. Em conclusão, o húmus desses solos foi constituído de ácidos fúlvicos e húmicos facilmente extraíveis, ou seja, de produtos de pequeno grau de condensação, o que evidencia certa mobilidade das frações. Uma composição similar foi encontrada em horizontes Bh de Espodossolos (Turenne, 1977) e A de Andossolos (Hetier, 1975) e atribuídas à existência de complexos organo-minerais, com o alumínio. Para Volkoff *et al.* (1984), a participação do alumínio no processo de acumulação do húmus não pode ser negligenciada e, nas condições climáticas dos campos de altitude, a temperatura suficientemente baixa diminui a rapidez do processo de mineralização das substâncias húmicas do solo.

A maior prevalência de ácidos fúlvicos nos solos de reação ácida pode resultar, em longo prazo, em ambientes menos favoráveis à atividade microbiana, com concomitante redução na fertilidade do solo (Silva *et al.*, 2000). Benites *et al.* (2001) caracterizaram a matéria orgânica

de Neossolo Litólico, Espodossolo Ferrocárbico e Cambissolo Húmico, todos álicos, sob campos de altitude no parque estadual da Serra do Brigadeiro em Minas Gerais. Foi observado teores elevados de ácidos fúlvicos (26% do carbono total) e predomínio da fração humina, principalmente nos horizontes superficiais.. A razão AH/AF diminuiu com o aumento da profundidade em todos os solos estudados. Valores elevados da razão AH/AF (da ordem de 3,2) foram observados apenas no horizonte A do Neossolo Litólico e Espodossolo Ferrocárbico. A composição média do húmus do horizonte superficial de Neossolos pode ser observada na Tabela 3.3. Verifica-se o predomínio da fração ácidos fúlvicos sobre a fração ácidos húmicos e uma alta percentagem da fração humina.

Baseado nos dados desta revisão pode-se concluir que na maior parte dos solos do Brasil, os horizontes superficiais são enriquecidos em humina e em ácidos fúlvicos (exceção para os solos antropogênicos e alguns organossolos). Segundo Mendonça & Rowell (1994), a predominância de ácidos fúlvicos deve-se à limitação nas reações de condensação, enquanto a predominância da humina é atribuída à rápida insolubilização dos resíduos vegetais que chegam ao solo (Canellas *et al.*, 2003). No que diz respeito à distribuição das frações húmicas no perfil do solo, degradados ou não, observou-se que dos solos estudados apenas 14% destes apresentaram razão AH/AF > 1 no horizonte superficial, não considerando as Terras Pretas. Quando no cálculo foram incluídos os dados provenientes de solos antropogênicos a percentagem passou para 35%. Em subsuperfície, na maioria dos casos que puderam ser analisados, a razão AH/AF foi sempre menor do 1. Em relação à fração não extraível, dos 99 solos estudados, apenas 20% destes apresentaram teores mais elevados de alcalino-solúveis em relação à humina, com valores da razão AH+AF/H > 1 (Conceição, 1989; Lima, 2001; Volkoff & Andrade, 1976). Em alguns solos antropogênicos foi observada relação AH/AF maior do que 1 a quase 1,5 m de profundidade (Cunha, 2005). Estes conteúdos estão relacionados ao horizonte A antrópico, que como mostrado anteriormente, são mais enriquecidos em ácidos húmicos.

Na Tabela 3.3, pode ser visualizada a composição média da distribuição percentual das frações humificadas da matéria orgânica em solos do Brasil. Vale ressaltar que aqui foram computadas todas as classes de solos apresentadas na Tabela 3.2, com exceção dos solos antropogênicos, devido às suas características especiais, e também que não se levou em consideração às diferenças entre os métodos de extração utilizados, portanto pede-se cautela por parte do leitor na interpretação destes dados. Pode se concluir, que a distribuição da matéria orgânica humificada dos solos brasileiros é caracterizada pelo elevado conteúdo da fração insolúvel (humina) e a maior parte da fração solúvel é composta pelos ácidos fúlvicos.

Manejo dos solos e frações húmicas

A composição da matéria orgânica e as feições estruturais das substâncias húmicas podem fornecer informações para descrever e estabelecer parâmetros sobre a capacidade do agroecossistema suportar determinadas práticas agrícolas (Mielniczuck, 1999). O uso da matéria orgânica do solo como indicador de qualidade está baseado na premissa de que ela exerce uma importante ação na fertilidade dos solos (afeta propriedades químicas, físicas e biológicas), e suas frações humificadas são um marcador químico estável da história do solo (Canellas *et al.*, 2004).

Apesar de geralmente ser encontrado em menor proporção nos solos brasileiros, os ácidos húmicos assumem um papel importante como indicador da qualidade da matéria orgânica do solo devido ao fato de que esta fração é a que mais sofre alterações estruturais durante o processo de humificação (Kögel-Knaber *et al.*, 1988). Geralmente, o comportamento espectroscópico da

fração ácidos fúlvicos é semelhante ao de polissacarídeos e a humina é pouco modificada devido a sua associação com a fração mineral do solo e sua natureza predominantemente apolar (Zech *et al.*, 1997). Desta maneira a composição do húmus pode ser utilizada como um indicador apropriado dos efeitos do manejo sobre a qualidade do solo (MacCallister & Chien, 2000; Canellas *et al.*, 2003), já que os processos ecológicos de formação do húmus dependem intensamente da interferência antrópica. Mudanças marcantes na matéria orgânica do solo são observadas com a alteração no uso do solo, tanto do ponto de vista quantitativo quanto do ponto de vista qualitativo (Campbell, 1978; Andreux & Cerri, 1989). De modo geral, os níveis de matéria orgânica do solo diminuem quando sistemas nativos são utilizados para o cultivo. Alterações na temperatura, umidade, aeração, absorção e lixiviação em consequência do cultivo (Sanchez, 1976), além da destruição completa da serrapilheira original, modificam a distribuição e a atividade da fauna e microbiota do solo (Cerri *et al.*, 1985), influenciando assim o tempo de residência do carbono armazenado no solo e a sua distribuição entre as distintas frações.

A diminuição da adição anual de carbono bem como as altas taxas de decomposição, características das regiões tropicais, ocasionam um declínio do conteúdo de matéria orgânica humificada no solo antes em equilíbrio com a vegetação nativa. Detwiller (1986) estimou uma perda de 40% no conteúdo de carbono com o cultivo agrícola e uma perda de 20% no caso de uso com pastagem. A relação entre a matéria orgânica (carbono total) e o equilíbrio das frações húmicas influencia as características do solo, tais como: estrutura, capacidade de troca catiônica e disponibilidade de nutrientes (Dabin, 1982). Alterações no uso do solo podem, também, modificar esse equilíbrio (Martins *et al.*, 1990), acarretando consequência para as propriedades químicas, físicas e biológicas dos solos.

A razão AH/AF foi utilizada por Kononova (1982) com um indicador da qualidade do húmus. O baixo conteúdo de bases trocáveis no solo pode diminuir a intensidade do processo de humificação, isto é, as reações de síntese e condensação química e microbiana (Steverson, 1994). Como resultado, espera-se uma menor razão AH/AF em solos mais intemperizados. Avaliando a composição da matéria orgânica humificada de um Argissolo Amarelo distrófico em tabuleiros costeiros sob cultivo, Canellas & Façanha (2004) observaram que o conteúdo de ácidos fúlvicos livres variou de 8 a 10% e com predomínio de ácidos fúlvicos na fração alcalino-solúvel. O conteúdo de ácidos húmicos foi sempre menor do que o de ácidos fúlvicos e o mesmo se concentrou na superfície. Os maiores teores foram observados para a fração humina e a razão AH/AF foi sempre menor que um e diminuiu com a profundidade. Canellas *et al.*, (2004), avaliaram as alterações no teor e qualidade da matéria orgânica de um Argissolo Vermelho-Amarelo na região de Seropédica-RJ, com a introdução de leguminosa herbácea perenes. Apesar do pequeno tempo de duração do experimento (2 anos) foi observado uma mudança qualitativa significativa com o manejo dos resíduos vegetais (não foram observadas mudanças quantitativas). A introdução da cobertura permanente do solo com leguminosas conferiu maior grau de condensação aos ácidos húmicos, ou seja, a alteração deu-se em relação a aspectos qualitativos.

Avaliando o efeito de longo prazo da preservação da palhada por ocasião da colheita e da adição de vinhaça sobre as propriedades químicas de um Cambissolo Háplico Ta vártil (Canellas *et al.*, 2003) observaram que o manejo com cana crua e o com adição de vinhaça aumentaram os teores de macro e micronutrientes, em comparação com o manejo cana queimada e sem adição de vinhaça. A melhoria dos atributos químicos do solo favoreceu a formação de substâncias húmicas alcalino-solúveis mais condensadas (ácidos húmicos).

Parra (1986) observou após oito anos de cultivo que a maior redução no teor de matéria orgânica na camada de 0-10 cm de um Latossolo Vermelho distrófico submetido ao plantio

convencional, refletiu numa maior contribuição relativa dos ácidos fúlvicos e diminuição da percentagem de carbono da fração humina, sugerindo uma tendência de formação preferencial de ácidos fúlvicos em solos com cultivo mais intenso. O autor encontrou valores da relação AH/AF em torno de 0,33. O efeito do manejo do solo nas frações húmicas de um Latossolo Vermelho distrófico foi avaliado por Nascimento (1989) que encontrou valores para a relação AH/AF próximos a 0,3, nos cinco centímetros superficiais, e valores inferiores a 0,5 na camada de 15 a 20 cm.

A influência da vinhaça, da fertilização mineral e do cultivo nas frações humificadas da matéria orgânica de um Latossolo Vermelho sob cerrado e cultivado por sete anos com milho foi estudada por Coelho (1991). Foi observada uma elevação da fração ácidos fúlvicos em relação às outras frações húmicas e a aplicação da vinhaça não alterou qualitativamente a distribuição das substâncias húmicas do solo. A fração humina representou mais de 50% do carbono total e o solo sob cerrado apresentou os menores teores de ácidos fúlvicos e os maiores de ácidos húmicos. Foi observado, ainda, aumento da fração ácidos fúlvicos com a profundidade do solo.

O uso de lodo da estação de esgoto num Latossolo Vermelho distrófico cultivado com cana-de-açúcar, alterou o conteúdo das frações orgânicas, promovendo, principalmente, aumento da fração humina seguida das frações ácidos fúlvicos e ácidos húmicos (Nascimento *et al.*, 1988; Melo *et al.*, 1994). Os autores observaram interconvenções muito rápidas entre as frações do húmus, influenciadas pelas variações climáticas e pelo estádio de evolução do sistema radicular da cana-de-açúcar e seus reflexos sobre a biomassa microbiana do solo. A incorporação de restos culturais ao solo também altera a distribuição das frações humificadas. Albertini (1983) verificou que aumentos de 82 e 27% no carbono das frações ácidos fúlvicos e húmicos, respectivamente dos 15 aos 31 dias de incubação e diminuição de 13 e 5% nos teores de carbono orgânico total e humina. Foi verificado que a razão AH/AF aumentou sensivelmente até os 105 dias após o plantio. Tal comportamento foi atribuído à condensação de compostos orgânicos mais simples, inclusive os produzidos pelo sistema radicular da cana e pelos microrganismos associados à rizosfera. Em solos em vias de degradação, a relação AH/AF diminui à medida que a estabilidade estrutural aumenta (Dabin, 1976). Demétrio *et al.*, (1998) estudando os efeitos da adição de diferentes resíduos de culturas ao solo sobre a distribuição do carbono das frações humificadas da matéria orgânica, não detectaram alterações nos teores das frações alcalino-solúveis, mas verificaram uma elevação significativa nos teores da fração humina. Por outro lado, Ceretta *et al.* (1997), estudando o acúmulo de carbono nas frações húmicas de um Argissolo Vermelho-Amarelo sob plantio direto observaram que, na camada mais superficial, a fração humina foi dominante seguida pela fração ácidos húmicos e da fração ácidos fúlvicos. Observaram, também, que o sistema de plantio direto permitiu o aumento do carbono no solo e que o mesmo promoveu uma distribuição mais uniforme das frações ácidos húmicos e fúlvicos nos horizontes mais profundos. A razão AH/AF foi sempre maior do que 1 em superfície.

Alterações na distribuição das frações humificadas da matéria orgânica de horizonte superficial de Latossolo Vermelho-Amarelo e Argissolo Vermelho-Amarelo, ambos distróficos, que receberam o equivalente a 80 t ha⁻¹ de composto de lixo urbano e lodo da estação de tratamento de esgoto foram avaliadas por Canellas *et al.*, (2001). Observou-se, nesse experimento, aumento do conteúdo de ácidos fúlvicos, com consequente diminuição da razão AH/AF e da qualidade do húmus. Os autores, apesar de não terem observado mudanças quantitativas no conteúdo de ácidos húmicos, observaram alterações importantes nas suas características químicas que serão discutidas nos capítulos cinco até nove. A razão AH/AF dos resíduos foi maior do que a observado nos solos e a adição dos resíduos conferiu para ambos os solos o caráter fúlvico para a matéria orgânica. A

predominância de AF sobre os AH é indicativo de características desfavoráveis ao húmus dos resíduos orgânicos em relação ao do solo.

A retirada da vegetação nativa para introdução de pastagens leva a importantes modificações na dinâmica das substâncias húmicas. A influência da introdução de pastagens nas frações húmicas de Latossolos distróficos sob Cerrado e da floresta Amazônica foram estudadas por Longo & Espíndola (2000). Os autores observaram diminuição nas concentrações de ácidos fúlvicos livres e humina com a mudança da condição de vegetação natural para pastagens, tanto no cerrado como na floresta tropical. As maiores modificações foram observadas no solo sob floresta, evidenciando o efeito do tipo da cobertura vegetal sobre o teor e sobre a distribuição dos componentes orgânicos em solos tropicais. Não foram verificadas diferenças significativas em relação à fração ácidos húmicos nas duas condições estudadas. A ocorrência de decréscimo no teor de carbono das frações mais condensadas depois de instalada nova vegetação também foi observada por Ferreira (1977). Longo & Espíndola (2000) observaram concentração das frações ácidos húmicos e humina em superfície e aumento relativo da fração ácidos fúlvicos em profundidade. Quando foi comparada a distribuição das frações húmicas entre o solo da região amazônica e a do cerrado verificaram nítidas diferenças nas duas situações de manejo (vegetação nativa e pastagem), tendo o solo sob vegetação nativa sob floresta apresentado os maiores valores de ácidos húmicos. Para os autores, esta diferença está relacionada às diferenças fitoclimáticas existentes entre as duas regiões, o que promoveu, possivelmente, mudanças nos processos de mineralização e síntese do húmus, pois estes são de natureza predominantemente microbiana. Qualquer fator que afete a atividade dos microrganismos afeta a ecologia da humificação.

Marchiori Junior & Melo (2000) estudaram a alteração na composição do húmus de Latossolo Vermelho eutrófico sob mata e submetido à diferentes sistemas de manejo. Com a cobertura de mata foram encontrados os maiores valores para a fração humina (74% do carbono total) e o uso agrícola aumentou os teores de ácidos húmicos e fúlvicos na camada de 0 a 10 cm. Tanto sob mata natural como sob cultivo os teores de ácidos fúlvicos foram menores do que os de ácidos húmicos, o que sob o ponto de vista da fertilidade do solo pode ser interessante, por colaborar para uma menor lixiviação ou translocação de elementos químicos da camada arável para as camadas subsuperficiais (Greenland, 1965).

Diferentes sistemas de produção agrícola foram estudados durante seis anos por Souza & Melo (2003) que observaram mudanças na composição da matéria orgânica de um Latossolo Vermelho Eutrófico. Os cultivos em sistemas de plantio direto com pousio e cultivo de mucuna preta e feijão guandu no inverno favoreceu o aumento da fração humina nas camadas superficiais do solo. Foi observado também que os sistemas de plantio direto de milho em monocultura e sucessão com leguminosas (mucuna preta e feijão guandu) favoreceu a migração de ácidos fúlvicos para as camadas mais profundas, reduzindo os teores de substâncias húmicas alcalino-solúveis na camada superficial e também a interconversão mais rápida de ácidos fúlvicos em ácidos húmicos. Foi verificada diminuição significativa da fração humina com a profundidade.

As fontes de matéria orgânica quer sejam naturais ou introduzidas no solo, contribuem de forma significativa para a produção do húmus (Primavezi, 1981). Em estudos realizados em áreas de cerrado foi observado que, após a retirada da vegetação e implantação de vários sistemas de cultivo agrícola, a composição da matéria orgânica humificada não foi alterada, ou seja, as grandes mudanças na vegetação não causaram significativas alterações no húmus do solo (Nascimento *et al.*, 1992). No entanto, a ecologia da humificação foi sustentada pelo aporte massivo de energia ao solo (associada aos adubos químicos).

Clima e as frações húmicas

Dabin (1981) verificou, em condições tropicais, que a matéria orgânica humificada formada sob clima úmido foi caracterizada pelo aporte importante de resíduos vegetais ao solo, os quais são rapidamente transformados, podendo sofrer imobilização imediata pela fração mineral ou através de processos bioquímicos de condensação. Nas áreas de clima seco e contrastado, os processos de condensação são dominantes e conduzem ao aparecimento de matéria orgânica humificada, sobretudo em solos argilosos.

Diversos estudos (Cerri & Volkoff, 1988; Flexor & Volkoff, 1977; Volkoff & Cerri, 1980; Volkoff & Cerri, 1981; Volkoff *et al.*, 1978) em diferentes regiões de clima tropical e subtropical do Brasil, evidenciaram que os principais fatores que controlam a formação de matéria orgânica humificada nos solos são temperatura, presença ou ausência de bases e drenagem. Esses são também os fatores que mais influenciam a atividade biológica. Segundo os autores, a presença de bases tem um efeito mais importante sobre os demais fatores. Em situações de baixo conteúdo de bases trocáveis disponíveis, a diferenciação é feita, antes de tudo, em função da drenagem e, em condições bem drenadas, esta é ditada pelas mudanças climáticas, principalmente de temperatura. A influência de processos pedoclimáticos na estabilização da matéria orgânica do solo foi citada por Duchaufour (1977) como uma consequência de alternâncias sazonais climáticas, em particular dos ciclos de umedecimento e secagem do solo que, apesar de intensificar os processos de biodegradação da fração mais lábil da matéria orgânica, favorecem a polimerização dos núcleos aromáticos de certos compostos húmicos, os quais sofrem, ao contrário, uma estabilização.

Comparando o húmus de solos desenvolvidos sob diferentes condições tropicais, Dabin (1981) concluiu que os processos de condensação e mineralização secundária são dominantes em regiões de clima tropical com estação seca bem definida, ocorrendo, sobretudo em solos argilosos. Por outro lado, Volkoff & Cerri (1980), constataram que o húmus da região semi-árida do Nordeste, com estação seca bem definida, apresentou pequena evolução por policondensação, o que poderia estar relacionado à duração demasiadamente longa (7 a 8 meses de estação seca) e aos índices pluviométricos extremamente baixos, característicos desta estação na região, estabelecendo assim uma condição desfavorável à atividade microbiana. Avaliando posteriormente as variações da relação E_4/E_6 da matéria orgânica de solos de diferentes regiões climáticas do Brasil, Volkoff & Cerri (1988) identificaram a ocorrência de dois estados distintos de condensação dos ácidos húmicos:

- a) grandes moléculas frouxas em solos ácidos bem drenados, sob floresta na região amazônica e;
- b) pequenas moléculas densas em solos sob cerrado, solos da região semi-árida, solos saturados e solos hidromórficos temporariamente inundáveis na região amazônica.

Calagem, fertilização orgânica e substâncias húmicas.

A calagem exerce importante papel na correção de solos ácidos e desta forma interfere também na dinâmica das substâncias húmicas. Em solos submetidos à calagem normalmente é observada diminuição do conteúdo da fração ácidos húmicos. A diminuição do conteúdo de ácidos húmicos pode estar relacionada à diminuição do conteúdo de alumínio trocável com a calagem, pois a calagem diminui as formas de alumínio trocável e aquelas associadas com as moléculas orgânicas além de aumentar o conteúdo de cálcio associado à matéria orgânica (Mendonça & Rowell, 1994). Por esta razão, ela promove desestabilização das moléculas orgânicas, tornando-as mais suscetível ao ataque microbiano, pois os complexos de cálcio

com a matéria orgânica são mais instáveis que aqueles com o alumínio (Canellas *et al.*, 1999). A redução no conteúdo das frações ácidos fúlvicos e húmicos em um Latossolo Vermelho plantado com citrus, com o uso da calagem foi observada por Silva *et al.*, (2000). A diminuição nos conteúdos de ácidos húmicos pode estar relacionada à presença de óxidos que são abundantes nos Latossolos. Em solos tropicais ricos em óxidos e caulinita, a fração ácidos húmicos pode ser mais facilmente decomposta que a fração ácidos fúlvicos, favorecendo o surgimento de frações mais reativas e mais facilmente consumida por microrganismos, pois a adsorção da matéria orgânica aos óxidos é influenciada por grupos carboxílicos, mais abundantes nos ácidos fúlvicos, tornando estes ácidos mais resistentes à decomposição que os ácidos húmicos (Mendonça, 1995; Lobartini & Orioli, 1996). Em Latossolo Vermelho-Amarelo variação Uma submetido à queima e à percolação, Araújo *et al.* (1995) observou que o aumento do pH pode afetar a dinâmica as frações da matéria orgânica do solo, favorecendo a mineralização da fração ácidos húmicos.

O efeito da adição de vermicomposto de esterco de curral associado à calagem nas frações humificadas da matéria orgânica foi estudado por Yagi *et al.* (2003), que verificaram que o aumento das doses de vermicomposto provocou diminuição da fração ácidos húmicos e humina. Por outro lado, aumentos significativos no conteúdo de ácidos húmicos e fúlvicos em horizontes superficiais de solo (0-20 cm) foram observados por Rosales *et al.* (1999) com a aplicação de composto, combinado ou não com fertilizantes minerais indicando que a adição de resíduos orgânicos ao solo alteram a dinâmica da humificação em direções que dependem de uma rede complexa de interconexões das mais diferentes esferas do ambiente que condicionam a atividade biológica e, portanto a humificação.

Frações humificadas da matéria orgânica e sua relação com a fertilidade

Os ácidos húmicos são considerados um marcador natural do processo de humificação podendo refletir tanto a condição de formação, como de manejo do solo. Solos naturalmente férteis em ambientes temperados apresentam-se mais enriquecidos em ácidos húmicos, onde a razão AH/AF é maior do que 1. Por outro lado, nos trópicos, valores menores do que 1 tem sido reportado na literatura científica (Dabin, 1981; Canellas *et al.*, 2000; Canellas *et al.*, 2003; Cunha *et al.*, 2003b). Neste ambiente, onde a presença de bases trocáveis nos solos é baixa, devido à ação do intemperismo a que estes solos foram submetidos, espera-se uma menor intensidade dos processos de humificação (condensação e síntese) e como consequência, menores teores de ácidos húmicos (Canellas *et al.*, 2003).

Objetivando-se obter informações sobre a relação entre fertilidade do solo e conteúdo de ácidos húmicos procedeu-se análise de correlação, Figura 3.3, entre os valores obtidos nos diferentes estudos (Tabela 3.2) para a saturação por bases (V%) e o conteúdo de ácidos húmicos (% relativa do carbono total), quando possível, das 99 amostras, haja vista que nem todos os trabalhos revisados apresentaram informações sobre parâmetros de fertilidade.

A Figura 3.4 indica ausência de correlação significativa entre o parâmetro de fertilidade do solo (Valor V%) e o conteúdo de ácidos húmicos no conjunto de solos estudados. Este comportamento pode ser atribuído ao fato de que classes de solos diferentes tenham entrado juntas na análise de correlação. Como a humificação é um processo ecológico seu estudo deve ser particularizado. Para verificar este efeito, realizou-se a análise de correlação com as diferentes classes de solos em separado, por autor, e desta forma os conteúdos de ácidos húmicos extraídos com o mesmo procedimento foram analisados conjuntamente. Foram verificadas correlações

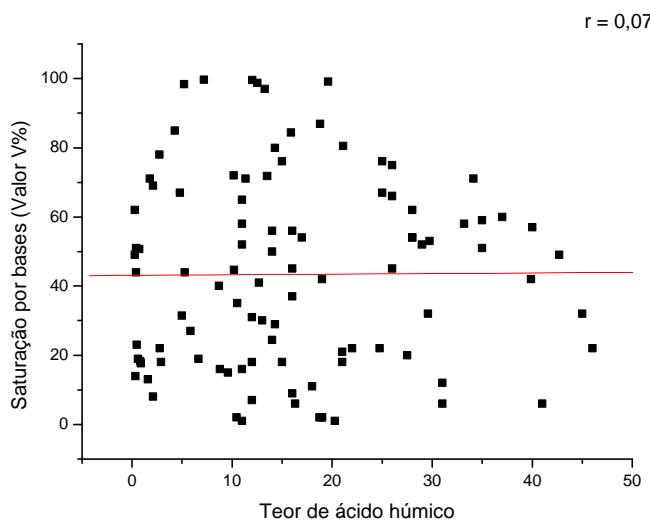


Figura 3.3. Correlação entre o conteúdo de ácidos húmicos e valores de saturação por bases em diversas classes de solos do Brasil conforme apresentado na Tabela 3.2.

significativas entre teor de ácidos húmicos, razão acido húmico/ácido fúlvico e parâmetro de fertilidade do solo (saturação por bases, Ca^{++} e CTC efetiva), Figura 3.4.

Com relação a Terra Preta do Índio Souza *et al.*, (2003) estudou a relação entre as frações das substâncias húmicas e atributos de fertilidade, objetivando entender qual fração se correlacionava mais com as propriedades de fertilidade deste tipo peculiar de solo, e observou que apenas a fração ácidos húmicos teve correlação com atributos de fertilidade (CTC, Valor S e Ca^{++}), evidenciando a importância desta fração húmica na fertilidade desses solos. Cunha (2005), também verificou estreita correlação entre parâmetros de fertilidade do solo e o conteúdo de ácidos húmicos de solos Antropogênicos (Figuras 3.4 e 3.5).

Verifica-se a partir da particularização das análises de correlações, que há uma nítida relação entre conteúdo de ácidos húmicos e parâmetros de fertilidade do solo (Valor V%, CTC efetiva e Ca^{++}). Canellas *et al.*, (2003) verificaram que o aumento dos teores de ácidos húmicos, em áreas de cana crua e cana com vinhaça, foram acompanhados da melhoria da fertilidade e da qualidade da matéria orgânica do solo com aumento do conteúdo de substâncias húmica alcalino-solúveis mais condensadas (ácidos húmicos). Devido ao fato de que a fração ácidos húmicos é a que sofre mais alterações estruturais durante o processo de humificação, estas podem ser utilizadas como indicador da qualidade da matéria orgânica do solo (Kogel-Knaber *et al.*, 1988), e poderia ser utilizada como um índice de fertilidade do solo para sistemas de agricultura orgânica e/ou agroecológica. Baseado nos dados das correlações apresentadas acredita-se que a utilização dos conteúdos de ácidos húmicos ou mesmo da razão AH/AF como indicador da fertilidade do solo, pode representar uma boa ferramenta para avaliação do potencial produtivo dos solos, ou seja, da sua fertilidade física e química (Índice de fertilidade). Como não é possível obter-se um nível ideal ou ótimo, mito menos uma faixa crítica de concentração esses indicadores devem ser relativos, ou seja, contrastados com as alterações observadas *in loco* na matéria orgânica do solo e na capacidade produtiva do sistema.

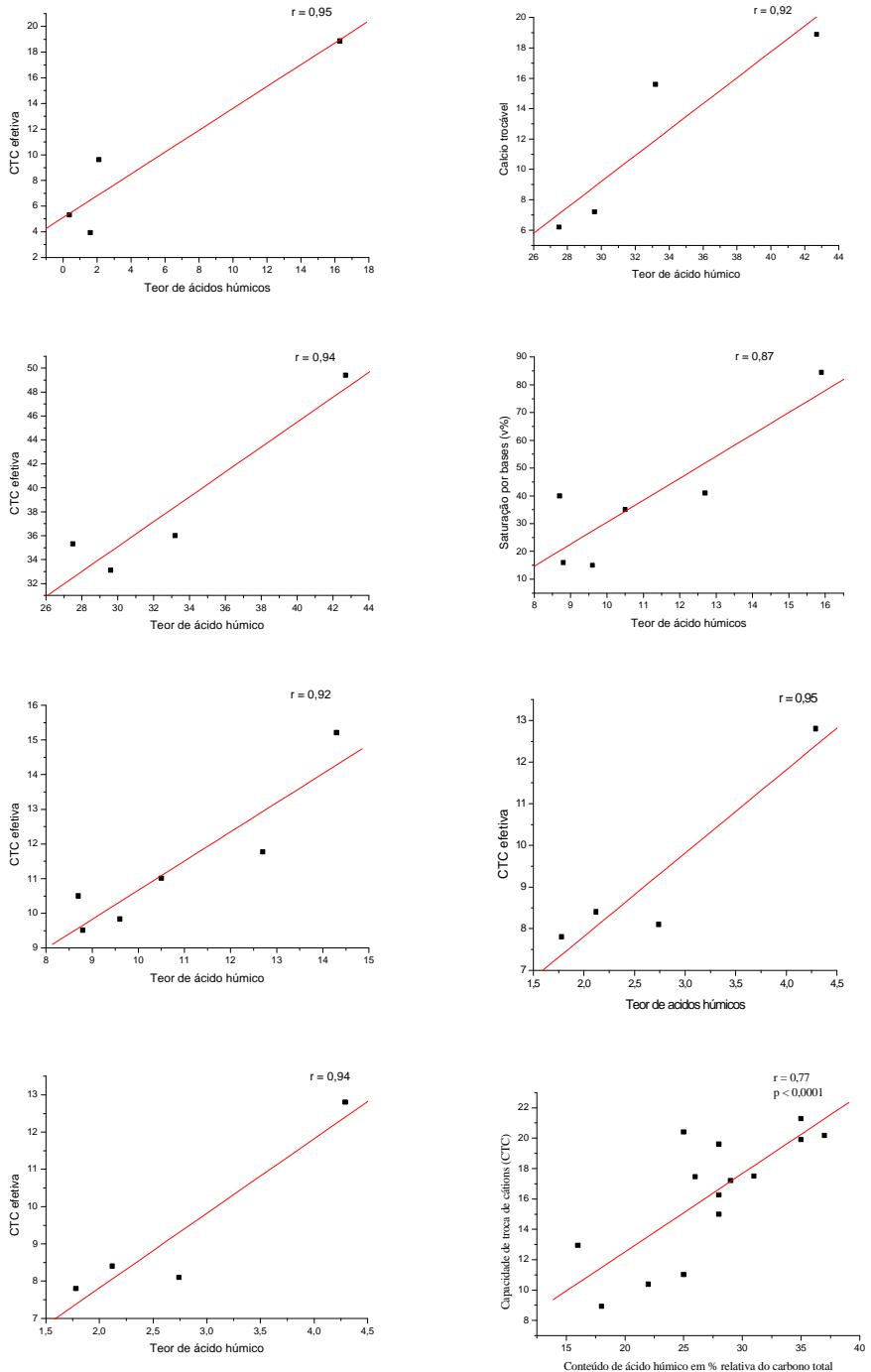


Figura 3.4. Correlação entre teores de ácidos húmicos e características de fertilidade (Dados de Volkoff et al.; 1976; Conceição, 1989; Coelho, 1991; Canellas et al., 2003; Cunha, 2005).

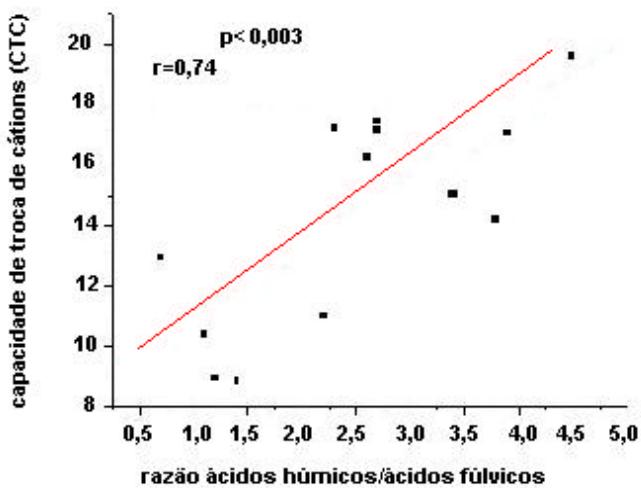


Figura 3.5. Correlação entre a razão ácido húmico/ácidos fulvicos e a capacidade de troca de cátions (Dados de Cunha, 2005).

Manutenção de matéria orgânica no solo (estimativa aproximada)

O interesse mais sistemático e intensivo na adubação orgânica foi despertado pela crise energética mundial de 1973 onde os fertilizantes químicos, escassos e caros, tornaram-se de difícil acesso a maioria dos pequenos produtores (FAO, 1977). Foi gerada a necessidade de explorar possibilidades de aumento da produção agrícola com menor dependência dos fertilizantes químicos. Entre estas possibilidades, incluiu-se a reciclagem de nutrientes das plantas pela devolução dos restos das lavouras assim como aporte de compostos e resíduos produzidos nas propriedades e de origem industrial ou urbana. No sentido de dar uma noção do quanto é formado de matéria orgânica estável anualmente com a adição de diversos resíduos orgânicos ao solo segue-se um breve e simplificado roteiro.

Assumindo-se que, em termos médios, entre 1,5 a 2% da matéria orgânica estabilizada é perdida anualmente via mineralização, um manejo que vise conservar a matéria orgânica do solo deve incorporar anualmente essa quantidade perdida na forma de resíduos orgânicos. O modelo que se segue para incorporação de matéria orgânica humificada ao solo foi proposto por Labrador Moreno (1996). A partir daqui segue-se uma síntese desse trabalho.

Durante a sua evolução os resíduos orgânicos sofrem uma série de processos pelos quais parte de seus componentes se mineralizam e outra parte se transforma em compostos orgânicos de natureza e complexidade distinta que constituem o húmus do solo. A quantidade de húmus formada em um ano corresponde a:

$$MO_{humificada} = K_1 \times MO_{aportada}$$

A relação que caracteriza esse dinamismo é chamada de coeficiente *isohúmico* K_1 que depende essencialmente, mas não exclusivamente do material orgânico adicionado. De um modo geral quanto maior a quantidade de lignina no material maior a quantidade de húmus formado e quanto maior a quantidade de carboidratos e compostos nitrogenados maior será a mineralização. Algumas ordens de magnitude para os valores de K_1 se encontram na Tabela 3.4.

Tabela 3.4. Valores médios do coeficiente isohúmico (K_1) e massa seca de alguns resíduos orgânicos.

resíduo	K_1	Massa seca (%)
Esterco de curral curtido	0,40	25
Esterco fresco com palha	0,25	20
Composto de lixo urbano	0,25	20
Palhas (secas)/resíduos de colheita	0,15	80
Adubo verde	0,08	20

Adaptado de Labrador Moreno (1996)

O coeficiente K_1 foi definido como a constante de transformação da matéria seca aportada e por isso é conveniente efetuar os cálculos de reposição de matéria orgânica em base da matéria seca.

$$H = r.o. \times \frac{MS}{100} \times K_1$$

onde H é a quantidade de húmus gerado pelos resíduos adicionados; $r.o.$ é quantidade de resíduo adicionado em $kg\ ha^{-1}$; MS é a matéria seca dos resíduos e K_1 o coeficiente isohúmico específico. Assim o aporte de uma tonelada de esterco bem decomposto que contém cerca de 25% de matéria seca e com um coeficiente isohúmico de 0,40 proporcionará um acréscimo de kg de húmus no solo.

$$H = 1000\ kg\ ha^{-1} \times \frac{25}{100} \times 0,40 = 100\ kg\ ha^{-1}$$

Como se pode observar a quantidade de húmus estável formado é baixa, mas apresenta uma influência intensa e expressiva no desenvolvimento biológico (como se verá na unidade seguinte).

As perdas de matéria orgânica ocorrem naturalmente através do processo de mineralização. As taxas de perda variam geralmente entre 1 e 2% da matéria orgânica do solo. Essa taxa de mineralização secundária ou coeficiente K_2 ao contrário do coeficiente isohúmico (K_1) depende mais de fatores do ambiente tais como temperatura média, precipitação pluviométrica, pH, conteúdo de bases do que da qualidade do resíduo orgânico.

É possível estimar as perdas de matéria orgânica, através de um cálculo simplificado:

Considerando

i) um solo com 2% de matéria orgânica, com uma densidade de $1,5\ Mg\ m^3$ e uma camada de 0,2 m de profundidade:

$$10.000\ m^2 \times 1,5\ Mg\ m^3 \times 0,20\ m \times 0,02 = 60\ Mg\ de\ matéria\ orgânica\ por\ ha$$

ii) uma perda média de 1,5% de matéria orgânica por ano:

$$60\ Mg \times 0,015 = 900\ kg\ de\ matéria\ orgânica\ perdida\ por\ ha\ em\ um\ ano.$$

As perdas de matéria orgânica podem, então ser estimadas pela equação:

$$P = \text{prof} \times \text{densidade} \times \text{m.o.} \times K_2$$

onde P corresponde às perdas de matéria orgânica em kg/ha ; prof = espessura da cada de solo em metros; densidade = densidade do solo em $Mg\ m^3$ e K_2 = taxa de mineralização média.

Assim, para atender as necessidades de recomposição de matéria orgânica nesse exemplo teórico é necessário adicionar o correspondente a 9 Mg de esterco curtido/ha, ou 7,5 Mg de palha/ha ou ainda 56 Mg de adubo verde/ha.

Esse cálculo aproximado tem as suas vantagens de servir como um guia geral, mas desconsidera os processos locais que devem necessariamente ser acompanhados na propriedade e recalibrados para uma atuação local.

capítulo 4

A energia e as substâncias húmicas¹

Nelson Garcés Pérez
Vitali Savich

A primeira parte desse trabalho apresenta uma síntese sobre o sistema de conceitos e expressões da termodinâmica e da termoquímica aplicada às reações químicas. A segunda trata dos aspectos ligados à energia das substâncias húmicas do ponto de vista de sua formação e evolução sob a ótica da primeira, ou seja, da termodinâmica. Não é objeto da primeira parte um tratamento exaustivo da termodinâmica, do equilíbrio, dos potenciais químicos, das dissoluções e as expressões particulares das funções termodinâmicas nessas condições. Por essa razão, é sugerido pelos autores, para a necessária ampliação dos conhecimentos nesses assuntos, que se busque a leitura de material mais especializado sobre a termodinâmica, com o objetivo de ajudar na compreensão dos trabalhos que abordam o sistema solo e as substâncias húmicas sob tal ponto de vista. Trata-se do primeiro texto em português com essa abordagem e algumas das interpretações dos resultados não concordam necessariamente com as de outros autores. Essa situação é favorável para o aprofundamento do tema, uma vez que a confrontação das idéias faz com que o conhecimento se aproxime mais da realidade do fenômeno substâncias húmicas. A abordagem energética das substâncias húmicas é a base da compreensão do sistema. A interação da matéria com a energia dá origem às propriedades espectroscópicas dos corpos materiais, objeto de estudo dos próximos capítulos.

Introdução

A forma química de movimento dos sistemas materiais é caracterizada pela variação no tipo das espécies atômicas, pelo número e posição dos átomos e das moléculas que interatuam, pela evolução da energia nessas interações e, ainda, pela velocidade de suas transformações no tempo.

O modo do movimento intramolecular está ligado a processos químicos que podem se manifestar como: excitação eletrônica, vibrações de ligações, rotação de núcleos, vibrações da molécula, ionização etc. Essa interação com a energia é a base do uso das espectroscopias de ultravioleta-visível, infravermelho, ressonância nuclear magnética e espectrometria de massas que serão abordadas nos capítulos seguintes. Por ora, será visto que o processo químico mais simples, a dissociação térmica, é produzido quando ocorre o aumento na intensidade das vibrações (amplitude e freqüência) numa molécula. Especialmente as vibrações dos núcleos ao longo da ligação de valência entre eles que, ao alcançarem uma certa magnitude crítica de energia de vibração na direção de uma determinada ligação na molécula, produzem a ruptura dessa ligação e

¹ O texto foi traduzido do original em espanhol para o português por L.P. Canellas que assume a responsabilidade pelos eventuais equívocos. A estada do prof. Garcés no Laboratório de Solos da UENF foi promovida pelo CNPq.

a sua separação em duas espécies independentes. Esse fenômeno é denominado movimento físico de oscilação.

Reações mais complexas, nas quais participam várias moléculas, podem ser consideradas a união eventual entre elas, ocorrendo um choque das mesmas, o que constitui um complexo pouco estável e de vida curta, denominado, geralmente, complexo ativado. Este complexo pode transitar por dois caminhos: a) constituir uma nova espécie mais complexa e estável, b) separar-se novamente nas espécies de partida sem que tenha ocorrido uma reação, ou ainda c) separar-se em novas espécies nas quais ocorreram mudanças ao desenvolverem-se trocas de parte de seus componentes por meio da ruptura e estabelecimento de novas ligações.

Dessa forma, o processo químico elementar resulta do movimento da (ou das) espécie(s) químicas (átomos, íons e moléculas) quando se manifestam as trocas de energia, de massa e de posição no espaço e no tempo.

Para a transformação química dessas massas consideráveis de substância constituída por quantidades de um conjunto de moléculas, são necessários choques entre as moléculas e uma troca energética entre as mesmas. Dessa forma, o processo de reação química real está intimamente ligado à segunda forma de movimento físico: o movimento caótico dos corpos macroscópicos, denominado movimento térmico.

Existem também outras manifestações do movimento químico, tais como, a radiação eletromagnética, a interação de campos magnéticos fracos, a interação de pequenos campos elétricos, a ionização de átomos e das moléculas, os efeitos particulares dos sistemas enzimáticos em que moléculas com características especiais acopladas a sistemas de alta energia molecular provocam processos químicos em condições aparentemente adversas com grande eficiência, sendo essas a base da vida na Terra.

É possível observar que as formas do movimento químico sempre aparecem associadas a elementos do movimento físico, tal como deve ocorrer no mundo material, onde todos os sistemas estão integrados e interatuam entre si. Nós separamos os sistemas com o fim de compreendê-los e estudá-los até conhecermos sua essência e podermos formular princípios e leis. Estamos então diante da necessidade, no caso particular das substâncias húmidas (do solo, do composto, das águas, das rochas sedimentárias depositadas em estruturas geológicas antigas ou que preparamos para nutrir ou bioestimular as plantas ou os cultivos de microrganismos), de estudar os processos energéticos que ocorrem na sua formação, transformação, propriedades e desaparecimento, com o objetivo de caracterizar melhor essa parte do universo material.

Elementos da termoquímica

A termodinâmica relaciona as propriedades da matéria com um conjunto, a partir do seu comportamento físico e químico. A sua prevalência como método de análise está em função *de não serem feitas suposições sobre a estrutura molecular* da matéria. São avaliadas as trocas macroscópicas observáveis, sendo desnecessária qualquer suposição sobre a natureza atômica ou molecular dos mesmos, *i.e.*, das trocas microscópicas que podem haver ocorrido ou estar ocorrendo. Tampouco a termodinâmica se ocupará com a velocidade dos movimentos materiais, *i.e.*, com as trocas no tempo.

O arrazoado termodinâmico está baseado em três leis e as duas primeiras têm um conteúdo diretamente aplicável em nosso trabalho profissional:

- A energia do universo é constante, não se cria nem se destrói;
- A entropia do universo está aumentando (teoria do *Big Bang* e da expansão do universo).

As leis da termodinâmica são derivadas da experiência cotidiana e dos experimentos que se realizam em nosso planeta, aos quais se somam as observações do nosso sistema solar e de outros sistemas do universo. Essa comprovação acumulada de muitos anos permite operar, com um sistema de conceitos, leis e suposições matemáticas, com grande confiança e certeza obtendo-se resultados diretamente aplicáveis a nossa prática social e científica.

Posto que o conteúdo desse texto não vai abranger a produção material, nem todos os casos de transferência de energia na forma de calor ou da evolução de um trabalho, senão somente o estudo de reações químicas e a avaliação de alguns sistemas químicos mais complexos, nós reduzimos o campo geral da termodinâmica ao tratamento que nos brindará a sua particularização na Termoquímica, a qual, definitivamente, está fundamentada pelos logros obtidos do conhecimento da termodinâmica (Glasstone 1975, Guerasimov *et al.* 1971, Kireev 1969, Yavorski & Detlaff, 1988).

Sistema, estados de um sistema, funções de estado

A termodinâmica e, por extensão, a termoquímica estudam os processos que ocorrem numa parte do universo com o objetivo de controlar os parâmetros sob os quais se realiza o estudo e evitar as perturbações. Essa parte do universo é denominada **sistema**, definindo-se **processo**, como a série de trocas e interações que podem ocorrer entre os componentes dessa parte isolada do universo, ou seja, isolada do exterior, i.e., do resto do universo.

É uma definição ampla que pode ser ilustrada apesar de sua enorme diversidade. Assim, um **sistema** pode ser organizado num laboratório, criando-o por meio de um recipiente onde acontecem as reações; numa biofábrica, o sistema pode ser formado pelos frascos que contêm uma plântula em desenvolvimento; num laboratório farmacêutico, pelos reatores, onde se produz uma vacina ou um cultivo de microrganismos. Num objeto natural, pode ser uma parte de um solo, em seu meio, e trazido a fim de imitá-lo para o seu devido estudo. A sala de conferência de uma universidade, constituída pelas paredes, cadeiras, equipamentos, meio de ensino etc é um exemplo de sistema.

Os sistemas podem estar limitados no espaço por um recipiente, uma envoltura ou um limite real ou imaginário; tão ideal quanto convenha ao estudo. Este limite que contém o sistema pode adotar qualquer forma, ser fixo ou móvel, e ainda permitir ou não trocas do universo interior com o universo exterior. Surgem então várias possibilidades:

- Se os limites não permitem absolutamente nenhuma interação com o exterior, o sistema é denominado *sistema isolado*.
- Se os limites permitem a troca de energia com o exterior, mas não a troca de massa, é denominado *sistema fechado*.
- Se os limites permitem a troca de energia e de massa com o exterior, é denominado de *sistema aberto*;
- se os limites não permitem a troca de energia com o exterior, é denominado *sistema fechado e adiabático*;
- Se os limites permitem a troca de energia com o exterior, mas somente de energia na forma de calor o sistema é denominado *sistema fechado diatérmico*;
- É possível também que o sistema de estudo conserve uma pressão interna constante, e nesse caso, será denominado *sistema isobárico*.

Quase todos os estudos da termodinâmica e da termoquímica que aparecem na literatura referem-se a sistemas isolados e fechados, posto que são mais simples de serem tratados. Entretanto, têm sido desenvolvidos métodos que permitem, apesar de sua complexidade, tratar os sistemas abertos

de processos irreversíveis.

Os sistemas, em sua constituição interna, podem ser homogêneos ou heterogêneos. São homogêneos os que não têm superfície de separação entre os seus elementos constituintes e, heterogêneos os que apresentam esta separação. Exemplos que ilustram sistemas homogêneos são o conjunto de gases que podem estar contidos nos poros do solo ou num recipiente de laboratório, onde esses gases podem reagir. Enquanto um sistema heterogêneo pode ser representado pelo conjunto de componentes que formam uma amostra de solo onde coexistem argilas, água e dióxido de carbono. Em alguns casos, a homogeneidade ou heterogeneidade está relacionada com a existência de diferentes fases físicas dentro do sistema. Isso se refere à presença dos estados sólido, líquido e gasoso (os mais freqüentes). Um sistema pode ser também heterogêneo quando existe um mineral primário ao lado de um mineral secundário, ambos sólidos, embora possuam composição diferente e estrutura com superfícies de contato bem delimitadas.

Os sistemas podem também ser uniformes ou não uniformes. São sistemas uniformes os que em todos os pontos, têm a mesma composição e não uniformes são os que possuem composição variável em suas partes componentes.

A caracterização de um estado termodinâmico de um sistema pode ser representada mediante avaliação de algumas propriedades. Estas são as **variáveis de estado** ou parâmetros de estado, uma vez que, ao variarem as propriedades, o estado do sistema é alterado e, por esta razão, são normalmente utilizadas para descrição do estado de um sistema. As variáveis de estado que se utilizam para a descrição inicial de um sistema depende da complexidade do mesmo. Para determinar o estado de um sistema simples tal como os homogêneos, cuja massa e composição não variam com o tempo, é suficiente conhecer a pressão P , o volume V e a temperatura T . Em sistemas mais complexos, dependendo de suas características, podem exigir o conhecimento da concentração, da massa, da carga elétrica, do potencial eletrostático, da intensidade do campo magnético e outros.

As variáveis independentes ou de estado podem, por sua vez, ser classificadas de intensivas ou extensivas, de acordo com a independência ou dependência da massa da substância com a qual se trabalha.

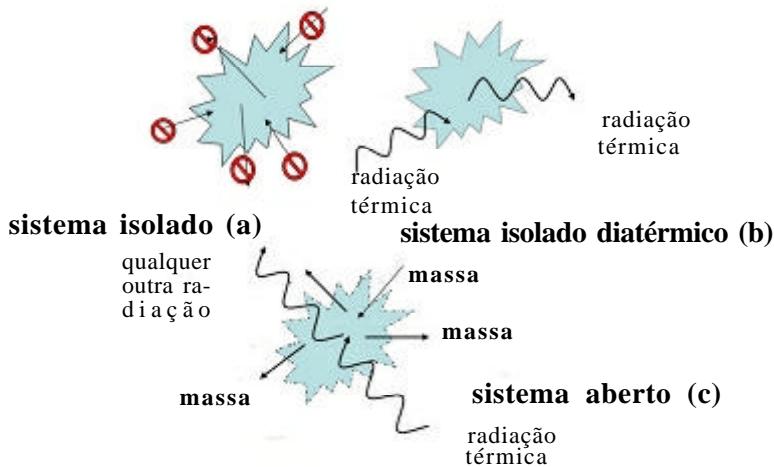


Figura. 4.1. Ilustração de um sistema (a) isolado, que não troca massa nem energia com o meio exterior; (b) fechado à troca de massa, mas que pode trocar calor; (c) aberto, que troca massa e energia.

- São propriedades intensivas ou independentes da massa: a pressão, o índice de refração, a temperatura, a densidade, o volume específico, a capacidade calórica específica, entre outras.
- São propriedades extensivas ou dependentes da massa: o volume, a capacidade calórica, a intensidade do campo magnético, entre outras.

As **funções de estado**, como funções das variáveis independentes, são: a energia interna E, a entalpia H, a entropia S, e a energia livre G ou F. Elas podem variar e, por sua vez, com essa variação, influir na magnitude que assumem as demais propriedades. Somente dependem do estado inicial e final do sistema e são independentes do caminho seguido no processo.

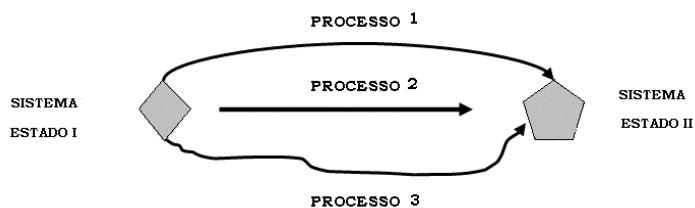


Figura. 4. 2: Representação de um sistema nos estados I (de partida) e II (de chegada) com três processos ou caminhos possíveis para a transformação irreversível

Isto significa que quaisquer das funções de estado podem ser calculadas por meio de:

$$\Delta X = X_2 - X_1 \quad (1)$$

Daí, num processo cíclico que regressa ao estado de partida, a variação de qualquer função é zero.

Os processos termodinâmicos podem ser produzidos de forma reversível ou irreversível. Os processos reversíveis ocorrem muito lentamente. Em equilíbrio permanente com o meio que o rodeia, cada variável de estado e as funções de estado correspondentes só variam de forma infinitesimal. Assim, é possível retornar ao ponto de partida sem que ocorram mudanças. Este conceito é o que permite enunciar as condições de equilíbrio químico de um sistema. Os processos irreversíveis ocorrem em pouco tempo, não conserva o equilíbrio com o meio e, como o nome indica, uma vez que ocorre não pode retornar ao estado inicial de onde partiu.

Na natureza só existem processos reversíveis *aparentes* ou *não verdadeiros*. Tais processos podem se aproximar tanto quanto é possível aproximar de um processo reversível ideal, porém sempre existirá alguma diferença entre o sistema de partida e o sistema de chegada. O equilíbrio no qual o processo e a transformação química que se supõe perfeitamente reversíveis ocorrem, na verdade, são tratados como parcialmente reversíveis, conforme o tratamento matemático ao estudo dos sistemas em equilíbrio aparente.

A energia

O movimento é a forma de existência dos sistemas materiais. Se não há movimento, não há matéria. Isso é comprovado ao observarmos qualquer ponto do Universo. A energia é a medida do movimento da matéria. A energia não é criada nem destruída e isso implica em movimento permanente e que as mudanças que podem ocorrer são de *intensidade* ou de *capacidade*. A *intensidade* virá pela *magnitude* do movimento e a *capacidade* pelo *tipo* de movimento (físico, químico, biológico, social etc.). O movimento adota formas peculiares. Para cada uma dessas formas, o homem tem criado um sistema de medidas.

Os sistemas materiais ao interagirem entre si podem trocar massa e energia e a energia trocada

possui características que são definidas pelo sistema de origem. De modo que, ao incorporar-se a outro sistema material, seu estado é alterado eadquirem parte das propriedades ou a informação do sistema do qual procedem. Dessa forma, com a multiplicidade cada vez maior e mais complexa de interações, produz-se a unidade do mundo material em contínuo desenvolvimento.

A transmissão do movimento, como troca de energia, pode ser *a priori* agrupada em dois grupos:

1. O movimento transmitido por meio de choques caóticos de espécies atômicas ou moleculares de corpos em contato ou de forma de energia, como as radiações eletromagnéticas, provocam um efeito similar. A energia transmitida dessa forma é denominada *energia calórica* e é a forma de medir este movimento.
2. O movimento transmitido diretamente às massas de corpos que interatuam por ação de fatores externos ou internos, como são os campos gravitacionais, os campos magnéticos ou elétricos, as mudanças de volume pela de troca de massa, de temperatura ou de pressão etc. A medida dessa energia é o *trabalho* que se realiza sobre o sistema.

Assim, o movimento ou a energia trocada do ponto de vista da termodinâmica é o *trabalho*, que é a energia transmitida, produto da interação direta entre os sistemas, enquanto o calor é a transferência de energia devido a existência de diferenças de temperatura entre os sistemas. Nenhum desses parâmetros energéticos são funções de estado, uma vez que dependem dos caminhos seguidos do estado inicial até o estado final do sistema.

A unidade de energia no Sistema Internacional de Unidade é o Joule, cujo símbolo J é definido por:

$$\begin{aligned} J &= N \cdot m \\ J &= m^2 \cdot kg \cdot s^{-2} \end{aligned}$$

Ainda que sejam reportados, em muitos textos e produtos no mercado, dados de energia em calorias ou ainda em quilocalorias, a conversão entre estas unidades é:

1 cal = 4,1868 J é a caloria internacional

1 cal = 4,184 J é a caloria termoquímica

Energia interna: primeiro princípio da termodinâmica

A energia interna dos sistemas termodinâmicos é definida pelo somatório de todas as energias do sistema material, que contempla desde a energia das massas constitutivas das partículas ou corpos dos sistemas até as energias de ligação entre essas partículas e corpos, tais como: os campos nucleares, os campos das estruturas eletrônicas, as energias de ligação, as energias de organização dos corpos macroscópicos, as energias de vibração, rotação e translação das moléculas, átomos etc. Porém, não se leva em consideração a energia cinética do corpo em seu conjunto nem a energia relativa à sua posição no espaço. desse modo, a determinação da magnitude real da energia interna de um sistema é uma tarefa quase impossível, de forma que nunca se reporta a esse tipo de dado em nenhum sistema, apenas pode ser medida a troca de energia interna de um sistema quando o mesmo sofre um processo.

A energia interna é definida por:

$$\Delta E = Q - W \tag{2}$$

E esta é a formulação geral do *Primeiro Princípio da Termodinâmica*, segundo o qual a energia não se cria nem se destrói, somente se transforma. Na equação, pode-se observar que o conteúdo total de energia de um sistema material representado por E é igual a Q o calor cedido ou tomado pelo sistema menos o trabalho realizado pelo mesmo. Descreve-se o processo como um fluxo por meio de duas formas de energia.

A energia interna, como função de estado, pode ser calculada pela diferença do estado final menos o estado inicial, de forma que:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = Q - W \quad (3)$$

Por definição, E_2 é sempre maior que E_1 e a energia interna cresce e é positiva, caso contrário seria negativa.

O calor absorvido pelo sistema é marcado com sinal positivo, enquanto o calor cedido é descrito pelo sinal negativo. Todo processo ou reação química que emite calor ou perde calor é denominado exotérmico, enquanto todo processo que absorve calor ou retira calor é denominado endotérmico.

O trabalho pode ser realizado pelo sistema até o meio exterior ou pode-se realizar o trabalho sobre o sistema a partir do exterior. Quando o sistema realiza trabalho, é assinalado com um sinal positivo e quando recebe trabalho é assinalado com um sinal negativo.

Quando um sistema realiza uma transformação química, o trabalho relacionado a essa mudança quase sempre implica uma variação na pressão e no volume, dessa forma:

$$W = \int_{V_1}^{V_2} P dV \quad (4)$$

$$\Delta E = Q - \int_{V_1}^{V_2} P dV \quad (5)$$

Este é o caso de um sistema aberto em que se pode variar a pressão e o volume

Como o subsistema da matéria orgânica no solo é aberto (tanto como o solo todo o é), as trocas de energia interna que ocorrem estão muito mais relacionadas com a evolução do calor que com as mudanças de pressão e de volume, supondo que estas mudanças ocorrem sobre ou dentro de fases líquidas e/ou sólidas, segundo a literatura que se refere aos solos ou que às fontes de substâncias orgânicas que vão determinar a formação do húmus.

Isso nos permite realizar uma aproximação: a contribuição do calor Q é muito maior que a do trabalho W e, por essa razão, a determinação dos calores de reação, seja de formação ou de decomposição, será um dado muito importante para a aproximação das trocas de energia interna do sistema. Se quisermos aproximar a determinação de trabalho de estruturação de uma macromolécula das substâncias orgânicas e do húmus e ainda indicar sua influência sobre o meio ao seu redor, haveria que se levar em conta, entre outros dados, a estabilização físico-química da molécula, a estabilização frente ao ataque dos microrganismos, a estabilização mútua com a fase inorgânica, a maior ou menor solubilidade da macromolécula formada, o volume de solvatação ocupado na solução do solo, tanto ao constituir-se como hidrolizar-se ou romper-se por reação dos microrganismos. Enfim, é uma tarefa bem difícil pela quantidade de fatores e de interações que ocorrem.

No entanto, se a reação ocorresse num recipiente ou num meio fechado (um micro-poro dos minerais primários ou secundários do solo), no qual o volume permanece constante, poderíamos considerar então:

$$\Delta E = Q - \int_{V_1}^{V_2} P dV \quad V_2 - V_1 = 0 \quad (6)$$

$$W = 0$$

$$\Delta E = Q_V \quad (7)$$

Como se vê, nessas condições, a variação de energia interna é igual ao calor evoluído em volume constante. O problema é: onde e como se formou determinada substância orgânica que é estável no solo? Daqui, poderemos então partir para calcular esse parâmetro no sistema estudado.

Entalpia

A maioria dos processos na natureza ocorre à pressão constante. Dos processos que o homem desenvolve nos laboratórios e nas indústrias, uma grande parte também se realiza à pressão constante. Quando, num processo, evolui uma quantidade de calor nessas condições, diz-se que esse calor é Q_p , representando a condição na qual o processo evoluiu. Esta condição é evidentemente diferente da existente quando obtivemos Q_v .

Se tomarmos a eq.5 e aplicarmos a condição de pressão constante, obteremos:

$$\Delta E = Q - \int_{V_1}^{V_2} P dV \quad P = \text{cte.} \quad (8)$$

$$\Delta E = Q - P \int_{V_1}^{V_2} dV$$

$$\Delta E = Q_p - P(V_2 - V_1) \quad (9)$$

$$\Delta E = Q_p - P \Delta V \quad (10)$$

$$Q_p = \Delta E + P \Delta V \quad (11)$$

Isso quer dizer que o calor evoluído à pressão constante é igual a variação da energia interna mais o parâmetro da pressão, multiplicado pela variação do volume.

O parâmetro $E + P V$ é reconhecido como a **Entalpia** do sistema representado por **H**.

$$H = E + PV \quad \text{e} \quad (12)$$

$$\Delta H = \Delta E + P \Delta V \quad Q_p \quad (13)$$

$$\Delta H \approx \Delta E$$

A entalpia do sistema é uma função de estado que depende somente dos estados inicial e final. Nas condições descritas, a variação da entalpia é igual a evolução do calor à pressão constante. Os sinais com que se identifica a entalpia nos processos são os mesmos que se utilizam com o calor, i.e., se um processo é exotérmico e cede calor para o sistema, a entalpia é negativa; se um processo é endotérmico e toma calor para o sistema, a entalpia é positiva.

A energia interna e a entalpia dos sistemas são diferentes porque o parâmetro $D(PV)$ está presente na sua relação, assim: $\Delta H = \Delta E + \Delta(PV)$ (14)

Entretanto, a reação na qual intervêm somente líquidos e sólidos sofre uma mudança de volume muito pequena, devido ao fato de que a densidade de todas as substâncias condensadas que contêm os átomos são similares (caso do húmus). Se as reações são efetuadas, a pressão relativamente baixas como é a pressão de 1 atmosfera (1013 hPa), $\Delta(PV)$ pode-se, sem grandes erros indicar que :

$$\Delta H \approx \Delta E \quad (15)$$

Se, ao contrário, na reação produzem-se ou consomem-se gases, ΔH e ΔE podem ser muito diferentes, posto que para os gases ideais:

$$PV = nRT \quad (16)$$

$$\Delta(PV) = \Delta nRT \quad (17)$$

Então, a partir da eq.14:

$$\Delta H = \Delta E + \Delta nRT \quad (\text{a temperatura constante}) \quad (18)$$

De acordo com a análise anterior, dispomos das possibilidades para calcular tanto ΔH como ΔE , na dependência das condições de existência do sistema ou do processo que se desenvolve. Se, de outro modo, é oferecida a possibilidade de que o processo de formação ou decomposição do húmus ocorra à pressão constante em fases sólidas ou líquidas, podemos, a partir do calor evoluído à pressão constante, calcular com um erro relativamente pequeno, tanto ΔH como ΔE desse sistema similares.

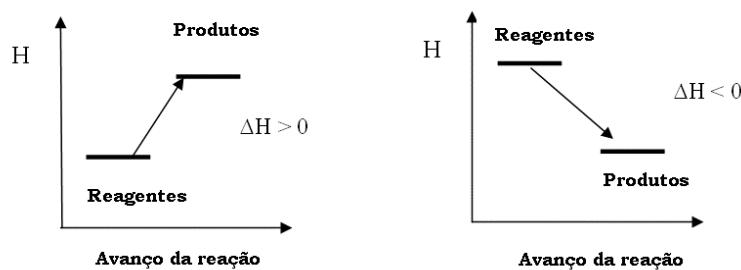


Figura 4.3. Variação da entalpia de um sistema ao realizar o processo de transformação de reagentes em produtos. À esquerda, um processo endotérmico e à direita, um processo exotérmico.

De acordo com o que se observa na Figura 4.3., a variação de entalpia pode ser calculada por meio de: $\Delta H = H_2 - H_1$ (18)

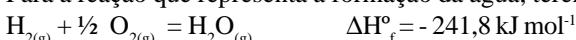
Se H_2 e H_1 representam a entalpia total dos produtos e dos reagentes, então devemos desenvolver a somatória das entalpias de cada substância componente do sistema para calcularmos o calor total da variação, mas isso veremos mais adiante.

Termoquímica

A termoquímica, como um ramo particular da termodinâmica, trata das mudanças de energia que ocorrem nas reações químicas. Os dados termoquímicos se expressam a partir e em relação com a equação química corretamente escrita em cada um de seus componentes, ajustada ao número de moles que participam dela.

Usualmente utiliza-se a variação da entalpia padrão (ou tipo), representada por ΔH° . Esta é a variação da entalpia do sistema, quando os reagentes em seu estado padrão são convertidos em produtos também em seu estado padrão. O estado padrão de uma substância é a sua forma mais estável à pressão de 1013hPa e à temperatura de 298,15 °K (25°C).

Para a reação que representa a formação da água, teremos:



E significa que, quando, um mol de diidrogênio gasoso combina com meio mol de dioxigênio gasoso, transformando-se em um mol de água gasosa, liberando 241,8 kJ de calor.

A variação da entalpia de formação molar padrão de uma substância é representada por ΔH_f° em que o sub-índice f assinala que a reação de formação ocorreu a partir de substâncias simples em

seu estado padrão e foi obtido um mol do produto.

Por convenção, a entalpia de formação molar é igual a zero nas substâncias simples em seu estado padrão. Tal como no caso do oxigênio na reação anterior.



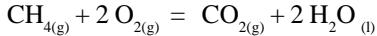
Ainda que falemos com propriedade, não é correto assinalar o valor de 0,0 para esse calor de reação.

Pode-se calcular também a entalpia de reação de qualquer substância, conhecendo-se os dados das entalpias de formação (fornecidos para muitas substâncias na Tabela 3.1) pela expressão:

$$\Delta H^0 = \sum u_p \Delta H_f^0(p) - \sum u_r \Delta H_f^0(r) \quad (19)$$

onde o somatório do lado esquerdo da equação representa os produtos e o somatório do lado direito, os reagentes. O termo n é o coeficiente estequiométrico de ajuste dessa substância na equação química. Nesse caso, o símbolo ΔH^0 corresponde a uma reação química em geral, que pode ser de combustão, de hidratação, de síntese, de ionização e etc.

Um exemplo de aplicação pode ser:



que necessitamos para se conhecer o calor de reação que, nesse caso, é a combustão completa do metano.

Procurando na Tabela 4.1., encontramos os calores de formação das substâncias reagentes e dos produtos:

$$\Delta H_f^0 \text{ CH}_{4(\text{g})} = -74,9 \text{ kJ mol}^{-1}$$

$$\Delta H_f^0 \text{ O}_{2(\text{g})} = 0,0 \text{ kJ mol}^{-1}$$

$$\Delta H_f^0 \text{ CO}_{2(\text{g})} = -393,5 \text{ kJ mol}^{-1}$$

$$\Delta H_f^0 \text{ H}_2\text{O}_{(\text{l})} = -285,8 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Aplicando-se a eq.19, obteremos:

$$\Delta H_c^0 = [(1 \cdot -393,5) + (2 \cdot -285,8)] - [(1 \cdot -74,9) + (2 \cdot 0,0)]$$

$$\Delta H_c^0 = -890,2 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Isto é, a entalpia de combustão do metano foi calculada a partir dos calores de formação de cada substância presente na equação química, que representa a combustão.

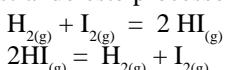
Leis termoquímicas

São denominadas leis termoquímicas os dois enunciados, um de Lavoisier (1780) e outro de Hess (1836). O primeiro enunciado diz: “o calor evoluído por uma reação química numa direção é igual, mas de sinal contrário ao calor evoluído na direção oposta”. Como se vê, essa assunção contém o princípio da conservação da energia.

Dessa forma, é válido:

$$\Delta H_{\text{direta}} = -\Delta H_{\text{inversa}}$$

Ilustrando este processo



$$\Delta H_{\text{direta}}^0 = 26,6 \text{ kJ mol}^{-1}$$

$$\Delta H_{\text{inversa}}^0 = -26,2 \text{ kJ mol}^{-1}$$

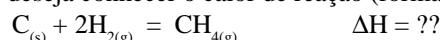
Esta Lei justifica a assunção que faremos, ao calcular o calor de formação de uma parte da macromolécula que aparece nas Figuras 4.4 e 4.5, no sentido de que para mineralizar a mesma, seja necessário fornecer a mesma quantidade de energia cedida ao formar-se, mais a energia dos demais

processos mencionados.

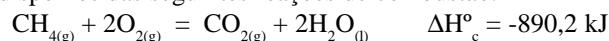
A segunda lei termoquímica ou lei de Hess enuncia que “*o calor que intervém numa transformação química é o mesmo, tanto se a reação se processa numa só etapa, como se ela é realizada em várias etapas*”. Essa assunção permite tratar as equações das reações químicas como equações matemáticas. Isto é particularmente útil quando as determinações das entalpias de reações em laboratório se tornam difíceis, seja por falta das substâncias ou dos meios adequados, posto que, neste caso, fazendo-se uso de reações já conhecidas e estudadas, pode-se estruturar teoricamente uma seqüência de reações que conduzem à reação buscada. Ao somar-mos as entalpias conhecidas obteremos a entalpia desejada.

Vejamos um exemplo:

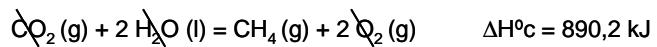
Se deseja conhecer o calor de reação (formação) do metano, observe a seguinte reação:



E dispomos das seguintes reações de combustão:



Nessas reações, procedemos da seguinte forma: invertemos a primeira e conservamos a segunda e a terceira na mesma direção, mas na segunda nó, multiplicam-se os dois membros por 2 e, em seguida, procedemos à soma das equações e obtemos:



Dessa forma, se for realizado um trabalho meticuloso com as milhares de publicações sobre substâncias húmidas, nas quais se descrevem reações e energia, é possível começar a aproximar-se de representações e cálculos energéticos que nos informem com mais detalhes sobre os processos que ainda não podemos criar ou estudar.

Capacidade calórica

A capacidade calórica de uma substância é a quantidade de calor necessário para elevar em um grau Celsius ou Kelvin um mol da substância. Posto que o calor não é uma função de estado, a quantidade de calor necessário para produzir uma mudança depende do caminho que o processo segue. Por isso, utilizam-se diferentes tipos de capacidade calórica, isto é, C_p capacidade calórica à pressão constante e C_v capacidade calórica a volume constante, cujas definições são:

$$C_p = \frac{dQ_p}{dT} = \frac{dH}{dT}$$

$$C_v = \frac{dQ_v}{dT} = \frac{dE}{dT}$$

A quantidade de calor necessária para mudar a temperatura de n moles de substância de T_1 até T_2 é dada pela equação de Kirchhoff

$$\Delta H_2 - \Delta H_1 = n \int_{T_1}^{T_2} \Delta C_p \, dT \quad (20)$$

$$\Delta H_2 - \Delta H_1 = n \Delta C_p \int_{T_1}^{T_2} dT = n \Delta C_p \Delta T \quad (21)$$

$$\Delta E_2 - \Delta E_1 = n \int_{T_1}^{T_2} \Delta C_v \, dT \quad (22)$$

$$\Delta E_2 - \Delta E_1 = n \Delta C_v \int_{T_1}^{T_2} dT = n \Delta C_v \Delta T \quad (23)$$

Em ambos os casos, tanto ΔC_p como ΔC_v , são dados por C produtos - C reagentes.

Assim, pode-se observar que, conhecendo-se as capacidades calóricas de uma substância sob estudo e a variação de temperatura, pode-se calcular a variação da entalpia ou da energia interna do sistema, os quais se particularizam para ΔC_p e ΔC_v constantes numa faixa de temperaturas de processo seguido pelo sistema (nas eq.21 e 23).

Em muitos casos, este cálculo se faz necessário. Por exemplo, ao longo do ano, a temperatura média do solo muda de -15° até 35° C em países de clima temperado e, nos países tropicais, pode variar de $10-15^\circ$ C à noite para 40° C durante o dia. Assim, torna-se necessário reportar as condições em que se efetuou um cálculo ou determinação, com respeito a todo o solo ou a um de seus componentes, tais como, as substâncias húmicas. A possibilidade de determinar a influência da temperatura em sistemas submetidos a condições de mudança do meio é o que oferece a equação de Kirchhoff.

Tabela 4.1: Entalpia molar padrão de combustão, DH°_c , de algumas substâncias a 298° K e 1013 hPa.

Substância	DH°_c em kJ mol^{-1}	Substância	DH°_c em kJ mol^{-1}
$\text{H}_2(\text{g})$	-285.8	$\text{C}_2\text{H}_2(\text{g})$	-1299.6
$\text{C}(\text{grafite})$	-393.5	$\text{C}_2\text{H}_4(\text{g})$	-1411.3
$\text{C}(\text{diamante})$	-395.3	$\text{C}_6\text{H}_6(\text{l})$	-3267.7
$\text{CO}(\text{g})$	-283.3	$\text{CH}_2\text{O}(\text{g})$	-564
$\text{CS}_2(\text{l})$	-1103.8	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}(\text{g})$	-1191
$\text{S}_8(\text{rómbico})$	-2375.2	$(\text{CO}_2\text{H})(\text{s})$	-246
$\text{S}_8(\text{monoclínico})$	-2377.6	$\text{C}_3\text{H}_5\text{OH}(\text{l})$	-1367
$\text{H}_2\text{S}(\text{g})$	-562.3	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}(\text{s})$	-5643.8
$\text{NH}_3(\text{g})$	-316.7	$\text{CH}_3\text{OH}(\text{l})$	-726.5
$\text{CH}_4(\text{g})$	-890.2	$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}(\text{l})$	-874.4
$\text{C}_2\text{H}_6(\text{g})$	-1559.8	$\text{CH}_3\text{OCH}_3(\text{l})$	-1454.4
$\text{C}_3\text{H}_6(\text{g})$	-2059	$\text{C}_5\text{H}_5\text{OC}_2\text{H}_5(\text{l})$	-2762.7
$\text{C}_3\text{H}_8(\text{g})$	-2220.0	$\text{CH}_3\text{COCH}_3(\text{l})$	-1786.6
$\text{C}_4\text{H}_{10}(\text{g})$	-2878.0	$\text{CH}_3\text{CHO}(\text{l})$	-1168.0
$\text{C}_4\text{H}_8(\text{g})$	-2719	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}_2\text{H}(\text{s})$	-3227.7
$\text{C}_5\text{H}_{10}(\text{g})$	-3418	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}(\text{l})$	-1366.7
$\text{C}_5\text{H}_{12}(\text{g})$	-3536	$\text{CH}_3\text{COCH}_5(\text{l})$	-2252.0
$\text{C}_6\text{H}_{12}(\text{g})$	-4035	$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}(\text{s})$	-3052
$\text{C}_6\text{H}_{14}(\text{g})$	-4145	$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5(\text{l})$	-2252
$\text{C}_7\text{H}_{14}(\text{g})$	-4694	$\text{CS}_2(\text{g})$	-1103
$\text{C}_7\text{H}_{16}(\text{g})$	-4854	$\text{HCOOH}(\text{l})$	-255
$\text{C}_8\text{H}_{16}(\text{g})$	-4597		
$\text{C}_8\text{H}_{18}(\text{g})$	-5513		

Tabela 4.2: Entalpia (ΔH_f°), Energia Livre

Substância	ΔH_f° (kJ mol ⁻¹)	S° (J mol ⁻¹ K ⁻¹)	ΔG_f° (kJ mol ⁻¹)
Al ₂ O ₃ (s)	-1676,0	50,9	-1582,0
AlBr ₃ (s)	-526,5	-505,1	184,1
Au(s)	0,0	47,7	0,0
Au(OH) ₃ (s)	-418,5	-290	121,4
B(s)	0,0	6,7	0,0
B ₃ C(s)	-62,3	27,1	-61,7
BCl ₃ (s)	-395,4	209,3	-380,4
BF ₃ (s)	-1110	366,6	-1093,5
B ₂ H ₆ (g)	31,4	232,9	82,9
B ₂ O ₃ (s)	-1277	54	-1184
Br ₂ (l)	0,0	152,2	0,0
C(grafite)	0	5,7	0
CCl ₄ (l)	-135,4	214,4	-64,6
CH ₄ (g)	-74,9	186,3	-50,8
C ₂ H ₂ (g)	226,8	200,9	209,2
C ₂ H ₄ (g)	52,3	219,5	68,1
C ₂ H ₆ (g)	-89,7	229,6	-32,9
C ₃ H ₆ (g)	20,4	267	62,4
C ₄ H ₈ (g)	1,2	307,5	71,5
C ₄ H ₁₀ (g)	-134,5	310,1	-18
C ₅ H ₁₀ (g)	20,9	347,7	78,6
C ₅ H ₁₂ (g)	-146,5	348,5	8,2
C ₆ H ₆ (l)	-89,7	229,6	-32,9
C ₆ H ₁₂ (g)	-41,7	386,1	87
C ₆ H ₁₄ (g)	-167,4	386,9	0,2
C ₇ H ₁₆ (g)	19	352,8	122,1
C ₈ H ₁₆ (g)	-82,9	426,9	104,2
C ₈ H ₁₈ (g)	-208,5	463,8	17,3

A entropia e a segunda lei da termodinâmica

A segunda lei da termodinâmica interpreta a manifestação dos sistemas materiais de incrementar-se o que denominamos **entropia**. Resumidamente, a segunda lei é a *tendência dos sistemas materiais do universo a aumentar a sua entropia*.

Num processo irreversível, quando evolui a energia calorífica, ocorre que a temperatura dos corpos postos em contato tem magnitudes distintas entre eles. Diz-se então que a temperatura é o fator intensidade do calor e que tem magnitudes particulares em cada corpo. Um processo reversível desse tipo só pode ser definido, se a temperatura é constante, neste caso, a extensão do processo é determinada a partir do fator capacidade de calor.

A entropia é uma função de estado que atua como fator de capacidade de calor nos *processos isotérmicos reversíveis*.

Em relação a alguns processos e fenômenos observados, a experiência humana tem estabelecido critérios sobre a possibilidade de ocorrência de processos por si mesmos (espontâneos) e os limites possíveis dos mesmos. Dessa forma, sabe-se que o calor pode fluir espontaneamente só de um corpo de temperatura superior para outro de temperatura inferior, diminuindo a temperatura do primeiro e aumentando a temperatura do segundo. Quando as temperaturas se igualam, o processo cessa e o equilíbrio é atingido. Esse mesmo processo, porém, em sentido inverso, é o que se observa numa nevasca, só que para ter êxito (manter temperatura) deve-se gastar energia de uma fonte externa. Se dois recipientes que contêm gases são conectados, o fluxo espontâneo dos gases de um recipiente para outro ocorre rapidamente somente se as pressões de ambos os recipientes forem diferentes. Isso ocorrerá até que as pressões se igualem e se atinja o equilíbrio (a

Tabela 4.2: Entalpia (ΔH°_f), Energia Livre (ΔG°_f) de formação molar padrão e Entropia (S°) molar padrão de algumas substâncias a 298 K e 1013 hPa (continuação)

Substância	ΔH°_f (kJ/mol ⁻¹)	S° (J/mol ⁻¹ K ⁻¹)	ΔG°_f (kJ/mol ⁻¹)
$\text{CH}_2\text{O(g)}$	-115,9	218,7	-110,1
$\text{C}_2\text{H}_4\text{O(g)}$	-166,4	265,7	-133,8
$(\text{CO}_2\text{H})_2\text{(s)}$	-826,9	120,1	-698,1
$\text{CH}_3\text{OH(l)}$	-238,6	126,8	-166,2
$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH(s)}$	-160,7	142,3	3,2
$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5\text{(l)}$	-463,4	759,7	470,2
$\text{CHCl}_3\text{(l)}$	-131,8	201,8	-71,6
$\text{C}_2\text{H}_5\text{Cl(g)}$	-105	275,4	-53,1
$\text{CCl}_4\text{(l)}$	-139,5	214	-139
$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH(l)}$	-227,7	160,7	-174,8
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (glicose)	-1273,0	-	-919,5
CO(g)	110,5	197,6	-137,5
$\text{CO}_2\text{(g)}$	-393,3	213,6	-394,4
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2\text{(l)}$	-333,2	104,6	-197,2
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2\text{(s)}$	-319,2	173,8	-203,8
$\text{CaCO}_3\text{(s)}$	-1207,0	88,7	-1127,7
$\text{CaF}_2\text{(s)}$	-1214,6	68,9	-1161,9
$\text{Ca}_3\text{N}_2\text{(s)}$	-431,8	105,0	-368,6
CaO(s)	-635,5	39,7	-604,2
$\text{Ca(OH)}_2\text{(s)}$	-986,6	76,1	-896,8
$\text{CaSO}_4\text{(s)}$	-1432,7	107	-1320,3
$\text{Cl}_2\text{(g)}$	0	222,9	0
$\text{Cl}_2\text{O(g)}$	76,6	266,3	94,2
$\text{ClO}_2\text{(g)}$	105,0	257,1	122,3
$\text{Cl}_2\text{O}_7\text{(l)}$	251,0	-	-
Cu(s)	0	33,2	0
CuO(s)	-162,0	42,6	-129,9
Fe(s)	0	27,3	0
FeO(s)	-264,8	60,8	-244,3
$\text{Fe}_2\text{O}_3\text{(s)}$	822,2	87,4	-740,3
$\text{H}_2\text{(g)}$	0	130,6	0
HBr(g)	-36,3	198,6	-95,2
HCN(g)	135,0	113,1	125,5
HCl(g)	-92,3	186,8	-95,2
HF(g)	-270,7	178,7	-272,8
HI(g)	26,6	206,5	1,8
$\text{HN}_3\text{(l)}$	294,0	328,0	238,8
$\text{H}_2\text{O(g)}$	-241,8	188,7	-228,6
$\text{H}_2\text{O(l)}$	-285,8	70,1	-237,3
$\text{H}_2\text{O}_2\text{(l)}$	-187,8	109,6	-120,4
$\text{H}_2\text{S(g)}$	-21,0	205,8	-33,8
$\text{HNO}_3\text{(l)}$	-174,1	155,6	-80,8
$\text{H}_2\text{S(g)}$	-20,6	205,7	-33,6
$\text{H}_2\text{SO}_4\text{(l)}$	-814	156,9	690,1
KCl(s)	-435,9	82,6	-408,0
$\text{KClO}_3\text{(s)}$	-391,2	143,0	-289,9
$\text{K}_2\text{SO}_4\text{(s)}$	-1433,7	176	-1316,4
Mg(s)	0	31,8	0
$\text{MgCl}_2\text{(s)}$	-641,1	89,9	-591,6
$\text{Mg}_3\text{N}_2\text{(s)}$	-461,1	87,9	-400,9
MgO(s)	601,8	26,9	-569,6
$\text{N}_2\text{(g)}$	0	191,6	0
$\text{NH}_3\text{(g)}$	-46,2	192,6	-16,7
$\text{NHNO}_2\text{(s)}$	-256,0	-	-
$\text{NH}_4\text{NO}_3\text{(s)}$	-365,4	151,0	-183,8
$\text{N}_2\text{O(s)}$	81,6	220,3	104,0
NO(g)	90,4	210,7	86,7
$\text{N}_2\text{O}_3\text{(g)}$	83,3	307,0	140,5

Tabela 4.2: Entalpia (ΔH_f°), Energia Livre (ΔG_f°) de formação molar padrão e Entropia (S°) molar padrão de algumas substâncias a 298 K e 1013 hPa. (continuação)

Substância	ΔH_f° (kJ mol ⁻¹)	S° (J.mol ⁻¹ K ⁻¹)	ΔG_f° (kJ mol ⁻¹)
NO ₂ (g)	32,9	240,4	51,8
N ₂ O ₄ (g)	9,6	303,8	98,4
Ni(s)	0	25,1	0
NiO(s)	-239,7	38,0	-211,6
O ₂ (g)	0	205,1	0
PCl ₃ (g)	306,4	311,8	-206,3
PCl ₅ (g)	-375,0	354,6	-305,1
Pb(s)	0	27,3	0
PbO(s)	-219,3	66,1	-189,1
PbO ₂ (s)	-276,6	74,9	-218,4
SO ₂ (g)	-296,9	248,2	-300,3
SO ₃ (g)	-395,8	256,8	-371,1
SnO(s)	-206,0	56,5	-256,9
Zn(s)	0	41,6	0
ZnO(s)	-350,6	43,6	-320,7
ZnS(s)	-206,0	57,7	-201,3
Na(s)	0	51	0
NaCl(s)	-411	72,4	-384
NaCO ₃ (s)	-1131	136	-1047,9
NaHCO ₃ (s)	-947,7	102,1	-852,1
NaOH(s)	-426,8	64,2	-382
Na ₂ SO ₄ (s)	-1384,5	149,4	-1266,8

Tabela 4.3 Energias de ligações químicas

Ligaçao	Molécula	Energia kJ mol ⁻¹	Ligaçao	Molécula	Energia kJ mol ⁻¹
C-H	alcanos	412,96	C-N	aminas, nitroalcanos	275,73
C-H	alquenos	415,89	C≡N	HCN, (CN) ₂	869,85
C-H	Alquinos, HCN, CHCl ₃	402,92	O-H	H ₂ O	457,73
C-H	Benzeno	421,33	O-H	Alcôois	438,06
C-F	Fuoretos de alquila	317,98	O-F	F ₂ O	188,28
C-Cl	Cloreto de alquilo	317,15	O-Cl	Cl ₂ O	204,60
C-Cl	CCl ₄ e CHCl ₃	311,29	O-O	H ₂ O ₂	139,33
C-Cl	COCl ₂	264,85	S-H	H ₂ S	363,17
C-Br	Brometos de alquila	197,48	S-Cl	S ₂ Cl ₂	297,06
C-I	Iodetos de alquila	331,79	S=O	SO ₂	526,77
C-C	Alcanos, (CN) ₂	350,62	S-S	S ₂ Cl ₂	288,70
C-C	RCHO, RR'CO	487,02	N-H	NH ₃ , aminas	384,93
C-C	Anel bencénico	587,85	N=O	Nitroalcanos	434,72
C=C	Alquenos	822,99	N≡O	NO	625,09
C≡C	Alquinos	333,05	N-N	N ₂ O ₄	177,82
C-O	Alcôois éteres	705,84	As-H	AsH ₃	198,74
C=O	RCHO, RR'CO	799,14	As-Cl	AsCl ₃	252,30
C=O	CO ₂	1070,27	As-Br	AsBr ₃	216,73
C≡O	CO	412,96	As-I	AsI ₃	138,49
H-H	H ₂	431,79	As-As	As ₄	63,18
H-Cl	HCl	427,19	Se-Cl	SeCl ₂	246,86
H-Br	HBr	362,75	Li-Cl	LiCl	495,80
H-I	HI	295,39	Na-Cl	NaCl	408,78
Cl-Cl	Cl ₂	238,91	K-Cl	KCl	424,26
Br-Br	Br ₂	189,95	Si-Cl	SiCl ₄	364,01
Li-Li	Li	74,48	Sn-Cl	SnCl ₂ , SnCl ₄	317,98
Na-Na	Na	49,37	Br-Cl	BrCl	217,99
K-K	K	242,67	I-Br	IBr	179,08
Li-H	HLi	196,65	Benzeno	aromaticidade	159,99
Na-H	HNa	179,49	naftaleno	aromaticidade	313,80
K-H	HK	74,48	COOH	ácidos	117,15
C (sólido)	vaporização	523	COOR	ésteres	100,42
N≡N	N ₂	711,28	Ponte de H	H...F...H	41,84
O=O	O ₂	493,71	Ponte de H	H...O...H	29,29
			Ponte de H	H...N...H	8,37

esse equilíbrio seguirá um processo mais lento, o da difusão das partículas dos gases até que se alcance a igualdade de potencial de concentração das espécies entre os dois recipientes). Quando dois corpos eletricamente carregados são unidos por meio de um condutor, a electricidade flui do corpo de maior potencial até o corpo de potencial menor, o processo se detém quando se alcança a igualdade dos potenciais elétricos, quer dizer, o equilíbrio de potencial elétrico.

Para cada processo existe um critério que determina a direção e o limite (o estado de equilíbrio) do processo espontâneo. Para a transmissão do calor, é a temperatura; para o movimento dos gases entre os recipientes, a pressão e a concentração; para o fluxo da electricidade, o potencial de carga. Todos eles são fatores de intensidade. O fator de capacidade é a entropia.

Dessa explicação, pode-se derivar a seguinte afirmação: “os processos de interação entre as distintas partes de um sistema podem ocorrer espontaneamente na direção que iguala um fator de intensidade para todas as partes do sistema, quando se chega a calores iguais. Esse é o limite para o desenvolvimento espontâneo do processo nas condições dadas e, dessa forma, atinge-se a condição de equilíbrio”.

Este método não é aplicável aos sistemas uniformes nem às reações químicas homogêneas.

A mudança de entropia pode ser calculada por meio de:

$$dS_{rev} = \int_1^2 \frac{dQ_{rev}}{T} \quad (24)$$

Num processo isotérmico reversível ou finito:

$$\Delta S_{rev} = \frac{Q_{rev}}{T} \quad (25)$$

Para um processo irreversível como $Q_{rev} > Q_{irrev}$

$$\Delta S_{rev} > \frac{Q_{irrev}}{T} \quad (26)$$

Quando um sistema está isolado adiabaticamente e $Q = 0$ então:

$$\Delta S = 0 \quad \text{e} \quad \Delta S = 0$$

Qualquer processo espontâneo é irreversível até certo ponto, nesse caso, um processo espontâneo isolado de acordo com a eq. 26 terá:

$$\Delta S > 0 \quad \Delta S > 0$$

Para um sistema isolado, este é o critério termodinâmico de um processo espontâneo. Um sistema isolado tende espontaneamente a um estado maior de entropia. Quando um sistema nas condições assinaladas efetua um processo espontâneo e alcança um estado de equilíbrio, o aumento de entropia é máximo. A partir dessas considerações pode-se definir que *sempre que a entropia de um sistema aumenta seu sinal, será positivo e, se diminui seu sinal, será negativo*.

Conceitualmente, a segunda lei pode ser descrita que “*num processo reversível espontâneo, a entropia do sistema é constante, enquanto que num processo irreversível espontâneo, a entropia do sistema (do universo) aumenta*”.

Ainda que a termodinâmica não faça suposições sobre a estrutura da matéria é possível a partir de seus conceitos, a explicação da entropia em termos de propriedades moleculares das substâncias. O segundo princípio da termodinâmica tem um conteúdo essencialmente da matemática estatística que pode ser aplicado com êxito a um sistema com grande número de partículas, como um conjunto grande de moléculas. A probabilidade de que todas as moléculas dos gases que constituem o ar que respira-se dentro de uma sala de aula na universidade (um cubo) se movam uniformemente e se situem na esquina superior do cubo, deixando sem ar para

respirar leva à probabilidade de existirem milionésimos de segundos num tempo quase infinito, isso porque que as moléculas animadas de energia cinética, movendo-se caoticamente, estarão quase todo o tempo ocupando o volume total do cubo. Em fim, a experiência cotidiana indica que é mais provável a existência de um movimento caótico e da distribuição desordenada do que a probabilidade da existência de um estado ordenado.

Quando qualquer sistema termodinâmico está em estado de equilíbrio macroscópico, seu estado microscópico não tem que estar também em equilíbrio em cada ponto, uma vez que, microscopicamente, o sistema está em mudança continuamente à grande velocidade. Isso deve significar que existem muitos estados microscópicos compatíveis com um estado macroscópico. Posto que a entropia mede o número de estados microscópicos do sistema, aumenta-o. Assim pode-se dizer que o estado desordenado tem uma entropia mais alta que o estado ordenado. A entropia tem uma tendência natural para o aumento, *i.e.*, a maior probabilidade de existência do sistema.

A entropia também (e da mesma forma que a entalpia) está relacionado com as mudanças de temperatura a partir da significação da eq.24, uma vez que:

$$dQ_{rev} = nC_p dT \quad \text{e} \quad dQ_{rev} = nC_v dT \quad (27)$$

De onde se obtém que:

$$\Delta S = \int_{T_1}^{T_2} \frac{nC_p}{T} dT \quad (28)$$

$$\Delta S = \int_{T_1}^{T_2} \frac{nC_v}{T} dT \quad (29)$$

Se o intervalo de temperatura é pequeno, pode-se considerar que C_p e C_v são constantes, então:

$$\Delta S = nC_p \ln \frac{T_2}{T_1} \quad \Delta S = nC_v \ln \frac{T_2}{T_1} \quad (30)$$

Se C_p e C_v não são constantes, então há que se conhecer a função de dependência com a temperatura.

A entropia e a terceira lei da termodinâmica

A relação entre a entropia e a probabilidade de existência de um determinado estado indica que o menor valor da entropia será o de uma substância cristalina à temperatura de zero absoluto. Um cristal perfeito a 0° K só pode ter um estado microscópico, já que cada átomo deve estar em um ponto fixo da rede cristalina e deve ter uma energia mínima.

Como não é possível alcançar o zero absoluto de temperatura, a terceira lei da termodinâmica anuncia que “*a entropia de um cristal perfeito tende a zero, ao tender a temperatura de zero absoluto*”, conforme a assunção de Planck.

A importância da terceira lei reside em tornar possível a determinação da entropia absoluta de cada elemento e de cada composto a qualquer temperatura. Na Tabela 3.2., aparecem dados desse tipo. Pelos dados de Tabela, pode-se ver que, entre os sólidos, as substâncias que têm as energias mais baixas são os cristais rígidos e duros, que contêm átomos de baixa massa molar. Isso é devido ao fato de que a entropia de um cristal tem relação com a amplitude de vibração dos seus átomos nos

pontos de localização na rede cristalina. Em cristais brandos e de átomos de maior massa molar, a amplitude de vibração é maior e com ela aumenta a entropia. No caso dos gases cujas espécies químicas têm a menor interrelação molecular, a distância maior e os átomos podem vibrar dentro da molécula com maior amplitude e a entropia aumenta ainda mais. Esta situação estabelece uma tendência na magnitude da entropia dos sistemas materiais. A menor condensação do estado físico do sistema (sólido < líquido < gás) aumenta mais a entropia do sistema e vice-versa. Por outro lado, se, por exemplo, numa reação química, a parte de um sólido ou de um gás e o produto são dois gases, a entropia aumenta em ambos os casos.

Em geral, à medida que aumenta a complexidade molecular a entropia aumenta porque, numa substância complexa, os átomos podem vibrar até a sua posição de equilíbrio. Desse modo, como ocorre nos sólidos, este movimento contribui para aumentar o número de estados microscópicos possíveis e com eles a entropia. Também ocorre que a capacidade de uma molécula poliatômica de girar ao redor de seu centro de massa contribui para o aumento da entropia desse sistema, tornando maior a contribuição à proporção que a molécula se torna mais complexa.

A entropia de uma reação pode ser calculada aplicando-se:

$$\Delta S^o = \sum n_p S^o(p) - \sum n_r S^o(r) \quad (31)$$

Isso quer dizer que juntando-se a soma das entropias-padrão absolutas dos produtos com a soma das entropias-padrão absolutas dos reagentes a equação, o resultado é similar ao utilizado para o cálculo das entalpias.

Para uma mudança da magnitude da entropia a partir do valor $S_0 = 0$ que estabelece a terceira lei, tem-se:

$$S_T - S_0 = \int_0^T \frac{C_p dT}{T} \quad (32)$$

$$S_T = \int_0^T \frac{C_p dT}{T} \quad (33)$$

Isso quer dizer que o cálculo da entropia absoluta a uma determinada temperatura pode ser obtido com a magnitude da capacidade calórica do sistema.

Energia livre e espontaneidade

O critério sobre um processo quanto a sua espontaneidade ou não foi baseado até agora na segunda lei da termodinâmica, considerando-se a mudança que se produz na entropia do sistema. Esse enfoque leva mais em conta a variação geral da entropia do Universo que a mudança da entropia de um pequeno sistema ao qual se tem acesso. Um sistema químico é uma pequena porção do universo e resulta em que sejam combinadas a primeira e a segunda lei. Considerando-se a conservação da energia e a estrutura do sistema, pode-se obter por meio de uma nova função de estado, que se denomina energia livre ou, mais explicitamente, energia livre de Gibbs (quando se trabalha com pressão e temperatura constantes). A energia livre de um sistema é o trabalho máximo que se pode obter às custas da energia interna de um sistema em condições de temperatura e pressão constantes. Também pode-se definir a energia livre de Helmholtz quando se trabalha a volume e temperaturas constantes, resultando também em trabalho máximo sob essas condições:

$$G = H - TS \quad \text{fazendo-se a diferencial total} \quad (34)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S - S\Delta T \quad \text{onde } \Delta H = \Delta Q \quad \text{e} \quad \Delta T = 0$$

$$\Delta G = \Delta Q - T\Delta S \quad \text{como } T\Delta S = \Delta Q_{rev}$$

$$\Delta G = \Delta Q - \Delta Q_{rev} \quad \text{isto dá lugar a duas possibilidades:}$$

$$1^{\text{a}}: \Delta Q = \Delta Q_{rev}$$

$$\Delta G = 0 \quad \text{ocorre em processos reversíveis a } P \text{ e } T \text{ constantes}$$

$$2^{\text{a}}: \Delta Q < \Delta Q_{rev}$$

$$\Delta G < 0 \quad \text{ocorre em processos irreversíveis a } P \text{ e } T \text{ constantes}$$

Em mudanças finitas, é possível avaliar a espontaneidade por:

$$\Delta G = 0 \quad \text{processo reversível} \quad (35)$$

$$\Delta G < 0 \quad \text{processo irreversível} \quad (36)$$

É possível também expressar matematicamente o trabalho máximo que só é obtido de um sistema se as condições de reação são a volume e à temperatura constantes. Nesse caso, a expressão é:

$$F = E - TS \quad (37)$$

Que é o potencial isocórico do sistema. Procedendo-se de forma similar ao anterior:

Quando: 1^a: $\Delta Q = \Delta Q_{rev}$

$$\Delta F = 0 \quad \text{ocorre em processos reversíveis a } V \text{ e } T \text{ constantes}$$

$$2^{\text{a}}: \Delta Q < \Delta Q_{rev}$$

$$\Delta F < 0 \quad \text{ocorre em processos irreversíveis a } V \text{ e } T \text{ constantes}$$

A equação de Gibbs para mudanças finitas fica:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (38)$$

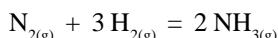
Mediante essa equação (denominada equação de Gibbs-Helmholtz), é possível explicar por que nem sempre uma reação exotérmica é espontânea e também porque uma reação endotérmica pode ser espontânea. As tendências que se combinam para a real espontaneidade são: a reação química, ao ocorrer espontaneamente, deve alcançar um estado de menor conteúdo energético e, por sua vez, atingir uma entropia maior. Como pode ser visto na eq.38, se a entropia cresce, seu sinal é positivo e então, no caso de processos exotérmicos, o sinal da entalpia é negativo. Com isso, duas magnitudes negativas se somam, o que aumenta a magnitude negativa de ΔG , confirmando-se o caráter espontâneo e irreversível do processo. Existem várias combinações matemáticas de magnitudes entre ΔH e $T\Delta S$ e em todos os casos, é necessário levar em consideração a influência da temperatura, uma vez que, a uma dada temperatura, um processo pode ser reversível e, em outra, irreversível.

Nas reações termoquímicas, se associam-se uma entalpia de formação dos compostos com seu estado padrão. De forma similar, é definida a energia livre de formação por G_f° , que pode ser calculada pela equação de Gibbs-Helmholtz

$$\Delta G_f^\circ = \Delta H_f^\circ - T\Delta S_f^\circ \quad (39)$$

Onde todas as funções de estado estão avaliadas à temperatura padrão. Estabelece-se, por definição, que a energia livre de formação molar padrão de todos os elementos é zero.

Um exemplo de aplicação para reações químicas pode ser o seguinte:



Que representa a obtenção de amônia utilizando-se, como substâncias de partida, o dinitrogênio e o dihidrogênio à temperatura padrão. Uma vez que não se tem nenhum outro dado de partida, remete-se à Tabela 3.2 para a utilização dos dados reportados para a entalpia e entropia dessas substâncias

$$\Delta H_f^\circ = 2 \Delta H_f^\circ (NH_{3(g)}) - [1 \Delta H_f^\circ (N_{2(g)}) + 3 \Delta H_f^\circ (H_{2(g)})]$$

Como calores de formação do dinitrogênio gasoso e do dihidrogênio gasoso = 0, tem-se:

$$\Delta H_f^\circ = 2 (-46,2) - [1(0) + 3(0)] \text{ kJ} = -92,4 \text{ kJ}$$

Quer dizer, o processo é exotérmico

No caso da entropia utilizam-se:

$$\Delta S_f^\circ = 2 \Delta S_f^\circ (NH_{3(g)}) - [1 \Delta S_f^\circ (N_{2(g)}) + 3 \Delta S_f^\circ (H_{2(g)})]$$

$$\Delta S_f^\circ = 2(0,1926) - [1(0,1916) + 3(0,1306)]$$

$$\Delta S_f^\circ = -0,1982 \text{ kJ K}^{-1}$$

Quer dizer, o processo com respeito à entropia não é espontâneo.

Calcula-se agora a condição geral do sistema com a energia livre de Gibbs:

$$\Delta G_f^\circ = \Delta H_f^\circ - T \Delta S_f^\circ$$

$$\Delta G_f^\circ = -92,4 \text{ kJ} - 298 (-0,1982)$$

$$\Delta G_f^\circ = -33,30 \text{ kJ}$$

Calculando a energia de formação molar padrão (uma vez que, com a reação mostrada, obtém-se dois moles)

$$\Delta G_f^\circ = -33,30 \text{ kJ} / 2 \text{ mol} = -16,65 \text{ kJ mol}^{-1}$$

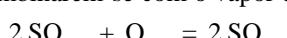
O que significa que o processo é espontâneo a partir da integração na energia livre, das influências da entalpia e da entropia.

Outro caso pode ser resolvido com os dados da Tabela 3.2 para a energia livre de formação molar padrão, quando é possível calcular a mudança da energia livre nas reações por meio de:

$$\Delta G^\circ = \sum n_p \Delta G_f^\circ (p) - \sum n_r \Delta G_f^\circ (r) \quad (40)$$

Um exemplo de aplicação pode ser o seguinte:

Determinar se a reação de oxidação do $SO_2(g)$ até $SO_3(g)$ na presença de oxigênio é espontânea no meio ambiente, possibilitando mais adiante a formação de H_2SO_4 e de chuva ácida, ao combinarem-se com o vapor de água das nuvens.



$$\Delta G^\circ = \sum 2 (\Delta G_f^\circ SO_{3(g)}) - \sum (2 \Delta G_f^\circ SO_{2(g)} + 1 \Delta G_f^\circ O_{2(g)})$$

$$\Delta G^\circ = 2 (-371,1) - [2 (-300,3) + 1(0)]$$

$$\Delta G^\circ = -141,6 \text{ kJ} \text{ calculado sobre dois moles}$$

$$\Delta G^\circ = -141,6 \text{ kJ} / 2 \text{ mol} = -70,8 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Como pode ser observado, o valor de ΔG° é negativo, que significa que o processo de formação de $SO_{3(g)}$ é espontâneo no meio ambiente.

A relação da energia livre com o equilíbrio químico pode estabelecer-se por meio de:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln Q \text{ como no equilíbrio } \Delta G = 0 \quad (41)$$

Onde Q é a relação da composição de produtos sobre reagentes em qualquer ponto. Q se converte em K quando o sistema está exatamente no estado de equilíbrio.

$$\Delta F^\circ = -RT \ln K_c \quad (42)$$

aqui K_c está em função das concentrações molares, onde F é a energia livre a V e T constantes.

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_p \quad (43)$$

estando K_p em função das pressões parciais;

E a relação entre K_p e K_c é:

$$K_c = K_p \left(\frac{RT}{101.3} \right)^{\Delta n} \quad (44)$$

onde Δn é:

$$\Delta n = \sum n_p - \sum n_r \quad \text{somatório dos moles de produtos e de reagentes}$$

E a equação de Van't Hoff que relaciona a energia evoluída na forma de calor com a condição de equilíbrio é:

$$\log \frac{K_{p2}}{K_{p1}} = -\frac{\Delta H}{2,3R} \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1} \right) \quad (45)$$

Aplicações ao sistema solo: o caso das substâncias húmicas

O solo, como todo sistema natural complexo, constitui, do ponto de vista energético, um sistema termodinâmico de grande complexidade. De acordo com as suas características, ele se comporta como um sistema aberto, se bem que é certo que, em alguns processos muito específicos (os quais têm lugar em determinado intervalo de tempo), podem ser tratados como sistema fechado. Por outro lado, a maioria das transformações no solo cumprem aparentemente as leis dos processos reversíveis como, por exemplo, a troca catiônica. Não obstante, tem sido mostrado que as espécies que trocam não são as mesmas no tempo e a capacidade dos trocadores também varia tanto em magnitude como em qualidade. Isso porque o sítio onde ocorre a troca nem sempre é o mesmo, uma vez que se transformam continuamente. Desse modo, a ideia é que observados macroscopicamente parecem processos reversíveis, mas na realidade não o são. Os elementos que compõem o solo avançam sempre numa direção que pode ou degradá-lo ou melhorá-lo. É por isso que o estudo dos solos, do ponto de vista termodinâmico, é difícil e alcança uma importância prática fundamental.

Apesar das interpretações realizadas a partir dos cálculos termodinâmicos dos sistemas de solos, estes não são nunca rigorosamente quantitativos. Não obstante, estes cálculos possuem grande valor para a avaliação de processos, como, por exemplo, o cálculo da probabilidade de ocorrência de uma transformação físico-química ou de uma determinada reação em condições particulares.

A termoquímica pode ser utilizada, sob este ponto de vista, para estudar as seguintes questões no solo:

1. Apreciar a força das ligações de íons com o complexo adsorvente do solo.
2. Determinar as constantes de troca e de dissociação, assim como a dependência destas com a temperatura.
3. Determinar a probabilidade de ocorrência de uma reação numa determinada condição.
4. Selecionar condições químicas para a ocorrência de uma transposição.
5. Determinar a possibilidade de migração de substâncias através de diferentes perfis de solo.
6. Determinar as condições necessárias para que ocorram transformações de fase no sistema solo.
7. Estudar a transformação de diferentes sistemas no tempo.
8. Estudar a transformação de diferentes sistemas no espaço.
9. Determinar os parâmetros termodinâmicos das transformações provocadas pela atividade antrópica sobre o solo.

10. Determinar a estabilidade dos processos de formação e a decomposição das substâncias orgânicas.

Para a solução dos problemas anteriormente expostos, é necessário calcular algumas funções termodinâmicas fundamentais. São oferecidos alguns exemplos de cálculos práticos.

Exemplo 1. Determina-se o calor de combustão de um composto analisado, a partir do calor de combustão das substâncias iniciais e finais.

$$\Delta H_T = \Delta H_2 - \Delta H_1$$

A energia reticular pode ser calculada pela equação:

$$\Delta H_U = \Delta H_{MX}^o + \Delta H_M^o + \Delta H_X^o \quad (46)$$

Onde:

ΔH_{MX}^o = calor de formação do sal

ΔH_M^o = calor de formação do cátion

ΔH_X^o = calor de formação do ânion

O valor de ΔH_{MX}^o pode ser calculado a partir do calor de combustão ou pela somatória dos calores de sublimação e ionização do cátion. Entretanto, os valores dos calores de dissociação e eletroafinidade do ânion, os quais estão reportados, permitem obter-se também os calores individuais de ΔH_M^o e de ΔH_X^o . Estes dados permitem calcular vários parâmetros termoquímicos, a partir dos dados da análise elementar e dos grupos funcionais da substância.

Exemplo 2. Determinando-se a constante de equilíbrio a duas temperaturas, pode se calcular a variação de energia livre (ΔG) do sistema, por meio de:

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (3)$$

A variação da entalpia pode ser calculada pela expressão:

$$\ln KT_2 = \ln KT_1 + \frac{1}{R} \int_{T_1}^{T_2} \frac{\Delta H}{T} dT \quad (4)$$

Conhecendo-se a variação de energia livre (ΔG) e da entalpia (ΔH), pode-se calcular a variação de entropia do sistema através da equação:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (5)$$

Exemplo 3. Cálculo do calor de dissolução de um composto em água. É possível calcular a energia reticular pela equação:

$$\Delta H_U = L_K + L_A - L \quad (6)$$

Onde:

L_K = calor de dissolução do cátion

L_A = calor de dissolução do ânion

L = calor de dissolução da dissolução

Exemplo 4. É determinado experimentalmente o calor de dissolução de um determinado composto num solvente conhecido e numa determinada temperatura. A partir desse valor, pode-se obter ΔS e calcular ΔG ou, o inverso.

Exemplo 5. Com a ajuda da espectroscopia na região do infravermelho, determina-se a freqüência

de vibração de uma determinada ligação (P_i). A sua temperatura característica pode ser calculada pela equação:

$$T_i = 1,4384 n P_i \quad (7)$$

A magnitude $\Delta H = H - H^\circ$ se calcula por

$$H - H^\circ = \Delta H = M/2 RT + RT \quad (8)$$

Onde

$M = 7$ e $i = 3n-5$ (para moléculas diatômicas)

$M = 8$ e $i = 3n-6$ (para moléculas poliatômicas)

No estudo de algumas propriedades dos solos, além desses cálculos, fazem-se uso freqüente de outros cálculos termodinâmicos. Alguns que apresentam interesse do ponto de vista prático são:

1. Cálculo de energia reticular dos sesquióxidos totais. O cálculo é realizado a partir dos dados de conteúdos totais do solo e das entalpias dos sesquióxidos puros.
2. Cálculo de transformação térmica a partir de medição das áreas dos picos que se obtém dos termogramas.
3. Cálculo da cinética de desidratação e da energia de ativação dos dados da análise térmico diferencial.
4. Nas reações redox nas quais se pode determinar o potencial, aplica-se:

$$\Delta G = - E \cdot n \cdot 9654,6 \text{ kJ} \quad (9)$$

Onde:

E = potencial redox en Volts

n = No. de elétrons que intervém na reação

Quando são aplicados os cálculos termodinâmicos, tais como os mostrados acima, é necessário ter em conta uma série de relações entre os diferentes parâmetros termodinâmicos que são de importância fundamental para uma elaboração e interpretação correta dos resultados:

- a) Em todo processo termodinâmico, a condição que regula o estabelecimento de um equilíbrio químico é a obtenção do mínimo na variação de energia livre (ΔG). A energia livre está relacionada, por sua vez, com a constante de troca, de dissociação etc., pela equação:

$$\Delta G = - RT \ln K \quad (10)$$

Supondo que a Temperatura (T) seja igual a 25°C e fazendo-se a conversão a log natural, expressando-se em kJ g^{-1} , a equação fica:

$$\Delta G = - 5,710 \log K \quad (11)$$

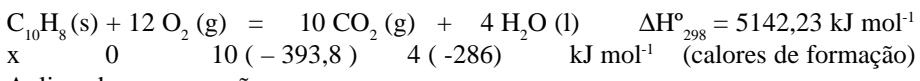
Que pela determinação prática de K , permite apreciar o nível de probabilidade para que uma reação aconteça e, além disso, o momento em que o sistema alcança o equilíbrio.

b) A energia livre de Gibbs está relacionada com outros parâmetros termodinâmicos pela equação:

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \quad (12)$$

Assim, como se tem duas das funções de estado, é possível calcular a que falta, uma vez que ΔH é o calor de formação. Isto é possível de ser calculado se há um caso como: Deseja-se conhecer o calor de formação da substância orgânica naftaleno $C_{10}H_{8(s)}$ a partir do grafite e do hidrogênio gasoso à pressão de 1013 hPa, a uma temperatura de 25° C (298°K).

Neste caso, obtém-se como dado, a reação de combustão completa de um mol do naftaleno produzindo dióxido de carbono e água líquida segundo:



Aplicando-se a equação:

$$\Delta H_{\text{reação}} = \Delta H_{\text{combustão}} = \Sigma \Delta H_{\text{produtos}} - \Sigma \Delta H_{\text{reagentes}} \quad (13)$$

Onde a incógnita x é o calor de formação do naftaleno

$$5142,23 = [-10(393,8) - 4(286)] - [x + 0]$$

Obtendo-se x = 60,29 kJ/mol como calor de formação do naftaleno.



Em todos os casos em que se estuda um processo natural, é necessário que ΔG obtido seja negativo na reação, uma vez que essa é a condição de espontaneidade que ocorre na natureza. Para que isso seja possível, é usual que esta condição com a magnitude negativa, um valor negativo elevado de ΔH , quer dizer, uma reação muito exotérmica e um valor de ΔS muito positivo. Neste processo, a entropia cresce e o aumento da temperatura contribui como um todo,

Para fins práticos, calcula-se ΔH pela expressão:

$$\log \frac{K_2}{K_1} = \frac{\Delta H^\circ}{19,1588} \left(\frac{T_2 - T_1}{T_1 T_2} \right) \quad (\text{o calor de reação está expresso em J.mol}^{-1}) \quad (14)$$

Quer dizer, pode-se determinar o calor de reação se são conhecidos numa reação, dois valores da constante de equilíbrio a duas temperaturas.

c) Determinação da força de ligação dos íons com o complexo adsorbente do solo.

A força com que íons podem ficar retidos no complexo adsorvente do solo é dada pela magnitude da variação da energia livre, o que, por sua vez, está relacionado com as trocas de entalpia e de entropia. Como se ve, a variação de energia ΔG pode ser calculada a partir da determinação da constante de troca.

$$\Delta G = -RT \log K = 5,710 \log K \quad (\text{kJ g}^{-1})$$

A força da ligação, por sua vez, é proporcional ao calor de reação ΔH . A partir dos valores da entalpia e de K, pode ser calculado, então, o valor de ΔS no transcurso de uma reação. O valor de K é calculado experimentalmente. ΔH se calcula pela eq. (14), medindo-se K em duas temperaturas e, pela aplicação da Eq. 5, calcula-se a variação da entropia do sistema. Por outro lado, a energia de excitação de uma ligação pode ser calculada a partir de dados da espectroscopia de infravermelho, termografia ou de raios-X. Assim, a dependência da energia com a frequência característica da absorção é dada por:

$$E = (n \cdot 2,85 \cdot 912 \cdot 10^{-3}) 4,184 \text{ kJ.mol}^{-1} \quad (\text{n em cm}^{-1}) \quad (\text{infravermelho}) \quad (15)$$

$$E = (28551,2/n) 4,184 \text{ kJ.mol}^{-1} \quad (\text{n em nm}) \quad (\text{U.V. e visível}) \quad (16)$$

O tratamento realizado sobre os aspectos termodinâmicos das reações e interações químicas tem por objeto a particularização dos processos que ocorrem no solo e mais especificamente a matéria orgânica e o húmus dos solos.

A formação e acumulação da matéria orgânica no solo ocorre num sistema aberto que pode trocar constantemente massa e energia. É um sistema complexo, heterogêneo e não-uniforme, que sofre processos irreversíveis ou de equilíbrios aparentes, uma vez que é composto por uma diversidade de substâncias e corpos, tais como: rochas originárias, argilas, silte, areia, água, dissolução de diversas substâncias, gases, microrganismos, fluxos de energia a partir de diferentes fontes e substâncias orgânicas formadas *in situ* ou ingressadas a partir do exterior. Ao mesmo tempo, todos estes componentes interatuam entre si como um grande sistema ou, ao separar-se arbitrariamente em subsistemas componentes, são influenciados na sua existência e desenvolvimento no tempo pelo ecossistema no qual se encontram e, ainda mais, pela ação do homem. Esta situação torna particularmente complexo qualquer estudo e dificulta grandemente a obtenção de informação totalmente precisa e reproduzível, tal como ocorre ao se estudarem sistemas num laboratório ou numa indústria.

Os subsistemas desse mundo vivo, em permanente transformação, possuem características muito específicas. Eis como exemplo a matéria orgânica: ela se forma a partir dos vegetais superiores e inferiores, quer dizer, desde plantas até algas, a partir das folhas, flores, frutos, talos e raízes. Os animais que vivem sobre este sistema aportam e incorporam os corpos ao cumprirem o ciclo da vida, junto com as excreções e, no caso dos homens, uma diversidade de produtos que cada dia é produzida e que logo é colocado no meio como dejetos ou aplica-se como tratamento. Além disso, os microrganismos na sua diversidade de bactérias, fungos, actinomicetos etc. atuam constantemente na degradação e transformação de toda a matéria orgânica viva que entra no sistema convertendo-a em seus corpos, em suas excreções e em seus produtos de biossíntese. Por último, o meio inorgânico existente, a partir das rochas e da água circulante, põe à disposição desses processos as superfícies de interação que catalisam as reações, os metais que podem formar ligações de estabilização e proteção, os potenciais de concentração, eletroquímicos e físicos que interatuam no meio aquoso para dar como resultado o maravilhoso e surpreendente sistema de vida que forma o solo.

Esta situação obriga a tratar o problema de suas formas: macroscopicamente, observando-se as tendências do movimento material dos componentes e seu efeito sobre os sistemas biológicos (e.g., plantas), tratando de representar as leis do movimento por uma explicação aproximada de como deve se comportar e, a partir daí, descrever os procedimentos para o seu manejo. Na outra forma, abordando-se cada um de seus subsistemas com procedimento de estudo macroscópico-microscópico, regulando parte das variáveis que os afetam e levando-os a condições-padrão que permitam conhecer com maior precisão a sua composição, estrutura, propriedades e funções, enfim, reconstruir o processo inverso das interações e influências com o meio que o precede. Dessa forma, o conhecimento desses sistemas alcança um nível mais avançado.

No caso da matéria orgânica e do húmus, é freqüente ocorrerem definições, tais como, são fontes de energia fundamental do solo que asseguram os processos biológicos, por onde meio dos quais se realiza uma parte importante dos processos de interações físico-químicas que ocorre ali. Este enfoque reproduz a interpretação de que o que se observa dificilmente se pode descrever como acontece. E mais, sob que leis? Para interpretar (conhecer), tal evento é necessário aproximar-se da essência do sistema e dos fenômenos inerentes. Só assim pode-se influir sobre um subsistema do solo de forma favorável. Esta tarefa será abordada preliminarmente nesse capítulo.

Algumas aplicações de cálculos de entalpia nas substâncias húmicas

É possível utilizar os calores de combustão ou entalpias de reações de diversos sistemas, muito embora os resultados obtidos por essa via apresentem um erro relativamente grande (aprox. 5-10 kJ.mol⁻¹). Devido às imprecisões que se cometem na determinação dos calores de combustão, é preferível o uso de calor de formação para o cálculo do calor de reação. Os laboratórios de físico-química dispõem de bombas calorimétricas para determinar o calor de combustão ou de reação. Se as amostras são puras e de composição conhecida, é possível realizar essas determinações. Uma parte dos dados tabulados que são mostrados mais adiante foram obtidos assim.

É possível, ainda, calcular de forma aproximada os calores de formação a partir dos dados de uma estrutura da molécula, determinando-se todos os tipos de ligações. O erro que se comete pode chegar até 4-9 kJ. Entretanto, quando existe impossibilidade de usar um método adequado de isolamento, purificação e determinação, pode-se recorrer a tais cálculos. Para tornar possível a realização desses cálculos, é necessário ter à disposição dados como os da Tabela 4.4. e também as energias necessárias para separar as espécies atômicas do estado em que se encontram as substâncias de origem. Nas Figuras 4.4 e 4.5, o cálculo realizado para uma parte da macromolécula apresentada.

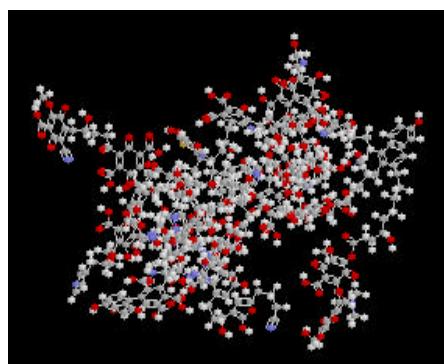


Figura. 4.4. Representação de uma molécula de substância húmica com sua distribuição espacial.

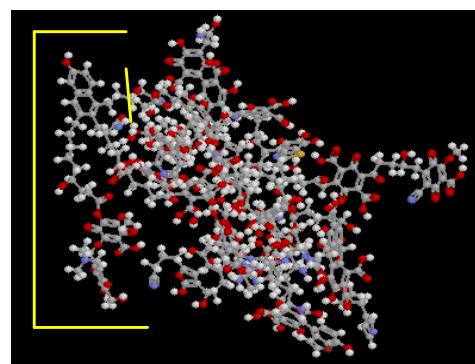


Figura. 4.5 Representação da mesma molécula húmica ampliada e com giro vertical de 180º

As Figuras 4.4 e 4.5 aparecem como modelos de macromoléculas desenvolvidos por Schulten H.-R. & M. Schnitzer (1997). Esses modelos dão possibilidade de aplicar os cálculos aproximados dos calores de formação. Numa pequena parte do modelo macromolecular. Na Figura 4.4, a molécula é representada girando-se até à direita de forma que se veja uma parte em que, por meio de uma cadeia alifática, estão ligadas algumas estruturas aromáticas e a elas alguns grupos funcionais típicos.

Na Figura 4.5, é apresentada a mesma molécula só que agora com giro para a esquerda de forma que são mais visíveis outras particularidades dessa estrutura. Com linhas amarelas foram assinaladas onde vai ser realizado um corte ideal, com o objetivo de obter-se um limite da estrutura que vai ser considerada para o cálculo do calor de formação, com o uso da Tabela 4.3.

Essa estrutura separada do esquema geral é:

1- Energia gasta para dispor dos átomos necessários:

$$C = 40 \times 523 \text{ kJ mol}^{-1} = 20920 \text{ kJ}$$

$$H = 20 \times 431,79 \text{ kJ mol}^{-1} = 8635,8 \text{ kJ}$$

$$N = 0,5 \times 711,28 \text{ kJ mol}^{-1} = 355,64 \text{ kJ}$$

$$O = 9,5 \times 493,71 \text{ kJ mol}^{-1} = 4690,25 \text{ kJ}$$

$$\text{Total} = 34601,21 \text{ kJ}$$

2- Energia cedida na estruturação das ligações da molécula

$$O-H = 7 \times 275,73 \text{ kJ mol}^{-1} = 1930,11$$

$$C-N = 3 \times 275,73 \text{ kJ mol}^{-1} = 827,19$$

$$C-H = 30 \times 412,96 \text{ kJ mol}^{-1} = 12388,8$$

$$C-H \text{ benzeno} = 3 \times 421,33 \text{ kJ mol}^{-1} = 1263,99$$

$$C-C = 15 \times 350,62 \text{ kJ mol}^{-1} = 5259,3$$

$$C-C \text{ arom.} = 23 \times 587,85 \text{ kJ mol}^{-1} = 13520,55$$

$$C-O \text{ álcool} = 7 \times 705,84 \text{ kJ mol}^{-1} = 4940,88$$

$$C=O = 9 \times 799,14 \text{ kJ mol}^{-1} = 7192,26$$

$$COOH \text{ ressonância} = 4 \times 117,15 \text{ kJ mol}^{-1} = 468,6$$

$$\text{Éter} = 2 \times 705,84 \text{ kJ mol}^{-1} = 1411,68$$

$$\text{Éster} = 1 \times 100,42 \text{ kJ mol}^{-1} = 100,42$$

$$\text{Aromaticidade Benzeno} = 2 \times 159,99 \text{ kJ mol}^{-1} = 319,98$$

$$\text{Aromaticidade Naftaleno} = 1 \times 313,80 \text{ kJ mol}^{-1} = 313,80$$

$$\text{ToTal} = -49937,56 \text{ kJ mol}^{-1}$$

O balanço total oferece = Energia gasta – Energia de formação = 34601,21 - 49937,56

$$= -15336,35 \text{ kJ mol}^{-1}$$

A energia calculada corresponde a uma fração da macromolécula cuja massa molar é de 838 Dalton e fórmula $C_{40}H_{40}N_1O_{19}$, o que significa que em termos médios -18.30 kJ g^{-1} . A macromolécula das Figuras 4.4 e 4.5 tem uma massa molar de 7753 Dalton e fórmula $C_{349}H_{401}N_{26}O_{173}S$, que está na faixa de ácidos fúlvicos ou de ácidos húmicos de formação recente. Se forem utilizadas as massa molar e a energia média evoluída na forma de calor de formação, chega-se ao fato de que essa macromolécula pode realizar um aporte como calor de formação de $-18.30 \text{ kJ g}^{-1} \times 7753 \text{ g mol}^{-1} = -141879,9 \text{ kJ mol}^{-1}$

Então, supondo que se cumpra a equação de Aliev's calcula-se o calor de combustão da mesma fração molecular, o que resultou em $-23321,62 \text{ kJ g}^{-1}$ então a 25°C . Como o processo é inverso, quer dizer, de estruturação da molécula:

$$\Delta S = Q_p / T = 23321,62 \text{ J g}^{-1} / 298^\circ \text{ K} = 78,26 \text{ J g}^{-1} \text{ K}^{-1}$$

Como um mol desta substância tem uma massa de 838 Dalton

$$\Delta S = 78,26 \text{ J.g}^{-1} \text{ K}^{-1} \times 838 \text{ g.mol}^{-1} = 65581,88 \text{ J.mol}^{-1} \text{ K}^{-1} = 65,58 \text{ kJ. mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$$

Pode-se agora calcular a energia livre dessa substância:

$$\begin{aligned} \Delta G &= \Delta H - T\Delta S \\ \Delta G &= -15336,35 \text{ kJ.mol}^{-1} - (298 \text{ K} \times 65,58 \text{ kJ. mol}^{-1} \text{ K}^{-1}) \\ \Delta G &= -34879,19 \text{ kJ. mol}^{-1} \end{aligned}$$

Assim, o processo de formação dessa fração da molécula é espontâneo, isto é, é termodinamicamente espontâneo. Nesse estado, é que intervêm os microrganismos, acoplando sua atividade de biossíntese com o consumo de parte das substâncias orgânicas, aportando parte da energia liberada para facilitar a formação das substâncias húmicas. Por isso se diz que na natureza o processo é espontâneo.

Se, como consequência da estruturação espacial dessa fração, é cedida uma quantidade importante de energia ao meio na forma de calor, a estrutura alcançada é estabilizada ante ao ataque de agentes exteriores. Decompô-la implica colocar energias equivalentes ainda que mediante sistemas enzimáticos que, devido à sua especificidade e dependência de um sistema vivo, não podem atuar com a eficiência normal na decomposição ou transformação dessas substâncias, cuja origem está nas mais variadas espécies vegetais, animais e microrganismos. Se a macromolécula alcança uma configuração espacial ainda mais compacta, a estabilidade aumenta devido à sua menor distribuição espacial que pode permanecer unida aos metais ou à fase sólida do solo, por distintos tipos de ligações. Então, a estabilidade aumenta ainda mais e o processo de mineralização é dilatado para centenas ou milhares de anos. Este processo descrito, que se aproxima do que ocorre no solo, deve dar lugar a uma estabilização por cessão de energia que ainda não se tem condições de calcular completamente, devido à quantidade de parâmetros para serem levados em consideração. No entanto, o somatório total deverá oferecer um balanço de energia livre negativa e de uma magnitude elevada.

Existem outros procedimentos para cálculos de parâmetros termodinâmicos de substâncias húmicas. Um dos mais utilizados é a partir do conhecimento da composição elementar de uma amostra de substância orgânica ou húmus do solo. Um cálculo aproximado dos calores de combustão pelo método de Aliev's (1970), a partir da composição elementar das substâncias húmicas, é obtido da seguinte maneira:

$$Q = \{ 90 [\text{C}] + 34,4 [\text{H}] - 50 (0,84 [\text{O}] - 4 [\text{N}]) \} 4,184 \text{ J g}^{-1}$$

Aplicando-se esta equação aos dados da composição elementar de ácidos fúlvicos e húmicos, foi possível obter dados tais como os apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4: Calores de combustão de diferentes substâncias do solo (J.g⁻¹) de acordo com Orlov (1985)

Solos	Grupo de substâncias húmicas			
	Lipídeos	Ácidos húmicos	Ácidos fúlvicos	Resíduo não-hidrolizável
Campos de montanha Escuro de montanha Marrom Castanho Solos de zonas áridas Pradarias de hortos Pradarias	média para todos os solos 35480	19497 18869 18284 21338 22133 20208 18171	Para todos os solos de 6360 a 11670 com média de 9200	18870 17573 17071 18242 18912 16945 11623

Fonte: *Orlov, 1995.*

Dada a estabilidade molecular para o húmus dos solos, é reportado um valor médio de 10.000-20.000 J g⁻¹ para a combustão completa no conteúdo de solo até uma profundidade de 0,20 m. Esta energia corresponde ao calor de reação à temperatura ambiente e à pressão constante, que seria liberada se a mineralização das substâncias húmica ocorresse passo a passo até chegar a CO₂.

A energia liberada ao meio ou cedida aos microrganismos, durante o processo de mineralização, é um elemento importante para a geração de energia *in situ* dentro do solo, o que vai contribuir com o desenvolvimento de todos os processos físicos, químicos e biológicos. No caso de substâncias húmicas obtidas por vermicompostagem, a contribuição energética ao meio vai ser cerca de 70 a 80% inferior devido à falta de tempo para atingir a estabilidade química-física.

Tabela 4.5: Calores médios de combustão de substâncias húmicas isoladas dos principais solos da Rússia (J g⁻¹)

Solos*	Ácidos húmicos	Ácidos himatomelânicos	Ácidos fúlvicos
Pradarias	18033	-	-
Rendzina negra	18054	-	-
Sod-podzólico	17606	21640	12401
Pardo florestal	18874	-	10966
Gris florestal	18113	21271	11899
Solos negros	19179	21368	11167
Brunos	19723	21368	11167
Solos de zonas áridas	19748	-	10606
Solos Vermelhos	18033	-	12255
Pradarias de montanhas	18171	-	11623

Fonte: *Orlov, 1995. *optou-se por manter o nome do solo no original*

Após obter-se a composição elementar das substâncias húmicas dos principais solos cubamos, foi calculado o calor de combustão, obtendo-se:

Tabela 4.6. Calores de combustão de substâncias húmicas de solos cubanos (J g⁻¹)

Solos	Ácidos húmicos	Ácidos fúlvicos
Oxisol	19346,69	-
Cambisol (Ca)	19498,52	12122,41
Cambisol (H)	17964,27	15050,80
Mollisol	18988,38	13694,59
Vertisol	15449,58	12999,96
Rendzina vermelha	18643,99	-

Fonte: *Garcés & Savich (1975), Garcés (1987).*

Tabela 4.7. Valores de calores de combustão calculados a partir da análise da composição elementar de ácidos húmicos e fúlvicos presentes num extrato de substâncias húmicas obtido de vermicomposto de esterco bovino

Amostra	% em massa				Calor de Combustão (Q) (J/g)
	C	H	O	N	
AHM	46,6	4,7	42,4	3,9	-3289,6
AHB	43,9	4,7	44,2	2,7	-2728,8
AFM1	37,2	4,5	48,7	6,5	-2683,0
AFB1	35,3	4,8	51,2	5,2	-2513,9
AFM2	41,5	5,3	45,4	5,5	-3040,8
AFB2	40,3	5,4	47,5	4,3	-2605,0

Fonte: Caro (2004).

Dessa forma, conhecendo-se que as variações na entropia são positivas ao se tornar mais organizado e complexo o sistema, é evidente que a variação de energia livre determinará um processo espontâneo de decomposição escalonado por cada fração, logo ao passar de um estado de semi-equilíbrio como se discutirá mais adiante.

Cálculos a partir de calores de combustão

O efeito térmico de uma reação é igual a soma dos calores de combustão dos reagentes, tal como está descrito na eq. 19.

Os calores de combustão das substâncias húmicas podem ser determinados para cada espécie química ou para o conjunto da macromolécula por meio de uma bomba calorimétrica e de um processo de oxidação das substâncias húmicas.

De acordo com Tiurim (1936) (procedimento I), para a oxidação do húmus por um mol de oxigênio atômico (8 g), são necessários 217-226 J, isso é equivalente à oxidação de uma substância húmica com ácido crômico, 1 cm³ de solução 0,1 mol L⁻¹ de dicromato de potássio evolui de 21,7 a 22,6 J. Assim, a reserva de energia no húmus contido num hectare pode ser obtida por:

$$E = (a-b) \times 11,1922 \times n \times 2$$

Onde

a-b = quantidade de dicromato utilizado na oxidação do húmus (a amostra, b branco)

n= coeficiente para converter a massa da amostra de solo em grama

11,1922 = fator de cálculo em g.kJ⁻¹ que corresponde a 1 cm³ de solução de dicromato 0,1 mol^{*} L⁻¹

o termo mol^{*} L⁻¹ é a representação da concentração molar em equivalentes ou N.

Uma vez determinados e calculados os calores de combustão das substâncias húmicas, tais como existem numa porção de solo, é possível relacionar outras porções do mesmo solo com metais, por exemplo, lavando o solo com soluções preparadas para que exerçam efeito de troca catiônica.

Posteriormente, é possível realizar a oxidação da matéria orgânica, calcular os calores de combustão e avaliar o calor de interação entre essas substâncias e os metais.

Existem algumas equações empíricas para o cálculo do calor de combustão, tais como, a fórmula de A.V. Frost citado por Orlov (1995) (procedimento 2)

$$\Delta H_{\text{comb}} = 104,2 nC + 26,05 nH + 13,0 n< + 46,1 n= + 6,5 n=y - 3,5 nAl-Ar - 6,5 nAr-Ar$$

Onde:

nC = número de átomos de carbono

nH = número de átomos de hidrogênio

$n<$ = número de duplas ligações nas olefinas ou em união de cadeias laterais com anéis

$n=$ = número de ligações triplas

$n=y$ = número de ligações duplas em anéis aromáticos

$nAl-Ar$ = número de ligações entre grupos alquílicos e grupos aromáticos

$nAr-Ar$ = número de ligações entre grupos aromáticos

No caso dos solos, nem sempre se dispõe de toda a informação necessária para realizar este cálculo mas, de modo geral, é possível obter essas informações sobre as substâncias orgânicas ou húmicas do solo.

-D.P. Konovalov citado por Orlov (1995) (procedimento 3), propôs a seguinte equação para o cálculo do calor de combustão

$$\Delta H_{\text{comb}} = 48,8 m + 10,5 n + x$$

Onde

m = número de átomos de oxigênio necessários para a combustão total de toda a substância

n = número de moles de água formada

x = constante de correção para a série homóloga dada

Os números que aparecem na Tabela 4.8. foram obtidos tendo como base a combustão de carbono das substâncias orgânicas estudadas (procedimento 1). É possível calcular aproximadamente o calor de combustão das substâncias orgânicas a partir das equações empíricas citadas antes. Por exemplo, com a fórmula de Frost, há o problema de não se conhecer *a priori* a estrutura e a composição da macromolécula, exceto se já existirem dados como os obtidos no modelo molecular de Schulten & Schnitzer (1997), ou ainda, haver determinado a composição elementar para que o cálculo seja mais próximo da realidade. Desta forma, é possível reduzir paulatinamente os parâmetros dessa equação em função da informação que é possível dispor. Se só se dispõe do conhecimento da quantidade de C e de H, a equação pode ser reduzida a:

$$\Delta H = (104,2 C + 26,05 H + 13 n=) 4,184 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Para uma composição elementar de $C_{40}H_{40}$, obtém-se:

$$\Delta H = -21798,64 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Se no entanto, os dados forem considerados de acordo com Schnitzer & Khan (1972), aproximadamente 2/3 dos átomos de hidrogênio nos ácidos húmicos são aromáticos:

$2/3 \times 40 H = 27 H$ supondo que os anéis do tipo benzeno tem pelo menos duas posições ocupadas por ligações com átomos diferentes dos H, então:

$27 H / 4 = 6,75$ anéis aromáticos, similares ao benzeno, tem cada um três ligações duplas, então:

6,75 anéis x 3 ligações duplas em cada anel = 20,25 ligações duplas
 $20,25 * 13,0 = 263,25$ contribuição energética dessas ligações, o cálculo total será
 $13,0 n = [(2/3 x 40 H) / 4] x 3 x 13,0 x 4,184 = 1101,44 \text{ kJ mol}^{-1}$

Realizando agora o somatório total da energia cedida na forma de calor de combustão

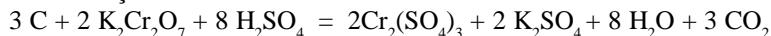
$$\Delta H = -21798,64 - 1101,44 = -22900,08 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Ao comparar este dado com o obtido pelo cálculo feito anteriormente, conhecendo-se toda a estrutura e o gasto para dispor dos elementos químicos necessários, a partir de seu estado natural, observa-se que, embora o calor de formação obtido tenha sido de $-15336,35 \text{ kJ mol}^{-1}$, o calor de combustão o supera em mais de 6000 kJ mol^{-1} .

Utilizando-se agora a equação de Konovalov, citado por Orlov (1995), conhece-se o número de moles de átomos de oxigênio necessários para a combustão total da substâncias (m) e de moles de água formados (n) uma vez que:

$$\Delta H = (48,8 m + 10,5 n + x) 4,184 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Para a reação



São consumidos seis moles de oxigênio atômico e produzidos oito moles de água ao queimar três moles de carbono.

Numa reação similar de combustão de $\text{C}_{40}\text{H}_{40}$ serão produzidos 80 moles de oxigênio atômico e 106,66 moles de água e a equação de Konovalov oferece, sem considerar o termo x

$$\Delta H = (48,8 * 80 + 10,5 * 106,66) 4,184 = 21020,12 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Valor de energia próximo do obtido anteriormente pelo outro método e que cai na faixa dos calores de combustão reportados por Orlov e neste trabalho nas Tabelas 4.6, 4.7 e 4.8.

Tabela 4.8: Calores de combustão da matéria orgânica de solos de Cuba

Parâmetro	Procedimento	Magnitude do parâmetro para os solos			
		Oxisol	Cambisol	Mollisol	Redzina vermelha
Calor de combustão dos AHs a partir de sua acidez, kJ g^{-1} de ácido	I	13,56	13,43	12,97	13,22
calor de combustão da matéria orgânica dos solos, kJ 100g^{-1}	I	66,94	47,70	53,56	132,63
Calor de combustão do resíduo não hidrolizável, KJ 100g^{-1} solo	I	31,80	23,85	26,78	69,87
Calor de combustão da matéria orgânica deslocada, KJ 100g^{-1} solo	I	25,52	18,40	14,64	38,91
Calor de reação pela retirada de M.O. por $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ em kJ 100g^{-1} solo	I	9,62	5,44	12,13	23,85

Fonte: Garcés & Savich (1975)

Cálculos alternativos de calores de formação

O efeito térmico de uma reação pode ser calculado pela eq.19 e, com ela, pode-se observar que a reação será exotérmica (-), se a soma das entalpias dos reagentes é maior que a dos produtos, e será endotérmica (+), se a soma dos reagentes é menor do que a dos produtos.

O calor de formação de uma substância gasosa pode ser calculado pela equação abaixo (procedimento 4):

$$\Delta H = \sum (n_i e_i)_{inicial} + S_i (Q_{sub})_i - \sum (n_i e_i)_{produtos}$$

Onde

n_i = número de ligações da substância estudada

e_i = energia de ruptura da ligação

S_i = número de moles de cada elemento sólido

Q_{sub} = calores de sublimação dos elementos sólidos por mol

Os calores de formação do composto orgânico (no estado gasoso ideal), segundo o método proposto por Anderson, Bayer & Watson, citado, por Orlov (1969), são calculados somando-se as correções para os grupos e ligações específicas, levando-se em conta os calores de formação dos principais grupos

O calor de formação é calculado pela seguinte equação (procedimento 5)

$$\Delta H_f = -\sum d_i e_i + \sum \Delta H_A$$

Onde

ΔH_f = é o calor- padrão de formação da substância no estado gasoso, baseando-se na aditividade da ligação

$\sum \Delta H_A$ = soma dos calores de formação dos átomos gasosos que são gerados da decomposição total da substância.

d_i = número de ligações i

e_i = energia da ligação do tipo i

Nos hidrocarbonetos o calor de formação pode ser calculado a partir da fórmula (procedimento 6)

$$EC_H H_m = nQ_{CO_2} + \frac{m}{2} Q_{H_2O} - Q_C + nQ_A + \frac{m}{2} Q_D$$

Onde

Q_{CO_2} = calor de formação do CO_2

Q_{H_2O} = calor de formação da água

Q_A = calor de atomização do carbono

Q_C = calor de combustão da substância

Q_D = calor de dissociação da molécula de hidrogênio

n e m = coeficientes estequiométricos ou moles que intervêm na reação.

Para calcular a entalpia de formação de álcoois que tem mais de três átomos de carbono, pode ser

utilizada a fórmula (procedimento 7)

$$\Delta H_{298} = (8,28 + 1,0n)4,184 \frac{kJ}{mol}$$

Onde

n = número de átomos de carbono na molécula de álcool

A entalpia de formação de um álcool tem um valor mais negativo que a entalpia de formação de um hidrocarboneto equivalente em $131,34 \text{ kJ mol}^{-1}$

De acordo com Karma & Sher, citados por Orlov (1969), a entalpia de combustão pode ser determinada pela fórmula (procedimento 8):

$$\Delta H_c = 26,05n + W_1$$

Onde

ΔH_c = entalpia de combustão a determinar

n = número de elétrons que participam no processo de substituição

W = constante empírica que leva em consideração o desvio da distribuição eletrônica no modelo inicial (nos compostos aromáticos simples e hidrocarbonetos saturados W=0)

De acordo com esta proposta, é necessário determinar, por via calorimétrica, o calor de combustão e, em seguida, avaliar W. A partir daí, para substâncias húmicas similares a determinação de ΔH_c é simplificada.

É possível calcular ΔH a partir do calor de combustão (procedimento 9):

$$\Delta H = \Delta E + \Delta n RT$$

Onde

Δn = variação do número de moles das substâncias gasosas na reação

ΔE = variação da energia interna no processo da reação

Para calcular os calores de formação de hidrocarbonetos a partir dos incrementos segundo Rossini, Prozen & D'Jonson, citados por Orlov (1969), aplica-se a fórmula (procedimento 10):

$$\Delta H_{f298} [g_1g - (CH_2)_m - H] = (A + B_m + d)4,184 \frac{kJ}{mol}$$

Onde

$(CH_2)_m - H$ = significa um radical alquil normal, metil, etil, etc. unido ao grupo final (metil, vinil).

A = constante característica para um grupo final qualquer

B = incremento para o grupo CH_2 que representa em si uma magnitude constante para todas as séries alquil, não depende-se de g

d = magnitude final não muito grande para os membros inferiores da série; tem o valor máximo a m=0 e a m>4, é igual a zero.

Cálculo a partir das constantes de troca

O método de determinação de entalpias, a partir das constantes de troca, é baseado na suposição

da independência da entalpia, com respeito a temperatura numa faixa determinada. Praticamente, a determinação compreende as seguintes operações (procedimento 11):

- 1- Determinar a constante de equilíbrio em diferentes temperaturas
- 2- Traçar o gráfico da dependência da constante de equilíbrio com respeito à temperatura nas coordenadas $\log K_p$ vs $1/T$, onde a temperatura se expressa em graus Kelvin.

Neste gráfico, e obtém-se uma linha reta cuja pendente ~e: $-\frac{\Delta H_p}{4,5758}$

Também se pode realizar o cálculo pela eq.44 (procedimento 12):

A partir desse ponto estabelece-se a relação entre a tendência geral dos sistemas naturais de realizar processos irreversíveis e o aumento da entropia com a existência das substâncias húmicas no solo.

O elemento mais importante, constante e sustentado pela observação de gerações humanas, é que o processo de formação das substâncias húmicas, a partir das substâncias orgânicas que entram no solo ou que se formam dentro do solo, ocorre continuamente, quer dizer, é um processo espontâneo. Esse processo, ao ser enfocado a distância, pode ser qualificado como reversível, uma vez que as substâncias húmicas formadas se degradam (mineralização secundária). Depois de um tempo, o processo é recomeçado da biossíntese de novas substâncias orgânicas, as quais, ao cumprirem um ciclo de permanência nos sistemas biológicos, são excretadas e depositadas no solo, formando substâncias húmicas novamente.

É de se supor que, em períodos grandes de tempo, durante os quais existiu a estabilidade da crosta terrestre e do clima, em determinadas zonas do planeta, a estruturação de substâncias húmicas alcançou um equilíbrio que geralmente se denomina de *bioestase* de um solo. Todavia, os movimentos da crosta terrestre, as mudanças de clima e outros fatores fizeram que se produzissem grandes mudanças no planeta que alteraram o estado de equilíbrio. Os processos recomeçam em outro sítio ou no mesmo sob outras condições, de forma que saltará de um estado de equilíbrio ou semi-equilíbrio para estados de desordem. Esses processos são visíveis em nosso período histórico de existência. Para isso basta observar as grandes mudanças que continuamente ocorrem no clima (secas, grandes chuvas), que arrastam, para os rios, lagos e mares, as capas de solo formadas durante milênios, depositando-as como sedimentos, mencionando apenas um dos fatores de mudança.

Ao observar o processo de humificação e acumulação de matéria orgânica em detalhes, é possível se chegar rapidamente à conclusão de que o processo de sua formação é a existência da vida no planeta e que se produzir-se-á indefinidamente. Entretanto, visto dessa forma, ter-se-á então a certeza de que existem sistemas diversos que se sucedem uns aos outros com componentes semelhantes, mas diferentes entre si, e que cumprem as leis de desenvolvimento dos sistemas materiais, crescente e em espiral. Pode-se então chegar à conclusão de que os processos que dão lugar à formação das substâncias húmicas são espontâneos e irreversíveis, enquanto o conjunto de objetos e substâncias que constituem cada sistema, o qual está delimitado por um período de tempo não-absoluto, porém, relativo: o que mede o percurso da vida e das mudanças no planeta.

De acordo com o exposto anteriormente, se os processos que possibilitam a existência do húmus são espontâneos e irreversíveis, então a entropia desses sistemas terá que ser maior que zero, isto é, crescente.

É possível que alguém fique chocado com a particularização que foi realizada para a formação do húmus com respeito aos dados termodinâmicos, conhecendo-se que esse processo está indissoluvelmente ligado à existência dos demais componentes do ecossistema, o que os tornam muito complexos e variados. Entretanto, como não é possível ter-se um controle fino da informação de todos os componentes desse sistema, prefere-se a abstração, reduzindo o sistema e estudando até esse ponto, de forma a esclarecer as regularidades que lhe são características.

Eis algumas propostas de especialistas sobre o estudo do húmus: Stevenson (1994) descreve o processo geral de formação das substâncias húmicas resumido na Figura 4.6.

Teoria geral de formação das SH

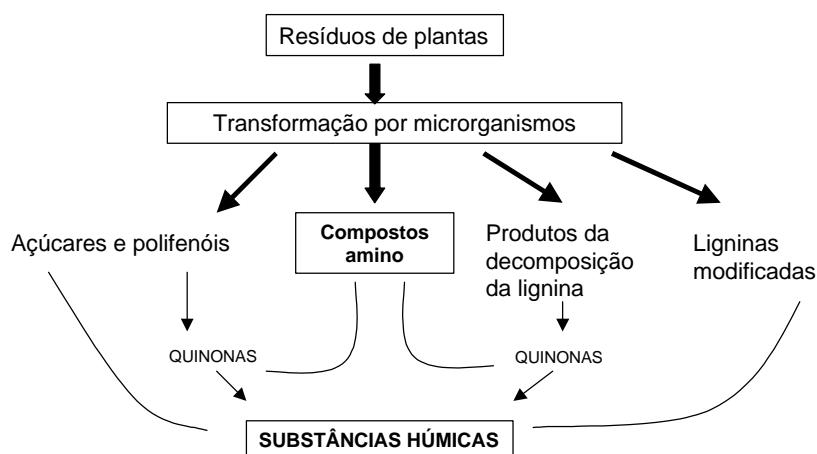


Figura 4. 6: Esquema proposto por F.J. Stevenson sobre o processo de formação de substâncias húmicas

Na Figura 4.6, o processo de humificação é iniciado com os resíduos das plantas degradados pela ação dos microrganismos até a unidades menores que aparecem representadas por açúcares, polifenóis etc, isto é, parte-se de substâncias altamente organizadas que têm origem em objetos biológicos vivos, produz-se uma degradação a estruturas muito mais simples e particulares e, logo, se produz uma resíntese ou recombinação que vai dar lugar a uma estrutura novamente complexa com um nível superior de organização em relação ao estado intermediário e uma diversidade de composição maior do que a que existia no início. Isso porque agora são integrados objetos e substâncias de plantas, animais e microrganismos e solo (Baldock & Skjemstad, 2000; Claus, 2004; Piccolo, 2002; Swift, 2001)

Este processo, sob o qual aumenta a complexidade e a diversidade molecular, tem uma entropia positiva. Por outro lado, não se produz uma macromolécula de uma substância húmica, mas uma infinita quantidade de macromoléculas com características similares, em que cada uma tem feições próprias. Este fenômeno parece contribuir para um incremento da entropia pela quantidade de microestados que incorpora.

Alexandrova (1970) propôs o esquema que aparece na Figura 4.7, no qual são estabelecidos três processos de estruturação e degradação das substâncias de elevada massa molar, procedentes de sistemas biológicos.

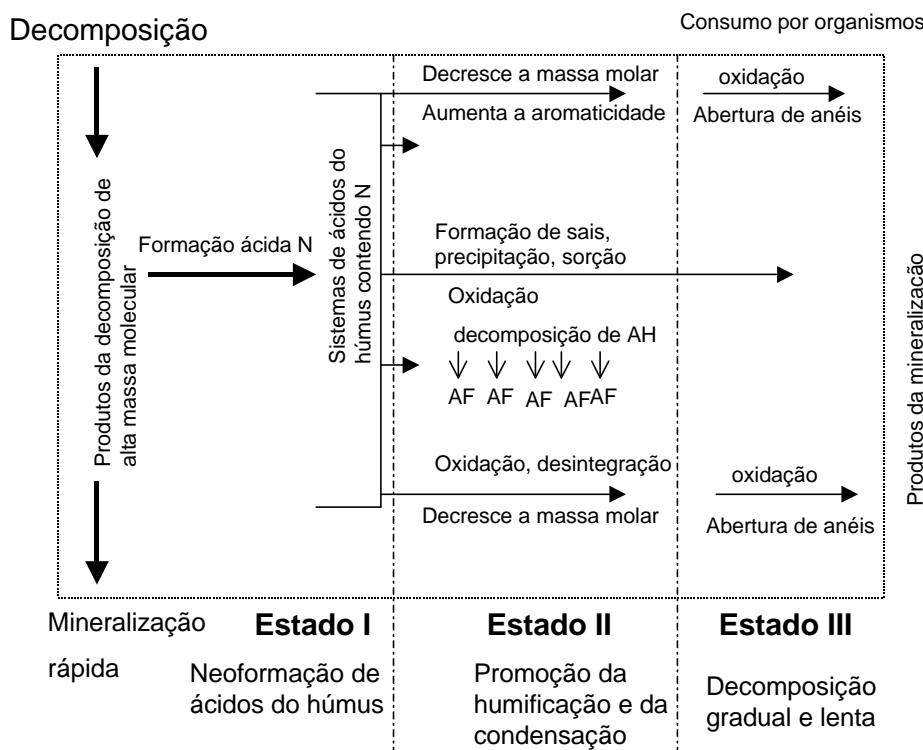


Figura 4.7. Esquema proposto por Alexandrova sobre as transformações e características das substâncias orgânicas para chegar até as substâncias húmicas e sua mineralização.

De acordo com Alexandrova, as biomoléculas oriundas dos sistemas biológicos vivos são maiores do que as que se humificam e dão lugar à neoformação de substâncias húmicas que, posteriormente, formam o húmus estável de massa molar relativamente menor que os biopolímeros, com moléculas de ácidos húmicos (maiores) e de ácidos fúlvicos (menores), caracterizados por um grau maior de oxidação, um núcleo, maior caráter aromático, maior condensação e interações com o meio ambiente no Estado II. O Estado III é o estado da degradação até chegar à mineralização que ocorre lentamente. Esta proposta tem alguns pontos de coincidência com a realizada por Stevenson, mas as discrepâncias são maiores, sobretudo, por estabelecer etapas com resultados e estabilização relativa, mediante as quais se pode transitar mudando gradualmente a existência das substâncias húmicas com interações estabilizadoras.

A nossa interpretação dessa descrição pode ser representada como:

Vida → degradação → reorganização-mistura → estabilização → aglutinação → decomposição → base de nova vida

Assim, de uma qualidade se passa a outra qualidade que contém elementos da anterior, mas é distinta, assegurando sempre a nova vida e a circulação de massa e de energia.

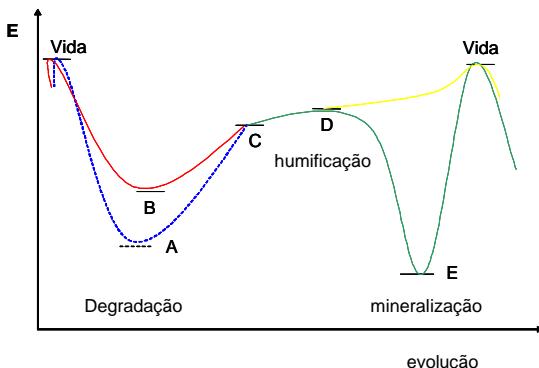


Figura 4.8: Esquema representativo da idéia de evolução da energia ao longo do processo de humificação: Vida-A: degradação até espécies moleculares mais simples; Vida-B: degradação até agrupamentos moleculares; C: reorganização-mistura-estabilização de SH; C-D: semi-equilíbrio, estruturação complexa de substâncias húmidas; E: mineralização; D-Vida: aporte de espécies moleculares à vida; E-Vida: aporte de estruturas atômicas à vida.

A partir do ponto de vista da entropia, as moléculas iniciais se degradam e transformam-se com certa rapidez, até a estrutura mais simples e, com isso, o processo adquire entropia positiva. A continuação do processo é o de reacomodação para estruturar moléculas estáveis, mas com uma composição diversa e mista em relação às originárias. É como alcançar um equilíbrio relativo onde a entropia tende a zero e, por último, começa o processo de mineralização ou destruição, liberando ao meio centenas de componentes, num processo espontâneo e irreversível, durante o qual a entropia volta a aumentar. De acordo com isso, é possível relacionar as mudanças na entropia que vão ocorrendo com as etapas pelas quais os componentes vão transitando, aspecto que está ainda por ser realizado. O esquema (proposto por Pauli, 1967) da Figura 4.9 contém uma concepção de estrutura:

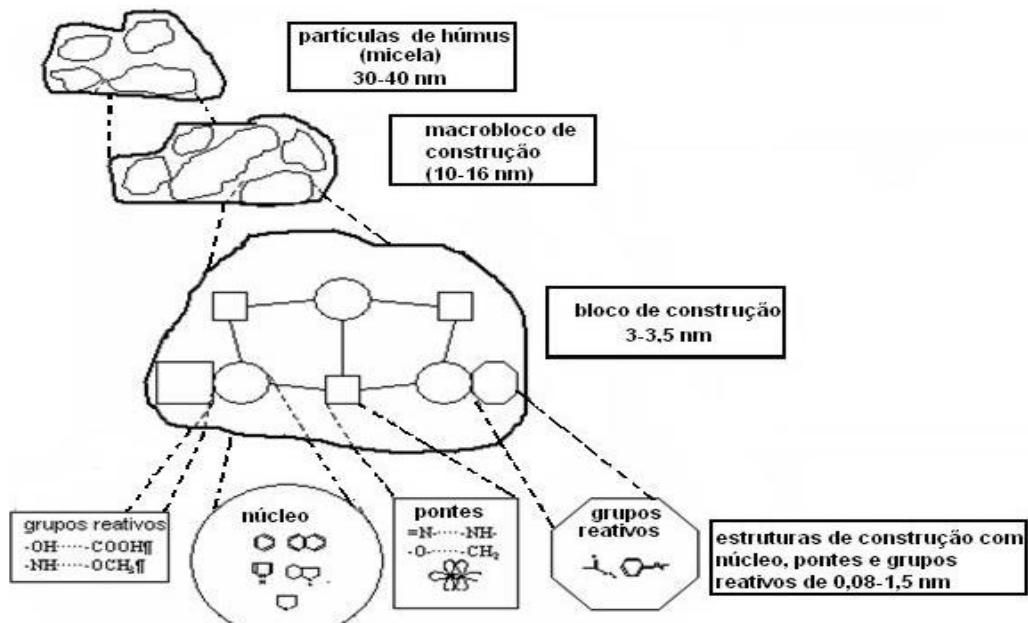


Figura 4.9: Esquema representativo de Pauli sobre os níveis de complexidade que alcançam as substâncias húmidas ao interagir entre si e com o meio ambiente (adaptação de Frimmel & Christman, 1988).

Anos depois, Orlov (1995) ofereceu uma explicação sobre o significado das massas moleculares, determinadas por diversos métodos, e a interpretação sobre a estrutura complexa das substâncias húmidas. Esse trabalho é uma ampliação e aprofundamento das idéias de Pauli.

Como pode ser visto, a partícula com que se tem o primeiro contato é uma estrutura complexa, constituída por uma multiplicidade de microestados do sistema que vem alcançando estruturas superiores pelo incremento de tamanho das macromoléculas, pela diversidade de estruturas a que são vinculadas, pela sua condensação e aglutinação sucessiva e pela participação de minerais e íons de metais na saturação de determinadas ligações. Uma concepção da entropia do ponto de vista estatístico determina que, a maior quantidade de microestados corresponde à maior tendência para o incremento da estabilidade do sistema, isto é, um incremento da entropia.

Cálculos da variação da energia livre ΔG e a entropia ΔS no desenvolvimento de uma reação

Existem várias possibilidades para realizar estes cálculos e, entre elas, está a determinação de constantes de troca ou de equilíbrio (K) a 298° K de um sistema de substâncias orgânicas ou húmidas do solo utilizando as eqs. 41 ou 42 (procedimento 13). Essa eq. De forma simplificada pode ser escrita como:

$$\Delta G = -5,707 \log K \text{ kJ.mol}^{-1} \text{ de íons}$$

Aplicando o logaritmo negativo a ambos os membros da equação, obtem-se:

$$\Delta G = 5,707 pK \text{ kJ.mol}^{-1} \text{ de íons} \text{ a partir do pK da substância}$$

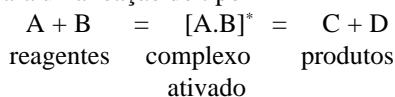
Há que destacar que a magnitude de ΔG é calculada a partir das constantes termodinâmicas de equilíbrio e que um cálculo, a partir das constantes estequiométricas, pode induzir a alguns erros, isto é, de acordo com a técnica recomendada, a variação de energia livre é calculada como uma aproximação.

Uma vez obtido o valor de ΔG , é possível aplicar a equação eq.38 (procedimento 14) e calcular a entropia do sistema sob essas condições.

$$\Delta S = (-\Delta G + \Delta H) / T$$

Método do estado de transição ou do complexo ativado (Kireev, 1969)

Para uma reação do tipo



é possível notar que a constante de velocidade da reação está vinculada ao potencial ΔF , isto é, a diferença de potenciais à V e T constantes, entre o complexo ativado e as substâncias reagentes de forma

$$k = \frac{RT}{N_0 h} e^{-\frac{\Delta F^\circ}{RT}} \quad (46)$$

Onde:

k = constante de velocidade da reação

ΔF^* = energia livre de Helmholtz

N_o é o número de Avogadro = $6,02 \cdot 10^{23}$ espécies mol⁻¹

h é a constante de Planck = $6,6237 \times 10^{-34}$ J s

Como o complexo ativado se encontra em equilíbrio estatístico com as substâncias reagentes, é possível que:

$$\Delta F^* = \Delta E_A^* - T \Delta S^*$$

Que são as funções termodinâmicas na ativação, ΔE_A^* troca de energia interna no estado ativado. E, então, é possível expressar:

$$k = \frac{RT}{N_o h} e^{\frac{\Delta S^\circ}{R}} \cdot e^{-\frac{\Delta E^\circ}{RT}} \quad (47)$$

e também,

$$PZ = \frac{RT}{N_o h} e^{\frac{\Delta S^\circ}{R}} \quad (48)$$

Ou ainda:

$$k = PZ \times e^{-\frac{\Delta E^\circ}{RT}} \quad (49)$$

Esta última eq. é denominada equação de Arrhenius onde ΔE^* é a energia interna; P. o fator de probabilidade ou fator estérico das colisões; e Z, as colisões efetivas.

É possível observar que um aumento da entropia conduzirá a um aumento da probabilidade das colisões energéticas e estericamente efetivas, o que significa que não só influí na velocidade de reação como na energia de ativação fornecida ou, ainda, sobre ambos fatores simultaneamente. Em termos estritos $\Delta E^* = \Delta E_A^* + RT$ mas como $\Delta E_A^* \gg RT$, pode-se supor, como uma aproximação, que $\Delta E_A^* = \Delta E^*$.

Se a velocidade da reação é expressa em unidades de pressão e não de concentrações, então, no lugar de ΔF^* e ΔE_A^* , as equações anteriores deverão ser expressas em função de ΔG^* e ΔH^* . *Essas magnitudes poderão ser consideradas como funções termodinâmicas, pelo menos de forma aproximada.*

Agora, em condições de calcular a magnitude da entropia, caso se conheça a magnitude de K e de ΔE^* , coisa que pode ser feita com êxito por vários métodos, por exemplo, ao realizar a análise térmica de ATG das amostras de substâncias húmidas, pode-se calcular a energia de ativação de cada processo e as constantes de velocidade relativas e absolutas de cada processo endo ou exotérmico como alguns exemplos a seguir.

Utilizando o cálculo da eq.47 obteremos:

$$\Delta S^\circ = R \ln k_0 - R \ln \frac{RT}{N_o h} + \frac{\Delta E^\circ}{T}$$

Na Tabela 4.9, aparecem dados da análise termogravimétrica (ATG) de substâncias húmidas de um Oxisol de Cuba, em que foi calculada a variação da entropia nessas condições. Turner & Schnitzer (1962); Chernikov & Konchits (1978), Chernikov & Kasatirov (1977).

Tabela 4. 9: Parâmetros cinéticos e termodinâmicos de ácidos húmicos de um Oxisol obtidos por meio de de ATG. (Garcés, 1987)

Reação	Experimental			Calculado				
	$\Delta\omega/\Delta T$ (mg/°K)	T_M (°K)	ΔT (°K)	E^* (kJ/mol)	k_0 (s)	K	ω (mg)	ΔS^* (J/°K.mol)
1	0.24	358	53	47,1	$1,98 \cdot 10^8$	0.442	5.44	43,94
2	0.41	563	58	106,3	$1,74 \cdot 10^{11}$	0.403	10.17	153,8
3	0.48	663	173	149,4	$6,6 \cdot 10^4$	0.135	35.49	66,04

Onde:

$\Delta\omega/\Delta T$ = variação da massa de reação com mudança de temperatura

T_M = temperatura do máximo de reação

ΔT = incremento de temperatura no exoefeito

E^* = energia de ativação

k_0 = constante específica de velocidade

K = constante geral de velocidade

ω_0 = massa transformada na combustão

ΔS^* = entropia de ativação do processo

Os processos que ocorreram do ponto de vista físico foram:

1. Perdas de água e ruptura de algumas ligações fracas de cadeias alifáticas
2. Combustão da periferia das substâncias húmicas.
3. Combustão do núcleo das substâncias húmicas.

Essa informação corrobora com o fato de o processo, ao levar as substâncias reagentes até o complexo ativado possibilita um incremento de entropia devido ao enfraquecimento das ligações, aumentando a amplitude e a quantidade dos movimentos atômicos e moleculares, o que permite que o número de microestados prováveis seja aumentado. Se a partir do procedimento descrito antes se determina a entalpia da ativação, por $\Delta H^\ominus = k A$, onde K é a constante do equipamento para cada temperatura de efeito térmico ou para uma faixa de temperaturas medidas, e A é a área sob a curva ATG, então, pode-se calcular a energia livre de ativação que evoluiu mediante $\Delta G^\ominus = \Delta H^\ominus - T \Delta S^\ominus$

Mangrich e colaboradores (2000), estudando os ácidos húmicos obtidos de vermicomposto pela análise térmica, obtiveram dados como os que aparecem na Tabela 4.10. Os autores analisaram a energia cedida em duas faixas de temperatura nas quais ocorrem os exoefeitos e as maiores perdas de massa correspondentes à ruptura de ligações intramoleculares, no primeiro evento e à ruptura de ligações intermoleculares no segundo. Assim, tal fato não deve corresponder exatamente ao que está ocorrendo, uma vez que as ligações intramoleculares possuem energias ao redor de 400 kJ mol^{-1} , enquanto as ligações intermoleculares têm entre 4 e 40 kJ mol^{-1} . Desta forma, não é possível que haja necessidade de temperatura muito mais elevada para romper ligações mais fracas. É preferível então assinalar o primeiro evento de perda como combustão e ruptura de ligações das cadeias alifáticas e o segundo como perda devida à destruição de estruturas aromáticas ou “núcleos” dos ácidos húmicos.

Tabela 4.10: Análise térmica de ácidos húmicos isolados de vermicomposto por meio de Calorimetria Diferencial.

Amostras	Efeitos térmicos	Dado	$\approx 300^\circ \text{C}$	$\approx 500^\circ \text{C}$
Ovinos-HA	faixa de T	$^\circ \text{C}$	160-350	350-600
	ΔH	J.g^{-1}	-1574	-3034
	Perda de massa %	a	36,3	29,7
		b	55,0	45,0
	faixa de T	$^\circ \text{C}$	160-384	384-600
	ΔH	J.g^{-1}	-1399	-3526
Ovinos-HA	Perda de massa %	a	32	33
		b	49,2	50,8
	faixa de T	$^\circ \text{C}$	160-390	390-600
	ΔH	J.g^{-1}	-1209	-3270
	Perda de massa %	a	33,5	31,5
		b	51,5	48,5
Caprinos-HA	faixa de T	$^\circ \text{C}$	160-350	350-600
	ΔH	J.g^{-1}	-892	-2516
	Perda de massa %	a	27,3	27,9
		b	49,5	50,5
	faixa de T	$^\circ \text{C}$	160-384	384-600
	ΔH	J.g^{-1}	-1399	-3526
Coelhos-HA	Perda de massa %	a	32	33
		b	49,2	50,8
	faixa de T	$^\circ \text{C}$	160-390	390-600
	ΔH	J.g^{-1}	-1209	-3270
	Perda de massa %	a	33,5	31,5
		b	51,5	48,5

a- com base na massa total b-com base na massa de S.H.

Os dados mostram que, em todos os casos, as entalpias de combustão das partes centrais são até três vezes superiores às entalpias das partes periféricas. Por outro lado, de acordo com as perdas de massa, as entalpias estão em equilíbrio relativo com as partes externas das macromoléculas em relação às partes internas mais estáveis, coincidindo com a análise dos dados de Kuèerík (2004). Este trabalho é um exemplo das possibilidades que possuem as técnicas de análise térmica pelo vínculo que oferecem com os dados termodinâmicos. Outros processos de mudanças de energia em reações de substâncias húmicas podem ser calculados a partir de algumas determinações analíticas, preparando-se adequadamente as condições de estudo. Um exemplo pode ser observado com os dados na Tabela 4.11.

As fontes de energia que mudam continuamente com o solo

Posto que o solo é um sistema aberto, todo o ecossistema atua continuamente sobre ele e, por sua vez, o solo influí em algumas das características do ecossistema. Dessa forma, as fontes de energia que mais têm influência nos processos são:

- As mudanças de temperatura do meio ambiente que podem aumentar ou diminuir significativamente a temperatura do solo. Isso se manifesta em nosso planeta de forma regular com as estações do ano nas regiões continentais e insulares, de acordo com a latitude assim como pelas mudanças que produzem os eventos vulcânicos eruptivos e os incêndios na vegetação.
- As transformações energéticas, que provocam o vento e a água ao, moverem massas e destruir partículas e componentes com a sua ação.
- A recepção da radiação eletromagnética do sol numa ampla gama de comprimentos de onda os quais podem interagir com seus componentes.
- As trocas de energia como consequência da atividade tectônica do planeta.
- A recepção de radiação cósmica que atua a longo prazo.
- O aporte energético provocado pela atividade antropogênica de todo tipo sobre a superfície ou em todo o perfil do solo, acentuada pela atividade industrial e queima dos combustíveis

Tabela 4.11: Determinação da variação de ΔG da matéria orgânica dos solos no desenvolvimento da reação (g de AH).

Parâmetro	Condições	Magnitude do parâmetro para os solos			
		Oxisol	Cambisol H	Mollisol	Renzina Vermelha
Variação de ΔG na dissipação de H^+ dos AH a partir pK a 30º C (kJ)		25,9-61,5	23,4-59,8	25,1-58,6	25,1-54,0
Variação de ΔG na titulação redox dos AH $\Delta G = E \cdot 2 \cdot 1280,30 \text{ kJ}$ E em Volt	pH	0,7	5,02	-	6,69
	pH	6,0	3,35	-	5,44
	pH	10,0	1,67	-	2,09
	pH	0,7-6,0	2,09	-	1,26
	pH	6,0-10	1,67	-	2,09
Variação de ΔG na dissolução de complexos $\Delta G = E \cdot 2 \cdot 129,70 \text{ kJ}$	Solúveis em água	1,55	1,84	1,72	1,67
	Solúveis em Na OH	0,084	0,38	-1,26	-0,84
Variação de ΔG na dissolução de complexos na dissociação de H^+ $\Delta G = 5,69 \text{ pK kJ}$ $pH = pK + \log \text{sal / ácido}$ $pH = pK + \log \text{resto / solução}$	pK	H_2O	9,4	6,98	7,15
	pK	NaOH	11,7	10,2	12,7
	ΔG	H_2O	53,47	39,72	40,68
	ΔG	NaOH	66,57	58,04	72,26

AH = ácidos húmicos, Garcés y Savich (1975)

fósseis aumentando o efeito estufa.

- O aporte energético constante em toda a biota que atua sobre ou dentro do solo liberando, na sua atividade, grandes quantidades de energia.
- A liberação de energia como produto das transformações radioativas dos elementos fissionáveis que estão contidos nos minerais, os quais são parte dos componentes do solo.
- O aporte energético eventual que provoca a caída sobre o planeta de grandes meteoritos ou outros corpos cósmicos que podem produzir eventos catastróficos para todo o planeta com mudanças qualitativas e quantitativas de todos os seus componentes.
- A quantidade de energia armazenada nas substâncias orgânicas dos sistemas biológicos que começam a ceder em forma de cascata no processo de humificação-mineralização até em sistemas que começam a estruturar-se, que armazenam energia em forma de ligações atômicas e moleculares até a estruturação de macromoléculas húmicas e, logo, ao sistema estável, na interação com os demais componentes do solo.

Como é possível apreciar nessa relação, são muitas as fontes que podem influir de forma mais ou menos significativa na entrada ou saída de energia do solo, produzindo transformações importantes. A explicação de cada uma delas pode ser encontrada na literatura e é muito ampla. Aqui, limita-se a um exemplo a partir de dados especializados.

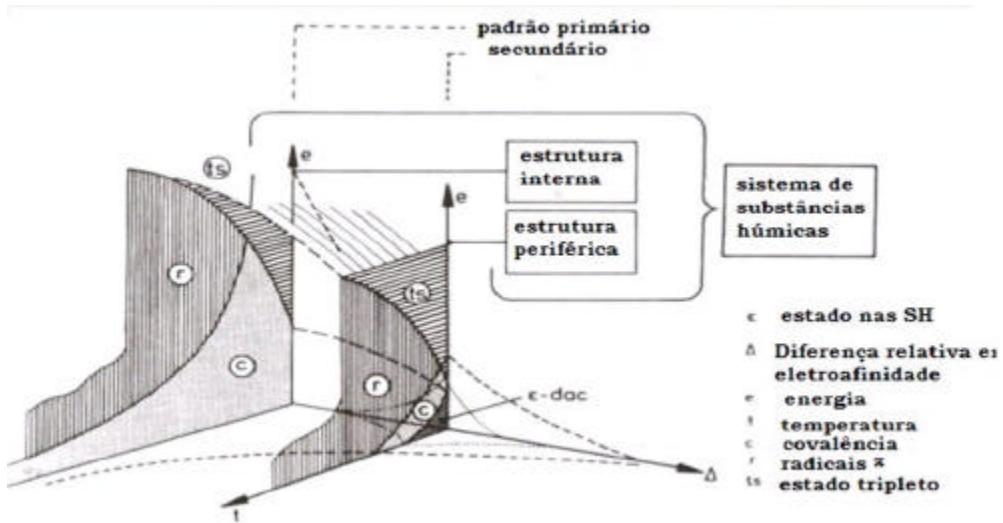


Figura 4.10: Representação de estado dos elétrons nas substâncias húmidas proposta por Ziechmann no livro de Friemmel & Christman (1988).

O esquema proposto por Ziechmann trata de ilustrar a idéia sobre a formação das substâncias húmidas:

- Como consequência da entrada de energia e da energia evoluída internamente entre as estruturas, é produzido da periferia das substâncias húmidas um incremento de energia até as estruturas internas (denominada por outros autores de “núcleo”) que, como pode ser observado, muda as proporções e estrutura dos estados eletrônicos. Por exemplo, os elétrons π aumentam, bem como as ligações covalentes e os estados tripletes dos elétrons. Por outro lado, diminuem relativamente a energia de ionização, a afinidade eletrônica, e as transições e-dac que se referem ao desaparecimento ou desativação de radicais livres e do mesomerismo intermolecular.

- Um fator importante dessas mudanças é a temperatura do sistema (em equilíbrio com o meio) ao longo do processo de formação, posto que é um parâmetro que forma uma parte indispensável do processo de conformação e estabilização. Esta pode ser, entre outras, a razão não só da diminuição da atividade dos microrganismos, mas senão também a detenção dos processos de síntese e degradação nos países temperados durante o inverno. Tem sido comprovado que a temperatura ambiente são obtidas substâncias húmidas com baixas concentrações de radicais livres.

- A incorporação de energia pelas radiações eletromagnéticas quando as substâncias húmidas são irradiadas. Por exemplo, Ziechman & Kress (1977) irradiaram substâncias húmidas com uma lâmpada de mercúrio de 1000 W sem mudar a temperatura ambiente e observaram a formação de radicais e de estados tripletes dos elétrons e quando interrompida a irradiação, foi observada a formação de ligações covalentes

Por fim, chega-se com estes dados, à conclusão de que o estado das substâncias húmidas está mudando continuamente, não somente como consequência da atividade dos microrganismos, mas também porque são produzidas continuamente transformações importantes sobre as mesmas ao mudarem, ou atuarem componentes físico-químicos do meio, tais como, a temperatura e as radiações eletromagnéticas. Disso, resulta outro elemento que ratifica a idéia de que o estado aparente de equilíbrio que alcança o solo e seus componentes não é mais que um estado estacionário por meio

do qual vai evoluindo lentamente e que somente, quando acumuladas as transformações qualitativas suficientes, é produzida a mudança qualitativa do mesmo.

Para concluir é preciso insistir em dois elementos básicos:

- 1) Todos os sistemas materiais podem ser descritos em seus aspectos mais gerais a partir das quantidades e tipos de massas envolvidos com o fluxo de energia presente. A partir desta base, é que se constrói o edifício da ciência com as particularidades que explicam com mais detalhes a existência, as características, as propriedades e as interações múltiplas que um sistema pode realizar internamente ou com os sistemas adjacentes. Quando os estudos dessa integralidade são realizados e podem ser generalizados mediante princípios e leis, então, é que se aproxima da verdade e pode-se dizer que o conhecimento acumulado é a ciência constituída. Por considerar correta esta afirmação, não se pode abandonar ou desejar uma melhor oportunidade para o estudo energético dos sistemas do solo, e que devem ao menos se relacionar com o fluxo de energia, com parâmetros específicos de transformação dos sistemas. Esta tarefa ainda está por ser feita.
- 2) Em todo sistema químico (como são as substâncias húmicas dos solos), há quatro níveis de conhecimento que são necessários atingir para se poder aproximar da sua explicação: composição, estrutura, propriedades e função. Para estudar os elementos que compõem cada um deles, é necessário aplicar uma grande diversidade de métodos analíticos, matemáticos, de interpretação e generalização. Esta é a única forma de não acumular informação diversa (aparentemente muito valiosa), mas não relacionada, nem sistematizada, que no final das contas, não ajuda a dar explicações coerentes do sistema sob estudo. É necessário observar o sistema material de longe: como está constituído, como se manifesta, quais são suas tendências de desenvolvimento e decidir como abordar algumas de suas partes de perto (o particular) mas sempre trabalhando em forma de sistema.

Se o mundo material é uma unidade diversa em permanente transformação mediante contínuas interações entre as suas partes, os métodos que podem explicá-lo devem reproduzir esta realidade.

capítulo 5

Espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível

Luciano P. Canellas

Victor M. Rumjanek

A introdução da análise de espectroscopia de UV-VIS nos anos 1930 foi um marco fundamental na química analítica. As vantagens de uma análise não-destrutiva e a capacidade de análise de um grande número de amostras num tempo reduzido revelaram uma poderosa ferramenta para a química orgânica no diagnóstico de moléculas, sem a necessidade de compreensão de uma base teórica ampla. A análise de UV construiu o caminho para as outras técnicas espectroscópicas. Apesar de representar um salto histórico, hoje raramente a espectroscopia de UV-VIS é usada como o principal método na análise estrutural. Porém, apresenta a vantagem da simplicidade, do baixo custo dos equipamentos que estão disponíveis em quase todos os laboratórios e da rapidez de resultados. Além disso, junto com a espectroscopia de fluorescência, é possível, na região do UV-VIS, avaliar uma série de características importantes das substâncias húmicas, tais como, grau de humificação, capacidade de complexação, constantes de dissociação entre outras. A espectroscopia na região UV-VIS é muito útil para a introdução dos princípios da espectroscopia de absorção.

Introdução

Apesar de hoje a espectroscopia de UV-VIS não ser isoladamente responsável pela elucidação de modelos estruturais ou de reatividade química, o uso da propriedade da absorção da luz nessa região foi a primeira responsável pela criação do conceito de “grau de maturação” de substâncias húmicas, grau de humificação ou ainda grau de evolução química. São da década de 1950 os primeiros trabalhos relacionando coloração escura com evolução das substâncias húmicas. Hoje, novos conceitos foram incorporados com o desenvolvimento de outras técnicas espectroscópicas, porém há uma persistência do uso da relação E_4/E_6 e consolidação do uso da fluorescência como uma técnica sensível para avaliar tanto o grau de humificação como a capacidade das substâncias húmicas em formar complexos com íons. Segue uma descrição do fenômeno da absorção de luz que é comum aos outros métodos espectroscópicos e, por isso, de alguma utilidade.

Absorção de radiação eletromagnética na região do UV-VIS

A Figura 5.1 mostra parte do espectro eletromagnético com as correspondentes freqüências e comprimentos de onda. A região do espectro de ultravioleta, interessante do ponto de vista estrutural, vai de cerca de 200 nm a 380 nm, também chamada de UV próximo.

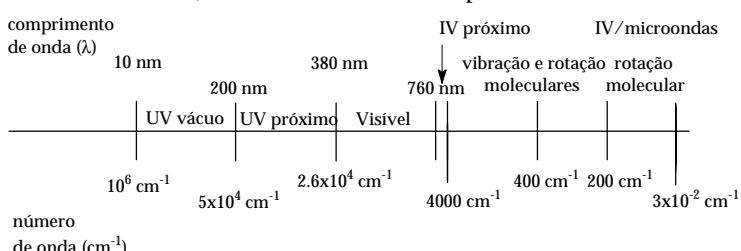
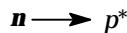


Figura 5.1 – Espectro eletromagnético.

A energia total de uma molécula é a soma de suas energias eletrônica, vibracional e rotacional. A energia de uma determinada radiação eletromagnética relaciona-se com sua freqüência (ou com seu comprimento de onda), pela equação,

$$E = hn = hc / \lambda$$

onde h é a constante de Planck, c é a velocidade da luz e n e λ são respectivamente a freqüência e o comprimento de onda da radiação. A energia absorvida na região do UV próximo produz uma transferência dos elétrons de um orbital molecular ocupado (geralmente não-ligante n ou ligante p) para um orbital não-ocupado antiligante, s^* ou p^* . Assim, a transferência de um elétron não-ligante n para um orbital antiligante p^* é representada por



A Figura 5.2 mostra as diferentes transições com suas energias aproximadas. Como é possível observar, uma transição $n-\pi^*$ requer menos energia do que uma transição $\pi-\pi^*$. Conseqüentemente, uma transição $n-\pi^*$ ocorre quando há absorção de radiação UV com um comprimento de onda maior do que aquele de uma radiação que produz uma transição $\pi-\pi^*$.

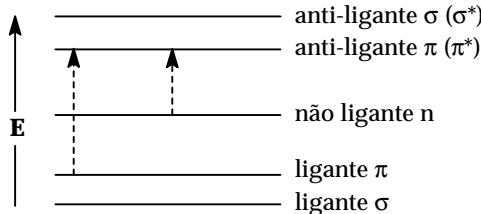


Figura 5.2. Transições eletrônicas e seus níveis energéticos

A energia em excesso no estado excitado pode produzir a quebra de uma ligação ou a ionização da molécula ou ainda pode ser reemittida como luz ou calor. A liberação como luz produz fluorescência ou fosforescência. Uma vez que a absorção de luz UV é quantizada, cada transição deveria fornecer uma linha bem definida, o que não ocorre, pois cada nível eletrônico possui vários subníveis vibracionais e assim, são obtidas bandas de absorção. As duas características importantes de um espectro de UV são a posição da banda e sua intensidade. A posição da banda corresponde ao comprimento de onda cuja energia corresponde àquela necessária para a transição. A intensidade da banda depende de dois fatores: a probabilidade da transição ocorrer e a diferença de energia entre os níveis fundamental e excitado. A equação que dá a intensidade da absorção é a derivada da lei de Lambert-Beer, que é expressa por,

$$A = \log \frac{I_0}{I} = kcl$$

onde I_0 e I correspondem à intensidade de luz que incide sobre a amostra e a que é transmitida depois de atravessar a amostra, respectivamente; k é uma constante característica da amostra, c é a concentração da amostra; e l é o caminho ótico através da amostra; e A é a absorbância da amostra. Quando c é expressa em mol L⁻¹ e l é expresso em cm, a equação torna-se,

$$A = \epsilon cl$$

onde ϵ é chamada de absorvidade molar. Geralmente, a intensidade de uma determinada banda é expressa pela absorvidade molar na máxima absorção, ϵ_{max} ou $\log \epsilon_{\text{max}}$. Se a transição possui um valor elevado de ϵ , da ordem de grandeza de 10⁴, esta transição tem alta probabilidade de ocorrer

e diz-se que ela é permitida. Ao contrário, se a transição possui um valor baixo de ϵ , da ordem de 10^2 , diz-se que a transição é proibida, pois tem baixa probabilidade de ocorrer. Evidentemente, para a comparação de ϵ , as análises devem ser realizadas com o mesmo solvente e em soluções de mesma molaridade. Aumentando-se a quantidade de amostra, naturalmente aumenta a capacidade de absorver a radiação incidente. O grupo insaturado que é responsável pela absorção de UV é chamado de cromóforo. Estes são a ligação dupla C=C, o anel aromático e a ligação dupla C=O. Substituintes que aumentam o valor da absorvividade molar de um cromóforo básico provocam o efeito hipocrômico e os que diminuem a absorvividade molar provocam o efeito hipocrômico. A Tabela 5.1 fornece alguns exemplos de compostos orgânicos e suas absorções características.

A inclusão de ligações π adicionais e o grau de extensão da conjugação aproximam cada vez mais os níveis de energia entre o orbital do estado fundamental e o excitado. Como resultado, o comprimento de onda da radiação requerido para a excitação se torna maior com o aumento do grau de conjugação (comparar o etileno e o benzeno).

Sistemas aromáticos e heteroaromáticos são geralmente utilizados para exemplificar sistemas π conjugados e tais estruturas são cromóforos particularmente úteis. Os elétrons não-ligantes de heteroátomos, tais como, N, O e S também estão envolvidos na ressonância e podem estender a conjugação desses sistemas. Auxocromos são grupos, tais como, OR, NR₂, NO₂ ou CO₂R, que são capazes de aumentar o I_{\max} de um cromóforo básico.

Tabela 5.1 – Compostos orgânicos e suas absorções na faixa de UV.

composto orgânico	transição eletrônica	I_{\max} (nm)	ϵ_{\max}
Etano	$s \rightarrow s^*$	150	
Água	$n \rightarrow s^*$	185	
Metanol	$n \rightarrow s^*$	193	700
Hexano 1 tiol	$n \rightarrow s^*$	224	500
Etileno	$\pi \rightarrow \pi^*$	165	126
Buta 1,3, dieno	$\pi \rightarrow \pi^*$	217	10000
Acetona	$\pi \rightarrow \pi^*$	150	21000
	$n \rightarrow s^*$	188	1860
	$n \rightarrow \pi^*$	270	15
Benzeno	$\pi \rightarrow \pi^*$	180	60000
	$\pi \rightarrow \pi^*$	200	8000
	$\pi \rightarrow \pi^*$	255	215
Fenol	$\pi \rightarrow \pi^*$	210	6200
	$\pi \rightarrow \pi^*$	370	1450

O espectro ilustrativo da Figura 5.3 mostra como o aumento da conjugação aumenta o comprimento de onda de máxima absorção.

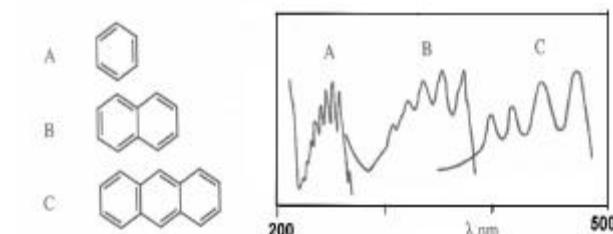


Figura 5.3. Efeito da extensão de conjugação sobre a absorção no UV.

Efeito do solvente

O solvente pode afetar a posição do comprimento de onda de máxima absorção (I_{\max}). O princípio de Frank-Condon diz que, durante a excitação eletrônica, os átomos não se movem, mas os elétrons, incluindo os do solvente, sofrem reorganização. A maioria das transições leva a excitação onde estas são mais polarizadas que no estado fundamental. Se o solvente é polar, o estado excitado pode ser estabilizado mais facilmente pelas interações dipolo-dipolo do que o estado fundamental. A redução da diferença de energia entre os orbitais resulta num aumento do I_{\max} entre 10-50 nm para o etanol, quando comparado com o hexano. Tal mudança é chamada de *deslocamento batocrômico* ou *deslocamento para o vermelho* onde o I_{\max} se move em direção à faixa vermelha do espectro eletromagnético. As exceções são as absorções devido às transições $n \rightarrow p^*$ de grupos carbonilas que, no estado fundamental, apresentam ligação hidrogênio com os solventes mais fortes do que no estado excitado. Neste caso, a diferença entre o estado fundamental e excitado aumenta, e a transição requer mais energia. Assim, há um deslocamento para **I** menores, chamado deslocamento hipsocrômico, que pode chegar a 15 nm em solventes que podem formar ligações hidrogênio, comparadas com solventes apolares. Esse deslocamento hipsocrômico é também chamado de deslocamento para o azul (menores comprimentos de onda).

O espectro de UV-VIS e os espectrômetros

Os espectrômetros mais modernos são de feixe duplo, como representado na Figura 5.4.

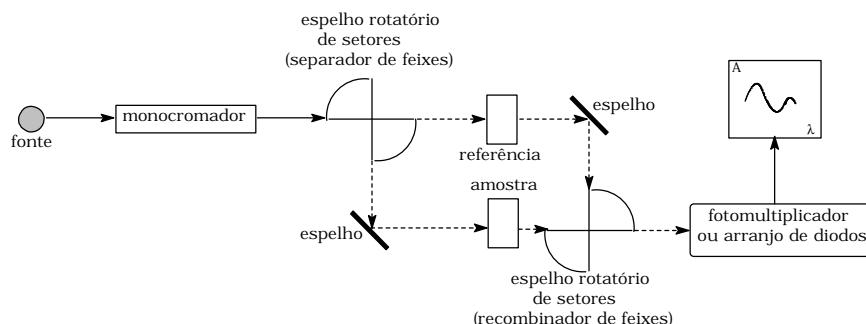


Figura 5.4. Esquema representativo de um equipamento de UV-VIS de feixe duplo.

A fonte de radiação eletromagnética na faixa de UV (180 a 350 nm) é uma lâmpada de deutério e para a faixa do visível (350 a 700 nm), é utilizada uma lâmpada comum de tungstênio. Como o vidro absorve radiação UV, utilizam-se células feitas de quartzo. Os espectrofotômetros de absorção na região do UV-VIS são dispersivos, sendo que, normalmente, o elemento de dispersão é uma grade de difração. A grade é um componente óptico que contém uma série de ranhuras, que são justamente os elementos responsáveis pela difração. A resolução do espectrômetro é diretamente proporcional ao número de ranhuras da grade.

A detecção da absorção dos diferentes comprimentos de onda pode ser feita de duas maneiras: alguns aparelhos utilizam um tubo fotomultiplicador e os mais modernos utilizam um arranjo de diodos. Um tubo fotomultiplicador é formado por um tubo de vidro ou de quartzo sob vácuo, no qual existe um conjunto de placas metálicas interligadas. A principal vantagem do arranjo de diodos é a rapidez na análise, já que, com o arranjo, a leitura de todos os comprimentos de onda é feita simultaneamente.

A luz, emitida pela fonte, passa primeiro por um monocromador, que separa a luz em seus

diferentes comprimentos de onda. A luz monocromática passa por um espelho ótico e é separada em dois feixes de igual intensidade. Um passa pela amostra e outro pela célula de referência contendo solvente puro. O sinal de absorção produzido pelo feixe de referência é subtraído automaticamente do sinal de absorção da célula da amostra e o resultado corresponde à absorção pela amostra. O espectro da amostra geralmente é obtido em uma solução diluída.

Aplicação de espectroscopia UV-VIS à matéria orgânica de solos

A aplicação da espectroscopia na região do UV-VIS no estudo das substâncias húmicas proporcionou avanços significativos no estudo da humificação e de suas reações. As propriedades óticas da matéria orgânica humificada têm sido utilizadas para discriminar diferenças na reatividade, origem, tamanho molecular e grau de humificação (Kononova, 1966) e efeitos do manejo sobre a qualidade da matéria orgânica (Schnitzer, 1971; Slepetic & Slepetic, 2005). Espectros UV-VIS de substâncias húmicas apresentam pouca definição: a absorção decresce linearmente com o aumento do comprimento de onda, fornecendo pouca informação estrutural. Um espectro de UV-VIS típico de ácidos húmicos é mostrado na Figura 5.5.

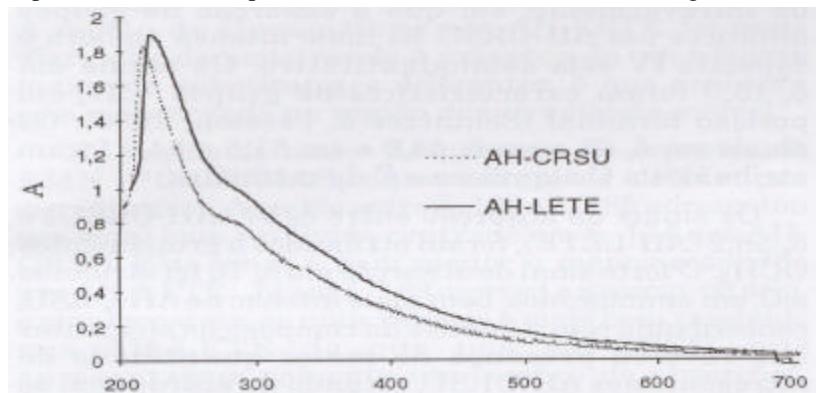


Figura 5.5. Espectros de UV-VIS de ácidos húmicos isolados de lodo de estação de tratamento de esgoto e de composto de resíduo domiciliar urbano.

Independentemente da origem das substâncias húmicas, espectros UV-VIS são bastante similares devido à presença de ligações π e de conjugações na molécula que promovem a sobreposição na absorção de energia. Entretanto, no espectro apresentado na Figura 5.5, os ácidos húmicos apresentam um ombro de absorção centrado em 280 nm. Ghosh & Schnitzer (1979) também observaram um ombro de absorção centrado na região de 250 - 270 nm nos espectros de UV-VIS, que foi atribuído à absorção de estruturas do tipo quinonas.

O principal parâmetro utilizado na análise por espectroscopia de UV-VIS em substâncias húmicas é a razão entre a absorbância em 465 nm e 665 nm de soluções aquosas diluídas de ácidos húmicos e fúlvicos. Essa razão é chamada de E_4/E_6 e é independente da concentração de substâncias húmicas em solução, mas varia de acordo com o pH e com a classe do solo de onde foi isolado o material húmico. Kononova (1966) encontrou valores para a relação E_4/E_6 de ácidos húmicos isolados de Podzol, próximos de 5,0 e, entre 3 e 3,5, para Chernossolos. Assim, Kononova postulou que o valor da relação E_4/E_6 estaria relacionado ao grau de condensação dos constituintes aromáticos. Segundo a teoria da lignina para o processo de humificação, quanto maior o grau de evolução da matéria orgânica humificada, maior o número de unidades aromáticas presentes.

Valores elevados para a relação E_4/E_6 refletiriam de forma contrária, menor grau de condensação e presença em proporções maiores dos componentes alifáticos.

O uso da razão E_4/E_6 na inferência de propriedades estruturais de substâncias húmicas está baseado no fato de que a queda da absorbância, com o aumento do comprimento de onda, seria proporcional à diminuição de conjugação nos diferentes sistemas orgânicos. A relação E_4/E_6 é uma medida da inclinação da reta, formada entre a absorbância em 465 nm e em 665 nm. Sistemas com conjugação mais estendida apresentam maior absorção no azul (465 nm). A relação E_4/E_6 reflete qualitativamente a inclinação da reta A vs λ , com a vantagem de ser independente do teor de carbono em solução.

O espalhamento da luz por uma solução diluída de macromoléculas ou partículas coloidais está intimamente relacionado com a massa, tamanho e interação entre as espécies solúveis. Normalmente, a intensidade de luz espalhada em vários ângulos de um feixe monocromático, que atravessa a solução, é medida por um fotômetro especialmente elaborado para isso. Doty & Steiner (Apud Gosh & Schnitzer, 1979) demonstraram que pode ser obtida uma informação equivalente a partir da medida de transmissão em vários comprimentos de onda. Para isso, eles formularam a seguinte equação,

$$-\frac{d \log A}{d \log I} = 4 - b$$

onde A é a absorbância da suspensão; λ é o comprimento de onda da luz transmitida; e b é um parâmetro derivado da função b/λ_0 , onde b é a maior dimensão da partícula e λ_0 é o comprimento de onda da luz incidente.

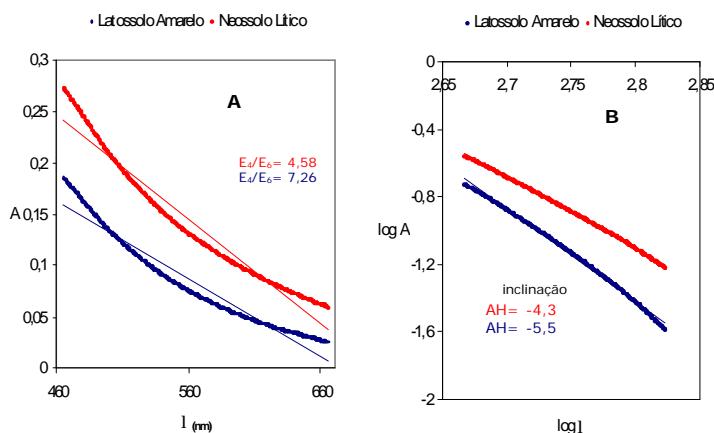


Figura 5.6. Espectro na região do visível (A) e transformado em $\log A$ vs $\log I$ (B) de ácidos húmicos isolados da camada superficial de um Neossolo Lítico e de um Latossolo Amarelo Coeso Típico.

Em geral β aumenta com o aumento de b/λ_0 . Chen e colaboradores (1977) validaram a aplicação desse postulado para ácidos húmicos e fúlvicos em solução, uma vez que observaram que as frações humificadas de menor massa molecular produziam menor inclinação na reta $\log A$ vs $\log \lambda$, ou seja, o aumento na inclinação na reta (ou decréscimo de β) correspondeu ao aumento da partícula. A relação entre a inclinação dessa reta e a relação E_4/E_6 é dada por,

$$-\frac{d \log A}{d \log I} = \text{inclinação} = \frac{\log E_4 - \log E_6}{\log 465 - \log 665} = \frac{\log(E_4/E_6)}{-0,1554} = -6,435 \log(E_4/E_6)$$

O parâmetro de inclinação da reta calculado dessa forma é uma função direta da partícula em suspensão. Dessa forma, a inclinação pode ser relacionada com a distribuição de massa/tamanho ou grau de associação das subunidades estruturais no arranjo supramolecular proposto por Piccolo (2002). A Figura 5.6A apresenta valores de absorbância de luz incidente entre 465 nm e 665 nm para ácidos húmicos isolados de um Latossolo Amarelo Coeso, típico de solos de tabuleiro, e para um Neossolo Lítico de formação recente. A inclinação da queda de absorbância é bem maior para os ácidos húmicos isolados do Neossolo Lítico e é refletida no menor valor para a relação E_4/E_5 . A inclinação da reta $\log A$ vs $\log \lambda$ (Figura 5.6B) também é maior (-4.3) em relação à do Latossolo Amarelo (-5.5), sugerindo substâncias húmicas de tamanho mais elevado no solo recém-formado.

Kononova (1966) e depois Schnitzer & Khan (1978) propuseram uma relação inversa entre a razão E_4/E_6 e o grau de condensação de anéis aromáticos nas substâncias húmicas. As razões dessa inferência estão comentadas no capítulo sobre os modelos estruturais de substâncias húmicas e as postulações sobre as suas vias de formação. Como subproduto direto da transformação da lignina, as substâncias húmicas iriam apresentar conteúdo maior de anéis aromáticos com o aumento do grau de humificação. Como os valores de E_4/E_6 para substâncias húmicas são menores para solos com maior grau de evolução foi cunhada a sentença: quanto menor o valor da relação E_4/E_6 maior é o grau de aromaticidade das substâncias húmicas. Ainda em 1977, Chen e colaboradores argumentaram contra essa assunção medindo indiretamente a aromaticidade ou ramificação de biopolímeros utilizando medidas viscosimétricas e não encontrando qualquer relação com valores de E_4/E_6 .

A Figura 5.7 foi construída a partir de valores da razão E_4/E_6 para ácidos húmicos de vários solos tropicais e de valores obtidos do grau de aromaticidade por RMN ^{13}C (que reflete a proporção de C em anéis aromáticos e em olefinas no material húmico). Demonstra também a ausência de uma relação entre valores E_4/E_6 e o grau de condensação aromática das substâncias húmicas.

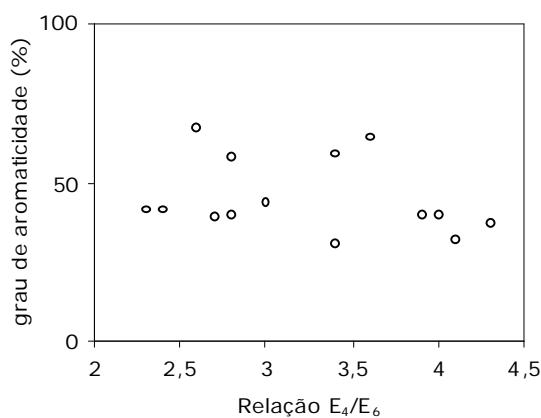


Figura 5.7. Correlação entre valores de relação E_4/E_6 e grau de aromaticidade de ácidos húmicos obtidos por RMN ^{13}C . Adaptado de Canellas et. al. (2000, 2002 e 2003).

Entretanto, os valores de E_4/E_6 apresentaram forte correlação com valores de viscosidade (-0,95**), conteúdo de C (-0,73**) e de O (0,82**), de acidez total (0,62*) e de grupos COOH (0,62*).

É quase impossível a obtenção de espectros de UV-VIS para cromóforos individuais na matéria orgânica em solução, pois os cromóforos estão presentes em grande número e são de vários tipos. Além disso, as vibrações internas, as rotações moleculares e as interações entre as moléculas

alargam as bandas de absorção nos espectros de substâncias húmicas e somente alguns picos específicos são apontados ocasionalmente. No entanto, uma tentativa de utilizar a espectroscopia de UV, para obtenção de parâmetros estruturais de substâncias húmicas, foi realizada por Korshin e colaboradores (1997). Essa tentativa está baseada no estudo da absorbância de uma molécula simples, o benzeno. No benzeno, elétrons no estado fundamental (A_0) absorvem *quanta* de luz e são promovidos ao orbital antiligante π^* na transição $A_0 \rightarrow E$ que ocorre pela absorção da luz em 180 nm, conhecida como banda de excitação local (EL). A banda de absorção é muito intensa ($\epsilon = 60\,000\,cm^2\,mol^{-1}$). A transição do benzeno, conhecida como $A \rightarrow B$ (segundo estado excitado), é chamada de transição benzenóide (Banda K) e tem menor intensidade ($\epsilon = 7400\,cm^2\,mol^{-1}$). A transição é proibida onde a absorção de luz tem lugar devido a perturbações vibracionais para o sistema eletrônico π . A terceira banda de absorção corresponde à transição $A \rightarrow B_2$, centrada em 253 nm, e apresenta a menor intensidade ($\epsilon = 204\,cm^2\,mol^{-1}$), pois é muito forte a proibição quanto-mecânica. A banda em 253 nm é característica de espectros de compostos aromáticos e é sempre chamada banda de transferência de elétrons (TE). A intensidade das bandas de TE é afetada pela presença de grupos funcionais polares nos anéis como hidroxilas, carbonilas, carboxilas de ácidos ou ésteres que aumentam a absorvidade molar. Ao contrário, grupos não-polares, tais como, cadeias alifáticas, não aumentam a intensidade de absorção, com ϵ permanecendo abaixo de $300\,cm^2\,mol^{-1}$.

A energia de um quantum de luz é inversamente proporcional ao comprimento de onda,

$$E = \frac{1240}{\lambda} \text{ em elétrons-volt (eV); } E = \frac{28636}{\lambda} \text{ em Kcal mol}^{-1} \text{ ou } E = \frac{119809}{\lambda} \text{ em KJ mol}^{-1}$$

para λ em nm. Assim, para a matéria orgânica dissolvida, o espectro de UV representa a sobreposição das bandas de excitação local (EL), das bandas B e das bandas de transferência de elétrons (TE), em que cada uma é contribuição de todos os cromóforos presentes. Korshin e colaboradores (1997) postulam que, apesar da sobreposição das bandas EL, B e TE, elas não perdem sua identidade e podem ser analisadas por UV. Desta maneira, mesmo sendo as bandas geradas por absorções individuais numerosas, os limites de cada banda (EL, B ou TE) excedem qualquer banda individual. Em termos gerais, é possível dizer que para compostos aromáticos individuais, a razão entre as bandas TE (253 nm) e B_2 (203 nm) é baixa para qualquer composto benzênico não-substituído (0,027), aumentando com o grau de substituição por OH, C=O, CO₂H, especialmente por ésteres carboxílicos, com valores acima de 0,4. A relação A_{TE}/A_{B_2} pode então ser usada como um indicador da reatividade das moléculas e de sua tendência de participação em reações como as de complexação ou adsorção, uma vez que os valores da relação A_{TE}/A_{B_2} são menores para compostos com anéis aromáticos com baixo grau de substituição ou parcialmente substituídos por grupos alifáticos mais apolares, enquanto a substituição, por grupos funcionais como OH, C=O, CO₂H, aumenta os valores da relação A_{TE}/A_{B_2} . É possível então obter, com a espectroscopia de UV, um bom indicador da hidrofilicidade ou hidrofobicidade das substâncias húmicas. Assim, o valor da razão A_{TE}/A_{B_2} para a solução de ácidos húmicos isolados de um Neossolo Lítico, é maior (1,01) do que o obtido para ácidos húmicos isolados de um Latossolo Amarelo Coeso típico (0,87), o que demonstra um possível grau mais elevado de substituição nos anéis aromáticos, por grupos polares, no material humificado isolado do solo de formação mais recente.

Espectroscopia de fluorescência

A matéria orgânica dissolvida apresenta propriedades óticas e uma parte desse material absorve radiação luminosa e a reemite parcialmente sob a forma de fluorescência. Essa

propriedade é relevante nos sistemas orgânicos que apresentam conjugação (ligações π) e torna essa espectroscopia especialmente importante para a análise de humificação e da capacidade de interação com metais.

A revisão de Sierra *et al.* (1996) indica que a fluorescência foi usada pela primeira vez no estudo da matéria orgânica como uma sonda para a avaliação do comportamento e do destino da fração fluorescente do carbono orgânico dissolvido em águas. Nos primeiros trabalhos, a fluorescência foi utilizada de forma quantitativa. Com o avanço das técnicas, os aspectos estruturais das moléculas (posição de máxima emissão, bandas de espectros de excitação, sincronizados e medidas de rendimento quântico) puderam ser aplicados. A identificação dos fluoróforos responsáveis pela fluorescência de substâncias húmidas é ainda difícil. Além disso, as propriedades de fluorescência são dependentes de uma série de parâmetros, tais como, massa molar, concentração, pH, força iônica, temperatura, potencial redox e origem das substâncias húmidas. O estudo das relações entre as propriedades de fluorescência e estes parâmetros pode, portanto, fornecer informações indiretas sobre as características moleculares e a química das substâncias húmidas.

A absorção de um *quantum* de luz promove a passagem dos elétrons π para níveis superiores de energia. Durante o retorno para o estado fundamental, uma parte da energia absorvida é reemitida, sendo este fenômeno conhecido como luminescência. Se a energia é reemitida a partir do primeiro estado singlete excitado (S_1), o fenômeno corresponde à fluorescência.

A fluorescência de um composto depende da sua estrutura molecular e está quase sempre associada ao sistema eletrônico. Os elétrons envolvidos numa ligação σ estão, geralmente, fortemente presos, sendo necessário fornecer muito mais energia para levar esses elétrons a ocuparem um orbital molecular vazio. Assim, os espectros produzidos por transições s p situam-se na zona de comprimento de ondas mais curtos do espectro eletromagnético. Os elétrons π , ao contrário, estão mais livres que os elétrons s. O espectro de emissão correspondente se situa na região de comprimentos de onda mais longo. A transição de um singuleto – singuleto associado a uma absorção de um *quantum* de luz pode resultar na transferência de um elétron p de valência para um orbital *antiligante* π^* ou da transferência de um mesmo orbital de elétrons n de heteroátomos. Esses processos são altamente prováveis em sistemas moleculares, contendo átomos com pares de elétrons livres, tais como, O, N ou sistemas conjugados com alto grau de ressonância i.e. com elétrons deslocalizados, como no caso das substâncias húmidas. Com o aumento da conjugação decorrente da formação de compostos aromáticos e incorporação de N, a energia necessária para o fenômeno da fluorescência diminui e o espectro se desloca para os comprimentos de onda maiores. A extensão de sistemas π , o grau de substituição por heteroátomos e o tipo e o número de grupos substituintes afetam a intensidade de fluorescência e o comprimento de onda de emissão.

Entre os fatores externos passíveis de influenciar a emissão de fluorescência, estão a temperatura, os efeitos dos substituintes e o solvente. Um aumento da temperatura se traduz por um aumento da probabilidade de colisões no estado excitado, aumentando as conversões internas e, em consequência, uma diminuição da eficácia de fluorescência. No que concerne aos grupos substituintes, os grupos doadores de elétrons aumentam a eficiência de emissão de fluorescência, enquanto os retiradores de elétrons reduzem a intensidade da mesma.

Existem várias formas de interferência na espectroscopia de fluorescência e o grau de perturbação do espectro de emissão de fluorescência varia devido à presença de fenômenos de difusão de luz: a difusão Rayleigh, a difusão Tyndall e a difusão Raman. As duas primeiras são difusões do tipo “elástico”, isto é, sem mudança no comprimento de onda da luz incidente.

A Raman, por outro lado, é uma difusão “inelástica”, acompanhada de um deslocamento de um determinado comprimento de onda. A difusão Rayleigh é provocada pela presença, sobre o trajeto do raio luminoso incidente, de “partículas” de tamanho muito inferior ao comprimento de onda da luz incidente, como as moléculas de água, por exemplo. A difusão Tyndall é provocada por suspensões de dimensões coloidais. Finalmente, a banda Raman provém da difusão, pelas moléculas do solvente, de uma parte da luz incidente (menos de 1%) e sua posição relativa depende da natureza das moléculas do solvente utilizado.

O comportamento geral de fluorescência de uma molécula resulta do efeito cumulativo, dependente de vários componentes estruturais da molécula e o espectro observado em qualquer dos três modos de fluorescência consiste na soma dos espectros individuais dos diferentes fluoróforos responsáveis presentes no composto. Assim, dada a heterogeneidade das substâncias húmicas, a espectroscopia de fluorescência pode ser usada como um critério de diagnóstico para distinguir esses materiais, baseado na natureza química das substâncias húmicas, gênese e origem. Entretanto, Senesi *et. al.* (1991) sugerem que a complexidade química e estrutural das substâncias húmicas são um obstáculo provavelmente insuperável para a identificação direta das estruturas individuais responsáveis pela fluorescência.

Três tipos principais de espectros podem ser obtidos para cada amostra, em função do tipo de informação desejada: o espectro de emissão, o espectro de excitação e o espectro de excitação/emissão sincronizado.

O espectro de emissão

Para registrar o espectro de emissão de um composto, irradia-se a amostra com um comprimento de onda de excitação fixo e mede-se a intensidade da luz reemittida, numa faixa espectral definida. O comprimento de onda de excitação ideal para registrar um espectro de emissão de um composto fluorescente determinado, é, em geral, escolhido em função de seu espectro de absorção. Na maior parte dos casos, este comprimento de onda corresponde ao máximo de absorção. Os espectros de emissão das substâncias húmicas são geralmente caracterizados por uma banda larga de absorção, com intensidade relativa e comprimento máximo de absorção, que varia numa faixa limitada para substâncias húmicas de mesma natureza e origem, mas altamente dependente do material húmico estudado. O ombro de absorção entre 410 – 415 nm corresponde ao efeito de difusão Raman da água.

O espectro de excitação

Para registrar um espectro de excitação, faz-se variar o comprimento de onda da excitação enquanto o comprimento de onda de observação (emissão) é mantido constante. O comprimento de onda de observação ideal é aquele que corresponde à posição do máximo do espectro de emissão do composto considerado. Para um composto puro, a forma do espectro de excitação corrigido deve ser similar, se não idêntica, àquela de seu espectro de absorção, independentemente do comprimento de onda de observação, se todos os estados excitados produzidos pela absorção se transformarem, por conversão interna, até o nível vibracional mais baixo do primeiro estado singuleto excitado. O espectro de excitação das substâncias húmicas apresenta maior resolução que os de emissão e são caracterizados por um número de picos e ombros de absorção localizados em três regiões: longo (480-440 nm); intermediário (400-380 nm); e curto (360-300 nm). Os ácidos húmicos de turfas e sedimentos apresentam máximos na região

de comprimento longo de onda. Senesi *et. al.* (1991) observaram cinco classes distintas de espectro. Os espectros do tipo I foram caracterizados por comprimentos de ondas altos, tanto de emissão (>520 nm) como de excitação (>465 nm). Ácidos húmicos isolados de turfas, leonardita e da maioria dos solos estudados por Senesi foram classificados como tipo II, com um comprimento alto para o máximo de absorção no modo de emissão (520-500 nm) e dois picos muito próximos de excitação (450 nm e 465 nm). Alguns ácidos húmicos de solos apresentam uma pequena modificação na característica de absorção no modo de emissão em comprimentos um pouco menores (500-460 nm) e um máximo do pico de excitação em comprimentos maiores de onda (450 –460 nm). Ácidos húmicos originados de fungos de solo e os isolados de vermicomposto e de turfas foram agrupados no tipo IV de fluorescência que corresponde à presença de máximo de absorção em comprimentos menores (470-440 nm) e pico de maior absorção na excitação em 395-385 nm. Por último, o tipo V corresponde às características de absorção de ácidos húmicos isolados de lodo de esgoto com comprimento máximo de emissão na faixa mais curta (<440 nm) e máximo de excitação comparado aos ácidos húmicos do tipo IV i.e. (entorno de 390 nm) acompanhado de um pico de absorção típico em comprimento mais baixo de onda (cerca de 340 nm).

O espectro sincronizado

Os espectros sincronizados são obtidos pela varredura simultânea de uma faixa espectral de comprimentos de onda de excitação e de emissão, apresentando um intervalo ($\Delta\lambda$) constante entre eles. Esta técnica tem sido utilizada para estudar misturas de fluoróforos e, em alguns casos, espectros bem resolvidos puderam ser obtidos a partir de misturas para as quais, por espectrofluorimetria convencional, obtinham-se espectros com bandas sobrepostas. O intervalo ($\Delta\lambda$) a ser utilizado para um determinado composto é, em geral, escolhido empiricamente. Quando o espectro de excitação e o de emissão são simétricos, o melhor ($\Delta\lambda$) é aquele que representa o intervalo, expresso em comprimentos de onda, entre os máximos de excitação e de emissão. Teoricamente, os espectros sincronizados de substâncias húmicas deveriam apresentar melhor resolução do que os obtidos pelo modo convencional. No entanto, isso não foi observado para todos os tipos de ácidos húmicos estudados por Senesi *et al.* (1991).

A fluorescência é um método de análise relativamente simples, muito sensível e não destrutivo que se aplica a numerosas moléculas. Apesar dessas vantagens, muitos laboratórios hesitam ainda em utilizar esse método por falta de calibração entre os resultados obtidos com diferentes instrumentos.

Para determinar as características próprias de fluorescência de uma molécula é necessário corrigir o espectro de excitação pela variação, com o comprimento de onda, da intensidade da fonte de excitação e também pela variação da transmissão do monocromador de excitação. Para a emissão, aplica-se uma correção para a variação de resposta do monocromador de emissão e do fotomultiplicador, com o comprimento de onda. Estas correções são fundamentais, se os resultados obtidos por diferentes instrumentos fossem comparados entre si ou ainda para o estudo das propriedades de fluorescência de um determinado composto como, por exemplo, o rendimento quântico.

Unidades estruturais responsáveis pela fluorescência de substâncias húmicas

Embora a complexidade das substâncias húmicas não permita uma identificação inequívoca dos fluoróforos presentes, é possível, com o uso de hipóteses e comparações, sugerir a natureza química dos principais fluoróforos.

O aumento da extensão do sistema de elétrons π e a presença de vários grupamentos

funcionais contendo O e N têm o efeito de diminuir a diferença de energia entre o estado fundamental e o primeiro estado singlete excitado, alterando a absorção de energia para comprimentos onda de maiores, enquanto a presença de carbonilas e/ou carboxilas diminuem a intensidade relativa de fluorescência. Comprimentos de onda maiores e baixa intensidade de fluorescência podem estar associados com a presença de anéis aromáticos linearmente condensados, tendo como substituintes grupos retiradores de elétrons, tais como, carbonila/carboxila e/ou grupos insaturados com alto grau de conjugação. Comprimentos de onda menores e elevada intensidade relativa de fluorescência podem ser um indicativo de componentes estruturais mais simples, menor grau de policondensação aromática e menor nível de conjugação dos fluoróforos. A presença de substituintes doadores de elétrons, tais como hidroxilas, metoxilas ou grupo amino, aumenta a intensidade relativa de fluorescência devido ao aumento da probabilidade de transição entre o estado fundamental e o primeiro estado excitado. A Tabela 5.2, adaptada de Senesi *et. al.* (1991), mostra algumas unidades estruturais isoladas que apresentam elevada intensidade relativa de fluorescência.

Tabela 5.2 – Principais fluoróforos e máximos de absorção correspondentes (Adaptado de Senesi *et al.*, 1991)

	salicilato de metila λ_{em} max. 448 nm λ_{exc} max. 302, 366 nm		xantonas e hidroxixantonas λ_{em} max. 410 nm λ_{exc} max. 314 nm
	ácido salicílico λ_{em} max. 410 nm λ_{exc} max. 314 nm		flavonas e isoflavonóides λ_{em} max. 415-475 nm λ_{exc} max. 313-365 nm
	ácido 3-hidroxibenzóico λ_{em} max. 423 nm λ_{exc} max. 314 nm		hidroquinolinas λ_{em} max. 450 nm λ_{exc} max. 350 nm
	ácido protocatecóico λ_{em} max. 455 nm λ_{exc} max. 340, 370 nm		β -naftol (ionizado) λ_{em} max. 460 nm λ_{exc} max. 350 nm
	ácido 3-hidroxicinâmico λ_{em} max. 407 nm λ_{exc} max. 310 nm		cumarinas não substituídas λ_{em} max. 454 nm λ_{exc} max. 376 nm hidroximetoxi λ_{em} max. 400-475 nm λ_{exc} max. 320-343 nm
	ácido cafeico λ_{em} max. 440 nm λ_{exc} max. 350 nm	derivados de bases de Schiff	λ_{em} max. 470 nm λ_{exc} max. 360-90 nm
	ácido ferúlico λ_{em} max. 410 nm λ_{exc} max. 314 nm		

Muito dos compostos apresentados na tabela são considerados precursores das substâncias húmicas. A Figura 5.8 mostra um espectro típico de substâncias húmicas de baixa massa molecular com uma série de ombros de absorção na região de menor comprimento de onda.

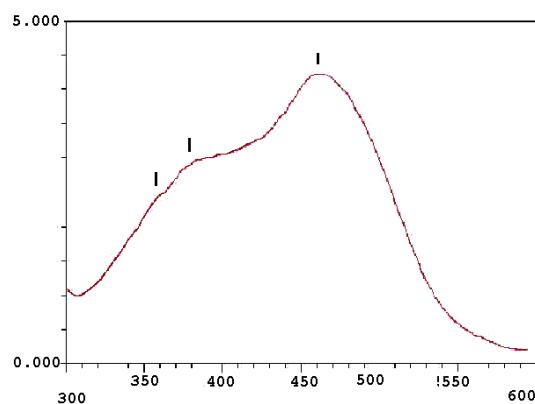


Figura 5.8 - Espectro de emissão de fluorescência de um ácido húmico isolado de torta de filtro com excitação fixa em 465 nm.

Aplicações de fluorescência ao estudo da matéria orgânica

A espectroscopia de fluorescência permite diferenciar, rapidamente, as diversas frações humificadas do solo, uma vez que o comprimento máximo de emissão e excitação se encontram em faixas de λ maiores para os AH em relação aos AF. Haytase & Tsubota (1985) conseguiram uma clara diferenciação entre AH e AF, sendo os AH portadores de grupos aromáticos em cadeias mais condensadas. Os espectros sincronizados permitem, de acordo com Sierra *et al.* (2005), obter inclusive uma espécie de impressão digital para as diferentes substâncias húmicas.

As moléculas com menor faixa de distribuição de massa molecular apresentam maior intensidade de fluorescência. Assim, foi possível correlacionar a diminuição da intensidade de fluorescência em λ menores com o aumento da evolução da matéria orgânica humificada. O processo de compostagem de resíduos orgânicos pode ser analisado como um modelo otimizado do processo natural de humificação da matéria orgânica. Nesse sentido, Mikki *et al.* (1997), avaliando a compostagem por meio da fluorescência de AH, observaram uma diminuição de intensidade de fluorescência com o aumento do tempo de compostagem. O pico máximo do espectro de emissão apresentava-se em comprimentos de onda maiores. O espectro de excitação confirmou o aumento da humificação com a compostagem, uma vez que foi observado incremento na intensidade dos picos intermediários e dos de maior comprimento de onda. Além disso, os espectros eram bem simplificados à medida que aumentava o grau de maturação dos AH, apresentando menor número de ombros de absorção. Os resultados foram explicados como reflexo do aumento da policondensação e da conjugação de estruturas insaturadas nos AH, bem como da maior uniformidade entre os fluoróforos presentes. Esses resultados foram qualitativamente repetidos por uma série de autores. Segundo Millori *et al.* (2000), o fenômeno de fluorescência é baseado na emissão de luz quando ativado por radiação UV ou VIS de baixo λ . A transição singlet-singlet associada à absorção de um *quantum* de luz resulta na transferência de elétrons π de valência da molécula para o orbital antiligante π^* .

ou na transferência, para o mesmo orbital, no caso de elétrons n de heteroátomos, caso presentes. É provável ocorrer a fluorescência se existirem, então, átomos com pares de elétrons livres, tais como, O e N, grupos aromáticos e ligações duplas conjugadas com grau elevado de ressonância (deslocalização eletrônica). No caso das substâncias húmicas, quando aumenta a conjugação das ligações duplas (e.g. aumento de anéis aromáticos) e o teor de heteroátomos (e.g., N), a energia decresce e a absorção muda para maiores λ . Assim, Milori *et al.* (2000), ao excitarem as substâncias a 465 nm, observaram que a intensidade de fluorescência correspondia ao incremento de fluoróforos típicos de materiais mais humificados. Milori *et al.* (2002) relacionaram, então, a intensidade do espectro de emissão obtido com ácidos húmicos excitados em comprimento de onda no azul (465 nm), com o grau de humificação em áreas cultivadas no sistema de plantio direto. Constatou-se uma alta correlação entre a emissão de fluorescência e o conteúdo de radicais livres do tipo semiquinona obtidos por ressonância paramagnética de elétrons. A facilidade de operação e a simplicidade de obtenção dos espectros credenciam a espectroscopia de fluorescência como uma ferramenta muito útil para a obtenção do grau de humificação das substâncias húmicas. O problema está mais associado à definição do grau de humificação do que à obtenção dos espectros de fluorescência. Rosa *et al.* (2005) definiram a humificação como o processo de transformação da matéria macroorgânica morfológicamente identificável até compostos amorfos que, como regra geral, envolvem mudanças na composição química por meio da oxidação preferencial de polissacarídeos, preservação seletiva de compostos orgânicos mais recalcitrantes à degradação biológica, tais como, ligninas e polifenóis e, ainda, incorporação de compostos orgânicos de origem microbiológica. Grupamentos fenólicos formados durante o processo de decomposição da matéria orgânica podem produzir estruturas do tipo quinonas, mediante reações de oxidação. Essas estruturas são precursoras dos radicais livres do tipo semiquinonas que causam fluorescência e que, teoricamente, deve ser intensificada com o estágio mais avançado de humificação. Rosa *et al.* (2005) observaram alto grau de correlação entre a área do espectro de emissão, com excitação fixa em 465 nm, e o conteúdo de radicais livres em ácidos húmicos isolados de solos da Amazônia brasileira.

Além da abordagem proposta por Milori *et al.* (2002) para avaliar o grau de humificação das substâncias húmicas, existem outros métodos envolvendo a espectroscopia de fluorescência.

O método proposto por Zsolnay e colaboradores (1999) fornece um espectro de emissão na faixa de 350 a 650 nm, com excitação fixa em 240 nm. O pressuposto do método é que com o aumento da humificação, ocorre aumento do conteúdo de grupamentos fluoróforos, e a intensidade do espectro de emissão tende a aumentar para as regiões de maior comprimento de onda. Assim, Zsolnay e colaboradores (1999) dividiram o espectro de emissão em quatro regiões, calculando a razão entre a intensidade de fluorescência do último quarto de emissão (570-641 nm) pela intensidade do primeiro quarto de emissão (356 e 432 nm), o que fornece uma relação denominada A_4/A_1 , onde os valores maiores correspondem a um maior grau de humificação. Outra maneira de determinar o grau de humificação por fluorescência diz respeito ao uso do modo sincronizado de fluorescência ($\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{exc} = 55$ nm). Segundo Milori, por meio deste método, conhecido como de Kalbitz e colaboradores (1999), o espectro sincronizado de fluorescência de substâncias húmicas apresenta dois picos entre 360 e 400 nm e um ombro ao redor de 470 nm. A mudança no perfil de fluorescência corresponde a uma mudança no grau de humificação. Por exemplo, o material humificado com maior grau de evolução sofreria uma mudança na intensidade de fluorescência para comprimentos de onda

maiores, associados à possível presença de compostos aromáticos com maior grau de substituição ou de sistemas insaturados com maior extensão de conjugação. Desse modo, a razão da intensidade de fluorescência entre 400 e 360 nm ou 470 e 360 nm pode ser usada para medir o grau de humificação. O uso do método de determinação do grau de humificação preconizado por Milori e colaboradores (2002) apresenta algumas vantagens quanto à facilidade de obtenção do espectro e simplicidade da teoria. A Figura 5.9 mostra a intensidade de fluorescência na espectroscopia de emissão, com excitação fixa no azul (465 nm) de ácidos húmicos isolados da camada superficial de um Argissolo com diferentes coberturas vegetais. Os valores da intensidade de fluorescência foram correlacionados com os valores da relação E_4/E_6 e acidez total (Canellas *et al.* 2004).

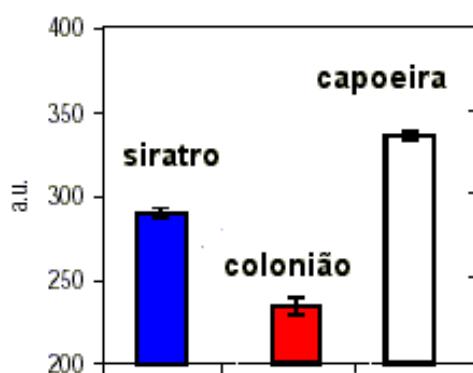


Figura 5.9. Intensidade de fluorescência de ácidos húmicos isolados da camada superficial (0-0,05 m) de um Argissolo Vermelho Amarelo coberto com floresta secundária (capoeira), capim colonião ou com leguminosa perene (siratro). Adaptação de Canellas *et al.* (2004).

O grau de humificação de ácidos húmicos isolados de solos da Reserva Biológica União em Rio das Ostras-RJ, um reduto de preservação de remanescente da Mata Atlântica, foi estudado por Miranda (2005). Diversos métodos foram empregados (composição e relações atômicas, acidez total, E_4/E_6 , espectroscopia de infravermelho), porém o que permitiu discriminar os AH com mais precisão foi a espectroscopia de emissão de fluorescência com excitação fixa em 465 nm ($A_{465\text{nm}}$). O grau de humificação diminui com a profundidade do solo, como observado por Rosa *et al.* (2005). Além disso, nas áreas com cobertura vegetal original da Mata Atlântica, a $A_{465\text{nm}}$ foi maior em relação aos AH isolados de plantios abandonados de eucaliptos dentro da reserva biológica, como pode ser observado na Figura 5.10.

Além da possibilidade de avaliar o grau de humificação das substâncias húmicas, a espectroscopia de fluorescência é particularmente útil para avaliar a interação dessas substâncias com íons e compostos orgânicos apolares.

A irradiação de substâncias húmicas com luz UV pode provocar mudança na distribuição de tamanho molecular pela cisão de cadeias (Allen, 1976) e flexibilidade molecular (Ranby & Rabek, 1975) com a formação de ligações duplas. A mudança provocada pela fotólise por UV pode ser usada para estimar a influência da massa molecular e da flexibilidade sobre a interação de AH com compostos orgânicos não-polares dissolvidos. A espectroscopia de fluorescência é a técnica indicada para esse tipo de estudos (Engebretson & von Wandruszka, 1994; Engebretson *et al.*, 1996).

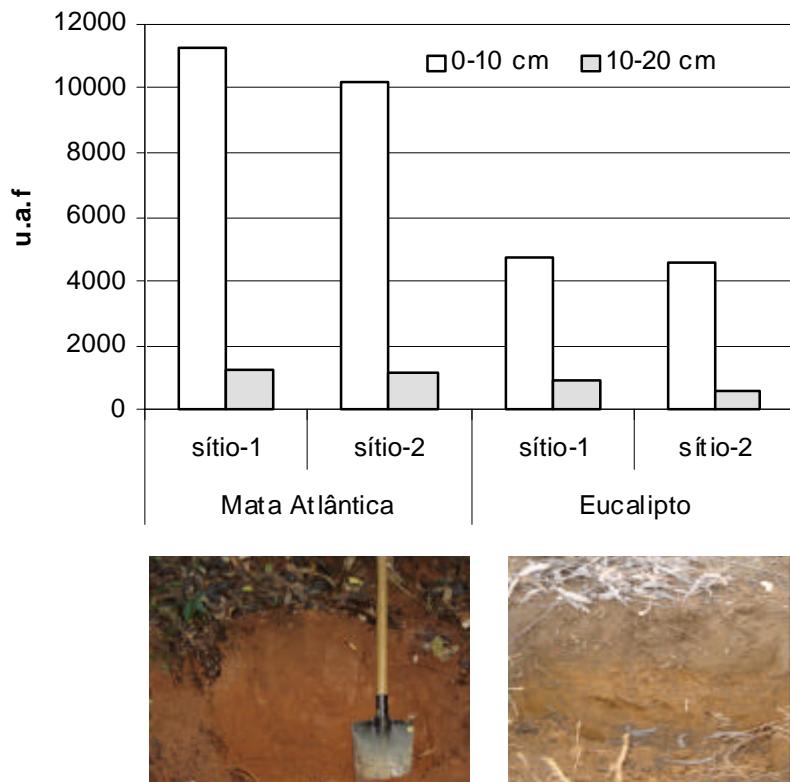


Figura 5.10. Intensidade de emissão de fluorescência com excitação fixa em 465 nm ($A_{465\text{nm}}$) em unidades adimensionais de fluorescência (u.a.f.) em dois sítios de Mata Atlântica e com plantios abandonados de eucaliptos. Adaptação de Miranda (2005).

Wandruszka & Engebretson (1997) verificaram que, com a fotólise provocada pela radiação UV, ocorre uma cisão nas cadeias das substâncias húmicas em solução, indicando uma tendência de reduzir a capacidade de associação dessas pequenas unidades hidrofóbicas, envolvendo a quebra de ligações co-valentes e dissociação de conglomerados húmicos devido à dissociação das ligações H. Esse fenômeno foi observado por meio da cromatografia por exclusão de tamanho. Um índice de associação para os AH foi proposto a partir da espectroscopia de fluorescência.

A interação de substâncias húmicas com cátions metálicos foi estudada por Miano *et al.* (1988), Senesi (1990) e Cabaniss (1992). A Figura 5.11 mostra um espectro de emissão de fluorescência de AH tratados com diferentes doses de Al^{3+} . A formação do complexo implicou diminuição proporcional da intensidade de fluorescência.

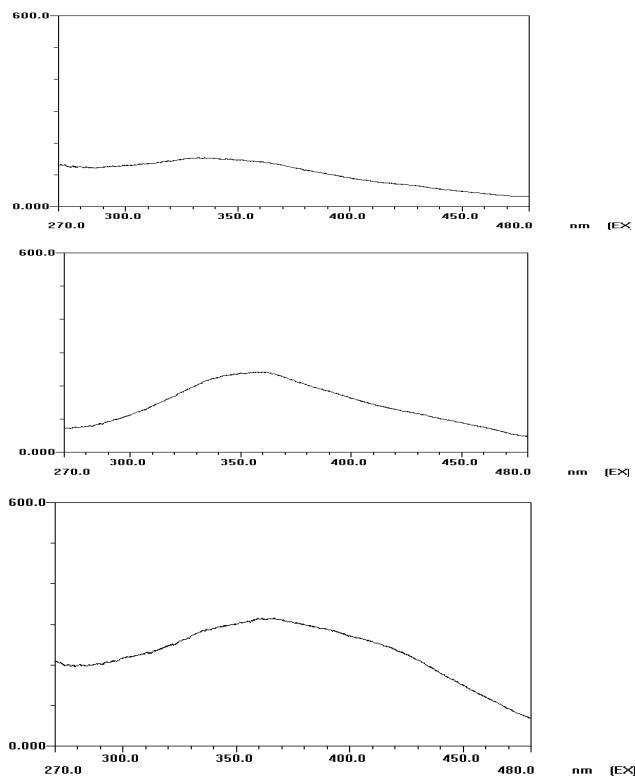


Figura 5.11. Espectro de emissão de AH isolado de vermicomposto (A) e com adição de $AlCl_3$ nas concentrações de $10^{-5}M$ (B) e $10^{-1}M$ (C)

Finalmente, mesmo que a espectroscopia na região de UV-VIS não concorra isoladamente para a elucidação da estrutura das substâncias húmicas, devido à facilidade de utilização, ela não deve ser menosprezada, uma vez que vários processos químicos e bioquímicos que ocorrem na humificação podem ser monitorados por essa técnica espectroscópica.

capítulo 6

Espectroscopia na região do infravermelho

*Luciano P. Canellas
Victor Marcos Rumjanek*

Os princípios da espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) são os mesmos da espectroscopia na região do UV-VIS, exceto que, na região do IV, a quantidade de energia é suficiente para provocar somente movimentos vibracionais nas ligações entre os átomos. A absorção da radiação na região do infravermelho pela matéria corresponde à energia de vibração e rotação associada a uma ligação co-valente. Existem dois tipos de vibrações moleculares: os estiramentos axiais (ν), que compreendem o movimento rítmico de expansão e contração ao longo do eixo da ligação, de forma que a distância interatômica varie alternadamente, e as deformações angulares (δ), ou seja, as variações no ângulo da ligação entre os átomos. Se as vibrações moleculares (estiramentos e/ou deformações) resultarem na alteração rítmica do momento dipolar da molécula, é possível a absorção no IV convencional. Portanto, as ligações que apresentam diferença de polaridade são visíveis na região do infravermelho. A espectroscopia de IV é bastante útil para o estudo de grupamentos funcionais oxigenados nas substâncias húmicas incluindo a avaliação de sítios de ligação, capacidade de complexação, capacidade de troca de cátions e do processo de humificação da matéria orgânica do solo.

Introdução

Diferentemente das poucas bandas de absorção observadas na região do ultravioleta e do visível para substâncias húmicas, o espectro de infravermelho fornece maior quantidade de bandas de absorção mais bem definidas. Algumas dessas bandas são de difícil atribuição inequívoca, ou seja, o reconhecimento da função química, responsável pela absorção, é difícil dada a complexidade intrínseca do material húmico e das numerosas sobreposições que podem ocorrer. Contudo, as bandas que podem ser assinaladas fornecem um conjunto de informações estruturais relevantes sobre as substâncias húmicas e sua reatividade.

A faixa normalmente utilizada para análise de compostos orgânicos por infravermelho se estende de 400 cm^{-1} a 4.000 cm^{-1} , numa região que compreende parte da radiação infravermelha próxima (10.000 a 1.000 cm^{-1}) e parte da faixa de infravermelho distante (1.000 a 10 cm^{-1}).

Teoria

A radiação infravermelha distante, assim chamada, pela alta energia, é absorvida por moléculas orgânicas e a energia é convertida em rotação molecular. Esta absorção é quantizada e, assim, os sinais de absorção são linhas discretas. Por outro lado, a radiação infravermelha de mais baixa

energia, ou IV próximo, é também absorvida pelas moléculas orgânicas, mas é transformada em vibração. Estas absorções também são quantizadas, mas os espectros vibracionais apresentam-se como uma série de bandas mais largas, pois uma única mudança de nível vibracional é acompanhada de várias mudanças na energia rotacional. Há dois modos fundamentais de vibração das moléculas: o estiramento, onde a distância entre dois átomos da molécula aumenta ou diminui, mas os átomos permanecem no mesmo eixo de ligação, e as deformações, em que a posição do átomo muda em relação ao eixo original da ligação.

As posições das bandas num espectro de IV são dadas em número de onda \bar{n} cuja unidade é o centímetro recíproco, cm^{-1} . Antigamente, era usado o comprimento de onda, λ , e a unidade usada era o μ . Cabe ressaltar que o número de onda é diretamente proporcional à energia necessária para cada vibração diferente. O número de onda é erroneamente chamado de freqüência, v . O erro ocorre, pois o número de onda é proporcional a $1/\lambda$ enquanto a freqüência é proporcional a c/λ , onde c é a velocidade da luz.

O espectro de infravermelho consiste na representação gráfica da correlação entre a intensidade de absorbância (A), ou transmitância (T), e a energia da radiação de IV, expressa em número de ondas \bar{n} . A relação entre A e T é dada pela equação,

$$A = \log \frac{1}{T}$$

A posição de uma banda de absorção depende das massas relativas dos átomos, das constantes de força da ligação e da geometria dos átomos envolvidos numa ligação. No entanto, a absorção só ocorre se houver uma variação rítmica no momento dipolar da ligação. O campo elétrico alternante, que é produzido pela mudança de distribuição de carga, ocorre com a vibração e acopla a vibração molecular ao campo elétrico oscilante da radiação eletromagnética. A equação abaixo, derivada da lei de Hooke, descreve a absorção na espectroscopia IV de uma ligação entre dois átomos,

$$\bar{n} = \frac{1}{2pc} \sqrt{\frac{f}{m_1 m_2}} \sqrt{\frac{m_1 + m_2}{m_1 m_2}}$$

onde \bar{n} é o número de onda, c é a velocidade da luz no vácuo, f é a constante de força da ligação e m_1 e m_2 são as massas dos átomos envolvidos na ligação.

Assim, a posição da banda de absorção relativa ao estiramento de uma ligação C-H pode ser calculada da seguinte forma:

$$f = 500 \text{ M m}^{-1} = 5,0 \times 10^2 \text{ kg s}^{-2} \quad (1\text{N} = 1 \text{ kg m s}^{-2})$$

$$m_{\text{carbono}} = 20 \times 10^{-27} \text{ kg} \quad m_{\text{hidrogênio}} = 1,6 \times 10^{-27} \text{ kg}$$

$$\bar{n} = 9,3 \times 10^{13} \text{ s}^{-1} \text{ (Hz)} \sim 2950 \text{ cm}^{-1}$$

Este cálculo não leva em consideração a influência dos outros átomos da molécula. Cálculos mais elaborados levam esses efeitos em consideração, mas não são contemplados neste capítulo.

Modos de vibração moleculares

Uma molécula não-linear que contém n átomos tem $3n-6$ vibrações fundamentais que podem ser responsáveis pela absorção de luz na região do infravermelho. Para que uma determinada vibração resulte em absorção, deve causar variação no momento dipolar da molécula. Algumas entre as várias vibrações de estiramento e deformação de uma ligação estão representadas esquematicamente na Figura 6.1.

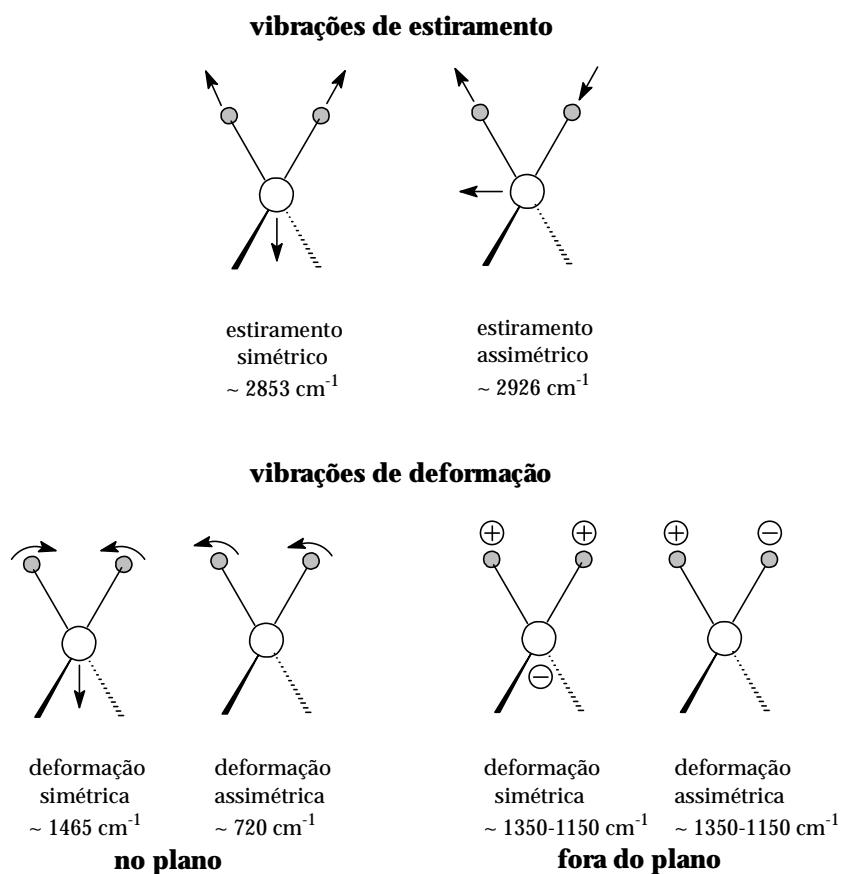
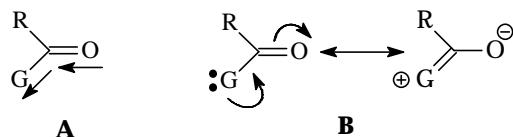


Figura 6.1. Esquema representativo das vibrações num grupamento CH_2 (+ e - significam vibrações perpendiculares ao plano do papel)

Efeitos da estrutura sobre a posição das bandas de absorção

Segundo a equação derivada da lei de Hooke, a posição de uma banda de absorção depende basicamente da força da ligação e das massas dos átomos que formam esta ligação. Assim, se aumentamos a força da ligação, aumenta o número de onda. Ligações duplas ($1900-1500 \text{ cm}^{-1}$) e triplas ($2300-2200 \text{ cm}^{-1}$) requerem progressivamente mais energia para vibrar do que uma ligação simples ($1300-800 \text{ cm}^{-1}$). As diferentes carbonilas das funções orgânicas também absorvem energia em diferentes números de onda. Segundo o esquema a seguir,



se o substituinte da carbonila é um grupo retirador de elétrons (A), muito eletronegativo, a ligação dupla C=O é encurtada, consequentemente tornando-se mais forte, e a posição da banda é em número de onda alto (mais energia é necessária para vibrar a ligação). Se, ao contrário, o grupamento é doador de elétrons (B), há a possibilidade de ressonância, e a deslocalização dos elétrons reduz o caráter de ligação dupla de C=O, enfraquecendo-a e, assim, a absorção se dá em número de onda menor. Estes efeitos estão resumidos na Tabela 6.1.

Tabela 6.1 – Efeito do substituinte numa carbonila sobre a posição de absorção.

Efeito retirador de G	
G	n C=O (cm⁻¹)
F	1869
Cl	1815-1785
Br	1812
OH	1760
OR	1750-1735
Efeito doador de G	
G	n C=O (cm⁻¹)
NH ₂	1695-1650
SR	1720-1690

Quanto menor a massa reduzida de uma ligação, mantida a força da ligação, mais energia é necessária para a sua vibração. Desta maneira, uma ligação C-C possui uma banda de absorção em 1300-800 cm⁻¹, enquanto uma ligação C-H absorve em 2900 cm⁻¹. Finalmente, a possibilidade de formação de ligação hidrogênio afeta a posição da banda de absorção de uma ligação X-H, onde X é um elemento muito eletronegativo, pois a ligação hidrogênio



enfraquece a ligação X-H. A Tabela 6.2 resume estes efeitos, para X= O.

Tabela 6.2 – Efeito de ligação hidrogênio sobre a banda de absorção de O-H

Redução de freqüência em cm ⁻¹		
Força da ligação X—H ^{...} Z	Ligação intermolecular	Ligação intramolecular
fraca	300	<100
média		100-300
forte	>500	>300

Os espectros na região de IV de ácidos húmicos são relativamente simples, quando comparados aos das substâncias puras, possuindo poucas bandas de absorção e geralmente alargadas. A complexidade do ambiente químico que envolve os grupamentos funcionais dos ácidos húmicos, cada

um caracterizado por uma constante de força diferente para cada ligação, tem como resultado final uma série de sobreposições de bandas de absorção. A mistura complexa de unidades orgânicas que caracterizam o material húmico acaba simplificando o espectro de infravermelho. A espectroscopia, nessa região eletromagnética, apresenta limitações para a caracterização estrutural, mas pode ser muito útil no indicativo da presença e do comportamento dos grupamentos funcionais, principalmente os oxigenados.

Stevenson (1994) classificou os espectros de substâncias húmicas em três tipos, sendo os AH enquadrados em espectros do tipo 1 e 3.

- Os espectros de tipo 1 são caracterizados por bandas de absorção fortes e evidentes em 3400 cm^{-1} , 2900 cm^{-1} , 1720 cm^{-1} , 1600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} . A absorção na região de 1600 cm^{-1} possui intensidade semelhante a absorção em 1200 cm^{-1} .

- Os espectros do tipo 2 são característicos de moléculas húmicas de menor massa molecular (ácidos fúlvicos) e, além dessas absorções, apresentam uma absorção muito intensa em 1720 cm^{-1}

- Os espectros do tipo 3 apresentam as mesmas absorções características dos espectros do tipo 1, porém a absorção em 2900 cm^{-1} é mais intensa e, além disso, ocorre o aparecimento de uma absorção forte em 1540 cm^{-1} .

Os principais sistemas de ligações que apresentam absorção no infravermelho das substâncias húmicas são descritos a seguir:

Sistemas C-H

Os estiramentos axiais (ν) de ligações C-H encontram-se na região entre 3000 cm^{-1} e 2800 cm^{-1} . O estiramento axial simétrico (ν_s) e assimétrico (ν_{as}) de sistemas CH_2 alifáticos está situado em 2926 cm^{-1} e 2853 cm^{-1} e os dos sistemas do tipo CH_3 em 2962 cm^{-1} e 2872 cm^{-1} , respectivamente. As deformações angulares simétricas (δ_s) e assimétricas (δ_{as}) da metila estão na região de 1735 cm^{-1} e 1450 cm^{-1} e as do metileno em 1350 cm^{-1} e 1150 cm^{-1} , respectivamente. Na região de freqüência mais baixa são encontradas as deformações angulares fora do plano (900 a 675 cm^{-1}) e no plano (1300 a 1000 cm^{-1}) de C-H, em anel aromático.

Sistemas C-O

A absorção de energia de sistemas C-O por AH está centrada na região de 1250 cm^{-1} e corresponde ao ν_{as} de C-O em polissacarídeos. Estiramento axial de C-O em álcoois e fenóis dão origem a uma banda de absorção forte em 1260 a 1000 cm^{-1} . O sistema C-O-C de ésteres, epóxidos e peróxidos tem ν_s centrada na região de 1150 - 1085 cm^{-1} . As vibrações axiais de sistemas C-O presentes em ácidos carboxílicos absorvem energia na região de 1320 a 1210 cm^{-1} .

Sistemas C=C

A absorção de energia decorrente das vibrações axiais dos sistemas C=C de olefinas é encontrada na região de 1667 a 1640 cm^{-1} . As duplas ligações conjugadas de anéis aromáticos apresentam deformação angular fora do plano entre 675 e 900 cm^{-1} e, no plano, entre 1000 e 1300 cm^{-1} .

Sistemas C=O

O sistema C=O presente em cetonas, ácidos carboxílicos, aldeídos, ésteres carboxílicos, lactonas e amidas apresenta absorção de energia devido aos estiramentos axiais no eixo da ligação na região que vai de 1870 a 1540 cm^{-1} . A posição dessa absorção é influenciada pelos efeitos eletrônicos (ambiente químico) em torno da ligação. A absorção de uma cetona alifática saturada está centrada em 1715 cm^{-1} . Substituições por grupamentos que exercem efeito indutivo sobre a ligação encurtam o comprimento da ligação e deslocam a absorção para um número de onda maior. Já para grupamentos que facilitam a deslocalização dos elétrons π , ressonância ou conjugação, o caráter da ligação C=O

é reduzido, e a absorção da energia ocorre numa região de menor número de onda. Sistemas C=O, em cetonas, absorvem energia em 1720 cm^{-1} . A formação de pontes de H aumenta o comprimento de onda, deslocando a absorção para região em torno de 1760 cm^{-1} . Sistemas C=O de quinonas, que estão em ressonância com o anel, têm absorção em 1690 a 1655 cm^{-1} , muito próximo da região de absorção do íon enolato (COO⁻).

Sistemas O-H

As absorções decorrentes dos estiramentos axiais de O-H em ácidos carboxílicos são bem características, com uma banda de absorção larga e intensa centrada em 3300 cm^{-1} . Em álcoois e fenóis sem a ocorrência de interação intermolecular (ponte de hidrogênio), a absorção do estiramento axial encontra-se entre 3650 a 3585 cm^{-1} . A formação de pontes de hidrogênio desloca a absorção para regiões de menor energia situadas entre 3550 e 3200 cm^{-1} . As deformações angulares no plano de ligações C-O de álcoois e fenóis têm absorção em 1420 a 1330 cm^{-1} , e a de grupos carboxílicos entre 1440 a 1395 cm^{-1} .

O modo mais fácil de interpretar um espectro de IV-TF de substâncias húmicas é por meio da observação da inspeção de algumas regiões do espectro.

Região de absorção 3700 – 3100 cm^{-1} (OH, NH e CH)

As bandas de absorção na região de 3700 – 3100 cm^{-1} são normalmente devido a várias vibrações de estiramento OH e NH. Os grupos NH₂ podem produzir um dubbleto com separação de aproximadamente 70 cm^{-1} , quase sempre sobreposto no material húmico. Os compostos contendo OH incluem água, álcoois e fenóis. Os grupos OH ligados apresentam uma banda de absorção bem mais alargada. Os centros de absorção podem mudar para comprimentos maiores de onda e se tornarem mais agudos, se as ligações H⁺ forem rompidas. Os grupos C=C-H apresentam vibração de estiramento nessa região perto de 3300 cm^{-1} .

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Observações
3.640 - 3.610	O-H (livre)	Banda de absorção fina, mais forte quando medida em solução diluída.
3.600 - 3.200	O-H (associado/ponte de H)	3.600 - 3.500: Banda fina resultante de ligações diméricas. 3.400 - 3.200: Banda forte, larga, resultante da associação polimérica. A intensidade da banda depende da concentração.
3.200 - 2.500	O-H (quelado)	Ligaçao hidrogênio intramolecular com C=O, NO ₂ : Banda larga, de intensidade normalmente fraca e a frequência é inversamente proporcional à força da ligação.
3.500 - 3.070	N-H	a) NH ₂ livre em aminas primárias b) aminas primárias alifáticas: ~ 3.500 c) aminas aromáticas: ~ 3.400 d) NH ₂ livre em amidas: 3.500 - 3.400 e) NH ₂ associado em aminas primárias f) aminas alifáticas e aromáticas: 3.400 - 3.100 g) NH ₂ associado em amidas: 3.350 - 3.100 h) NH livre em aminas secundárias: aminas primárias alifáticas: 3.350 - 3.300 aminas aromáticas: ~ 3.450 pirróis, indóis: ~ 3.490 NH livre em amidas: 3.460 - 3.420 NH associado em aminas secundárias: 3.400 - 3.100 NH associado em amidas: 3.320 - 3.070
~ 3.300	C-H de alcinos	Confirmado pela presença de uma banda de 2.260 - 2.100 (C≡C).

Região de absorção 3000 – 3100 cm⁻¹ (Arlas, olefinas)

As vibrações de estiramento de olefinas, anéis aromáticos e anéis de três membros absorvem na região acima de 3000 cm⁻¹.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Observações
3.080 - 3.020	C-H de alcenos	
~ 3.030	C-H de aromáticos	Muitas vezes obscurecida pela sobreposição

Região de absorção 3000 – 2700 cm⁻¹ (CH alifático)

Na região abaixo de 3000 cm⁻¹ são encontradas as vibrações de estiramento C-H. Grupos CH₂ e CH₃ alifáticos podem apresentar um dbleto com separação de aproximadamente 80 cm⁻¹ com um leveira diferença de freqüência (CH₃ alifático com estiramento assimétrico em 2962 e simétrico em 2872 cm⁻¹ e CH₂ com estiramento assimétrico em 2962 e simétrico em 2853 cm⁻¹). Em amidas terciárias, os grupos CH₂ e CH₃ perto do nitrogênio absorvem ao redor de 2800 cm⁻¹. Muitos aldeídos podem absorvem em 2730 cm⁻¹.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Observações
2.960 - 2.850	C-H alifáticos	CH ₃ , CH ₂ (carbonos prim. e sec.): 2.960 - 2.850 CH (carbono terc.): 2.890 - 2.880
2.820 e 2.720	C-H de aldeídos	

Região de absorção 1900 – 1550 cm⁻¹ (carbonila, carboxila, carboxilados, amidas, quinonas)

Compostos carbonílicos absorvem fortemente nessa região. Grupos carboxílicos em ésteres saturados absorvem em 1740 cm⁻¹; aldeídos perto de 1725 cm⁻¹ e cetonas, em 1715 cm⁻¹. A conjugação pode diminuir cerca de 20 cm⁻¹ a absorção do grupo funcional. Ácidos carboxílicos absorvem perto de 1700 cm⁻¹ e amidas, em 1660 cm⁻¹. Sais do ácido carboxílico absorvem ao redor de 1600 cm⁻¹.

Compostos contendo grupos C=C absorvem na região de 1550 cm⁻¹. A maioria das olefinas absorve em 1680 – 1600 cm⁻¹ e os compostos contendo C=N absorvem entre 1690 – 1630 cm⁻¹. O grupo NH₂ tem freqüência de absorção da vibração de deformação em 1660-1590 cm⁻¹. O grupo de NH₂⁺ absorve perto de 1600 e NH₃ em 1600 e 1520 cm⁻¹. A água (H₂O) absorve perto de 1640 cm⁻¹.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Observações
2.275 - 2.250	N=C=O (isocianatos)	Banda de forte intensidade.
2.260 - 2.200	C≡N (nitrilas)	a) Nitrilas conjugadas: 2.235 - 2.210 b) Nitrilas não-conjugadas: 2.260 - 2.240
2.260 - 2.100	C=C	Pode estar ausente em acetilenos simétricos.
~ 2.260	N≡N (sais de diazônio)	
2.175 - 2.140	SC≡N (tiocianatos)	
2.160 - 2.120	-N=N=N (azidas)	
~ 2.150	C=C=O (cetenas)	
2.140 - 1.990	N=C=S (isotiocianatos)	Banda larga e intensa.
~ 1950	C=C=C (alenos)	Duas bandas para alenos terminais ou ligados a grupos de efeito -I.

Região de absorção 1620 – 1420 cm⁻¹ (Aromáticos e heteroaromáticos)

Anéis aromáticos são caracterizados por bandas de absorção perto de 1600, 1580, 1500 e 1460 que tem intensidades diferentes de acordo o substituinte.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Observações
1.760 e 1.710	C=O de ác. carboxílicos	O monômero tem banda de ~ 1.760 e o dímero, ~ 1.710. Às vezes não se observa essa banda em solventes polares.
1.750 - 1.740	C=O de ésteres	Absorção sujeita a efeitos de conjugação e de efeito indutivo.
1.740 - 1.720	C=O de aldeídos	Absorção sujeita a efeitos de conjugação e de efeito indutivo.
1.720 - 1.700	C=O de cetonas	Somente para cetonas acíclicas (dialquil-cetonas).
1.700 - 1.630	C=O de amidas	<p>a) Amidas não substituídas - livres: ~ 1.690 - associadas: ~ 1.650</p> <p>Efeito de conjugação ou efeitos indutivos causam deslocamento de cerca de 15 cm⁻¹ para freqüência mais alta. Em amidas cíclicas a freqüência é aumentada em cerca de 40 cm⁻¹ por unidade de decréscimo do tamanho do anel.</p> <p>b) Amidas N-substituídas: 1.700 - 1.630</p> <p>c) Amidas N,N-substituídas: 1.670 - 1.630</p> <p>Apresentam uma única banda.</p>
1.675 - 1.645	C=C	Intensidade usualmente de fraca a média. As bandas estão ausentes em alcenos simétricos. A presença de uma ou duas bandas adicionais de 1.650 - 1.600 ocorre em alcenos conjugados.

Região de absorção 1500 – 1250 cm⁻¹ (CH₂ e CH₃)

Na região de 1500-1400 cm⁻¹, são encontradas as vibrações de deformação CH₂ e CH₃. A deformação assimétrica de CH₃ tem centro de absorção em 1480 ⁻¹ e a simétrica em 1380 ⁻¹; já a deformação assimétrica de CH₂ tem centro em 1467 cm⁻¹. A eletronegatividade do substituinte desloca estes centros de absorção para perto de 1450 cm⁻¹ para O-CH₃, 1375 cm⁻¹ para C-CH₃ e 1265 cm⁻¹ para Si-CH₃.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Observações
1.600, 1.580, 1.500 e 1.450	C=C de aromáticos	Vibrações de núcleos aromáticos. A banda de 1.580 é intensa quando o grupo fenila é conjugado com insaturações ou mesmo ligado a átomos com pares de elétrons livres. A banda de 1.450 geralmente é obscurecida e a banda de 1.500 é normalmente mais forte.
1.590 - 1.550	NH ₂	Banda média a forte, correspondente à deformação angular simétrica no plano.
1.560 e 1.350	NO ₂	Bandas fortes de deformação axial assimétrica e simétrica, respectivamente. Ambas estão sujeitas a efeitos de conjugação. (a banda cai -30cm ⁻¹).
1.580 - 1495	N-H	Banda fraca de deformação angular, muitas vezes obscurecida pela banda de 1.560 de aromáticos. Esta banda também é usada para caracterizar aminas e amidas secundárias.

Região de 1350 – 1150 cm⁻¹ (– CH₂ e CH)

Podem ocorrer picos múltiplos de absorção em 1340-1190 cm⁻¹ devido a vibração de grupos CH₂ presentes em cadeias lineares de hidrocarbonetos.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Observações
1.470 - 1.430	CH ₂	Deformação angular de -(CH ₂) _n - sendo que para n > 3 a banda aparece na região por volta de 720 (deformação angular de cadeia).
~ 1.420	CH ₂ adjacente a carbonila	Deformação angular.
1.390 - 1.370	CH ₃	Deformação angular. Em caso de dimetil geminal, a banda aparecerá como um duplete.
1.400 - 500	C-X (X = halogênio)	a) C-F: 1.400-1.000 b) C-Cl: 800-600 c) C-Br: 750-500 d) C-I: ~ 500
1.350 - 1.310 e 1.140 - 1.200	SO ₂ (sulfona)	Bandas intensas de deformação axial assimétrica e simétrica, respectivamente.
1.420 e 1.300 - 1.200	C-O de ác. carboxílicos	Aparecem duas bandas de deformação axial, devido ao acoplamento da deformação angular no plano da ligação O-H e a deformação axial de C-O.

Região de 1300-1000 cm⁻¹ (polissacarídeos)

Nessa região, ocorrem fortes bandas de absorção devido a estiramentos da ligação C-O. Bandas de absorção na região de 1300-1150 cm⁻¹ é devido a C-O que podem variar de acordo com a ressonância *i.e.* éteres, fenóis, fenil éter. Éteres saturados absorvem energia perto de 1125 cm⁻¹ e álcoois absorvem em 1200/1000 cm⁻¹. A região entre 1100 e 830 cm⁻¹ é típica de estiramentos de Si-O presentes nos contaminantes silicatados do material húmico.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Observações
1.300 - 1.050	C-O de ésteres	a) Ésteres saturados: 1.300 - 1.050 b) Ésteres insaturados e aromáticos: 2 bandas (1.300 - 1.250 e 1.200 - 1.050)
1.275 - 1.020	C-O de éteres	a) Éteres alifáticos: 1.070 - 1.150 b) Éteres aromáticos e vinílicos: 2 bandas (1.200 - 1.275 e 1.020 - 1.075)
1.200 - 1.050	C-O de álcoois e fenóis	a) Álcool prim: ~ 1.050 b) Álcool sec: ~ 1.100 a) Álcool terc: ~ 1.150 a) Fenóis: ~ 1.200
1.340 - 1250	C-N de aromáticos	
1.280 - 1.180	C-N de alifáticos	
1.060 - 1.040	S=O (sulfóxido)	Esta banda é deslocada de 10 a 20 cm ⁻¹ para freqüência mais baixa por efeito de conjugação. Grupos metíleno na posição alfa dão origem a uma banda de ~ 1.415.
990 - 910	RCH=CH ₂	Deformação angular fora do plano.

Região entre 900-700 cm⁻¹ (deformação CH de aromáticos)

Esta região é típica da deformação no plano e fora do plano de CH de grupos aromáticos.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Observações
970 - 960	-CH=CH-	
~ 920	O-H	Banda larga (deformação angular) de média intensidade, devido à deformação angular fora do plano da C=O de ác. carboxílicos.
895 - 885	R ₂ C=CH ₂	
840 - 790	R ₂ C=CHR	C-H fora do plano.
730 - 675	-CH=CH-	C-H fora do plano.
770 - 730 e 710 - 690	Anel aromático	Deformação angular de 5 H adjacentes (anéis monossubstituídos).
770 - 735	Anel aromático	Deformação angular de 4 H adjacentes (anéis ortossubstituídos). Outros exemplos: piridina ortossubstituída, naftalenos não substituídos em um dos anéis.
810 - 750 e 710 - 690	Anel aromático	Deformação angular de 3 H adjacentes (anéis metassubstituídos e 1,2,3-trissubstituídos). Outros exemplos: naftalenos monossubstituídos na posição alfa.
860 - 800	Anel aromático	2 H adjacentes (anéis parassubstituídos e 1,2,3,4-tetrassubstituídos).
900 - 860	Anel aromático	H isolado: pode estar presente no benzeno metadissubstituído, além de outros aromáticos. A banda tem intensidade fraca.
790 - 730	Grupos etila e propila	Deformação angular. a) Etila: 790 - 720 b) Propila: 745 - 730
~ 720	-(CH ₂)n- (para n > 3)	Deformação angular de cadeia.

As principais atribuições das absorções na região do infravermelho, para os principais grupos funcionais presentes em amostras de substâncias húmicas descritos anteriormente, estão resumidas na Tabela 6.3. Estas atribuições foram baseadas nos trabalhos de Coultrup *et al.* (1964); Barnerjee & Mukherjee (1972); Bellamy (1975); Griffith & Schnitzer (1975); Sposito *et al.* (1976); Boyd *et al.* (1979); Piccolo & Stevenson (1994); Prasad & Sinha (1983); MacCarthy & Rice (1985); Lobartini & Tan (1988); Inbar *et al.* (1989); Bloom & Leenher (1989); Capriel *et al.* (1992); Barros *et al.* (1994); Stevenson (1994); Cereta *et al.* (1999).

Tabela 6.3. Principais funções químicas e região de absorção no infravermelho

Funções		estiramento	deformação
álcool primário	(CH ₂ -OH)	3330-3640 (OH) 1075-1000 (C-O)	
secundário	(CH-OH)	3330-3640 (OH) 1125-1090 (C-O)	
terciário	(C-OH)	3330-3640 (OH) 1210-1180 (C-O) 1260-1180 (C-O)	
aromático			
aminas secundárias	(CH ₂ -NH-CH ₂) (CH-NH-CH) (O-NH-R)		
metila	CH ₃ -C	as2962/s2872	as1460/ as1380
metileno	CH ₂ -C	as2962/s2853	as1467
amidas	(CO-NH ₂)		
amida mono subst.	-CO-NH-R		
amida dissubst.	-CO-NR ₂		
aldeídos alif.	-CH ₂ -CO		
aldeídos aromáticos			
cetonas alifáticas		1725-1705	
cetonas aromáticas		1700-1640	
ácidos carboxílicos		3000 (OH) 1740-1680 (C=O) 1315-1280 (C-O)	1440-1395 (OH no plano) 960-875 (OH fora plano)
carboxila ionizada		1650-1550 sim (forte) 1140-1350 as (fraca)	
ésteres		1260-1230 (acetato)	
éter	C-O-C alif	1140-1085	
	C-O-C arom.	1310-1210	
Si-O		960	

Obtenção do espectro e os espectrômetros

Como vidro e quartzo absorvem fortemente a luz infravermelha, as celas de amostras são confeccionadas com haletos de metais e a Tabela 6.3. fornece os principais materiais e as correspondentes faixas de transparência.

Tabela 6.4 – Faixas de transmissão de materiais de celas de amostra

Material	Faixa de Transparência (cm ⁻¹)
fluoreto de lítio	4000-1695
fluoreto de cálcio	4167-1299
cloreto de sódio	5000-649
brometo de potássio	1111-385
brometo de céssio	1111-385

A fonte de luz infravermelha mais utilizada é o filamento de Nerst, que é um bastão moldado contendo uma mistura de óxido de ítrio, zircônio e érbio. Pode ainda ser usado um filamento de

Nicromo em um suporte de cerâmica ou então o Globar, que é um cilindro feito de carbeto de silício. Estes materiais são aquecidos por processos elétricos até 2000°C, emitindo assim radiação infravermelha.

A Figura 6.2 mostra um esquema de um espetrômetro de IV típico.

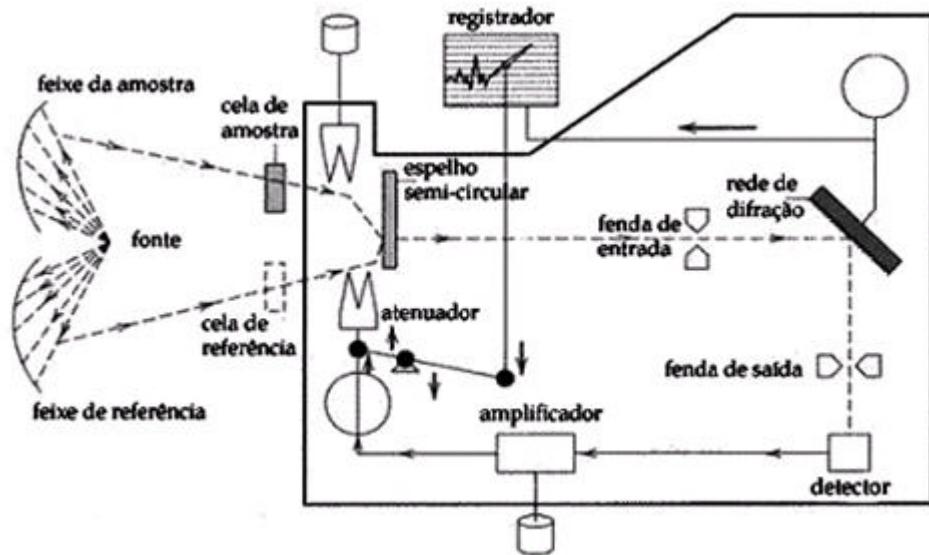


Figura 6.2. Esquema de um espetrômetro de IV com rede de difração.

O feixe de IV é dividido em dois, um para a amostra e outro para a referência. O espelho semicircular ora deixa transmitir o feixe de referência e ora, o feixe da amostra. Assim, os feixes de referência e de amostra são combinados em um só, com uma freqüência igual à de rotação do espelho semicircular. Quando os feixes são de intensidade igual, o detector não registra diferença entre eles, e a absorbância é igual a 0% (ou $T=100\%$). Os feixes combinados são focalizados na rede de difração e dispersados em suas várias freqüências que são então focalizadas no detector. Quando há diferença entre o comprimento de onda (ou número de onda) do feixe da referência e da amostra, um sinal elétrico é enviado para o registrador que acusa uma absorção. O detector é um dispositivo que mede a energia radiante pelo seu efeito térmico.

Os espetrômetros mais recentes utilizam a técnica de espetrometria de IV com transformada de Fourier, baseada na interferometria (Figura 6.3). Nesta técnica, o feixe contendo todos os números de onda é dividido em dois e um é refletido por um espelho fixo e o outro, por um espelho móvel. As diferenças entre os números de onda dos dois feixes produzem interferências construtivas ou destrutivas. O resultado de uma variação total de números de onda é uma série de oscilações da intensidade do sinal em função do tempo, chamada interferograma. A operação matemática de transformada de Fourier é então aplicada, convertendo o interferograma em um espectro que fornece a intensidade do sinal em função do número de onda. Este método possui uma série de vantagens em relação ao método tradicional. Uma vez que não há uma rede de difração, todos os comprimentos de onda atravessam a amostra simultaneamente, o que diminui o tempo de análise para menos de um segundo (o método tradicional fornece um espectro após alguns minutos). Como os dados podem ser armazenados em um computador, vários espectros da amostra podem ser somados, o que aumenta a razão sinal/ruído, consequentemente aumentando a sensibilidade do método.

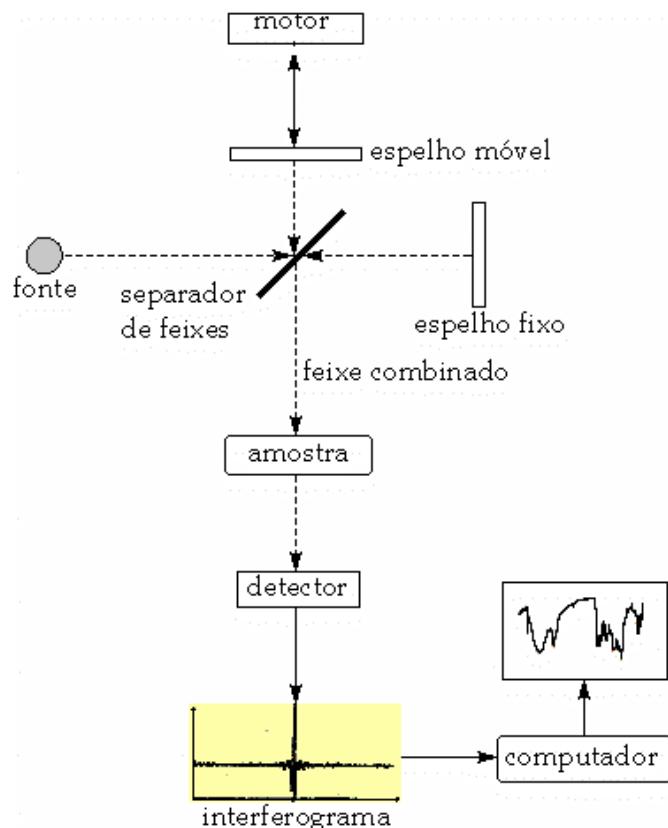


Figura 6.3 – Espectrômetro de IV com transformada de Fourier

Os espectros podem ser obtidos com amostras sólidas, líquidas e gasosas. A amostra deve ser livre de água, pois esta absorve fortemente perto de 3710 cm^{-1} e em 1630 cm^{-1} . A forma mais usual de obter um espectro de infravermelho de substância húmica é a partir de amostras sólidas, confeccionando-se uma pastilha por meio da mistura da amostra com KBr (trituração em conjunto da amostra com o KBr) e prensagem à alta pressão sob vácuo. O objetivo é a obtenção de uma pastilha transparente que corresponde a uma solução sólida de material húmico em brometo de potássio.

Substâncias húmicas ou quaisquer outras de massa molecular elevada ou aparentemente elevada e que contenham muitos grupamentos funcionais geralmente resultam em espectros de baixa resolução.

Aplicações de espectrometria de IV à análise da matéria orgânica de solos (MOS)

Muitas bandas de absorção que os compostos orgânicos apresentam na região do infravermelho não podem ser interpretadas com segurança. Esse é o caso das substâncias húmicas. A recomendação para o caso de material húmico é o uso do modo comparativo, ou seja, sempre confrontar um espectro com outro, gerando mais informações sobre os processos ocorridos no

material do que sobre a determinação estrutural.

A mais poderosa aplicação da espectroscopia de infravermelho, no caso do estudo da humificação, é sem dúvida, a possibilidade de estabelecer com segurança a identidade de duas ou mais amostras e verificar diferenças naturais ou provocadas pelo manejo, na qualidade de substâncias húmicas isoladas de solos diferentes (efeitos de processos pedogenéticos) ou de mesmo solo (efeito de manejo). A Figura 6.4 mostra os espectros na região de infravermelho de ácidos húmicos isolados de uma seqüência característica de solos da região Norte Fluminense. É possível observar similaridades nos AH isolados de solos com a mesma pedogênese.

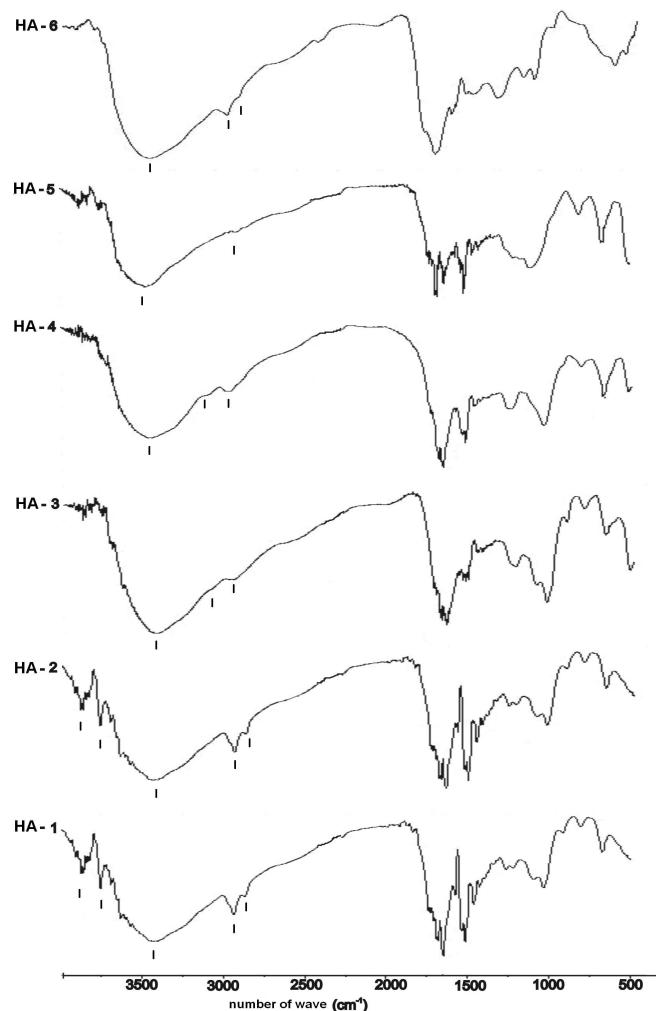


Figura 6.4. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier de ácidos húmicos isolados do horizonte superficial de uma seqüência de solos típica do Norte do Rio de Janeiro. Luvissolo Crômico Pálico abrup्तico (AH-1), Argissolo Vermelho Amarelo Distrófico (AH-2), Chernossolo Argilúvico Órtico vŕtico (AH-3), Chernossolo Rêndzico Saprolítico típico (AH-4), Latossolo Amarelo Coeso típico (AH-5) e Neossolo Litólico Eutrófico típico (AH-6).

A Figura 6.5. mostra efeito da adição de lodo da estação de tratamento de esgoto e de composto de lixo urbano em amostras de um Argissolo e de um Latossolo.

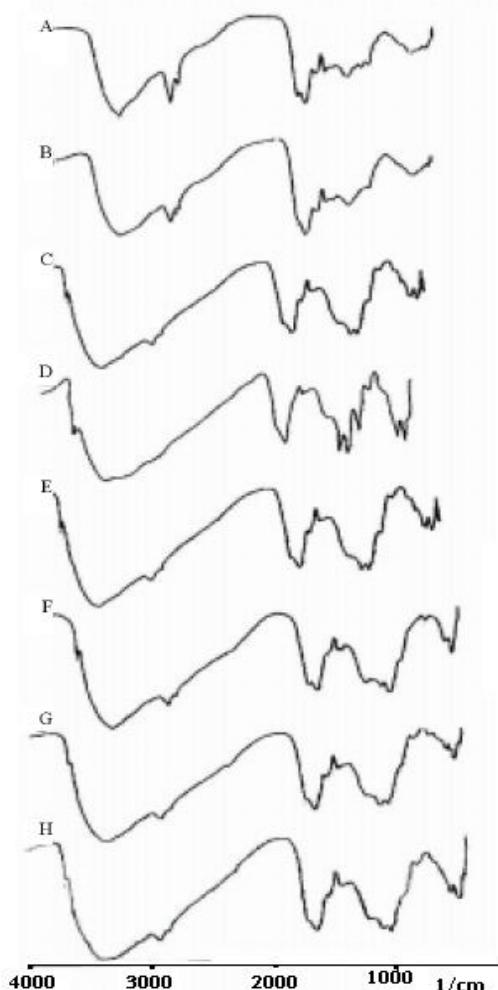


Figura 6.5. Espectros de infravermelho (cm^{-1}) de ácidos húmicos de composto de resíduos sólidos urbanos (A), de lodo da estação de tratamento de esgoto (B), de Latossolo Vermelho-Amarelo sem (C) e com a adição dos resíduos (D e E) e de Argissolo Vermelho-Amarelo sem (F) e com a adição dos resíduos (G e H). Adaptado de Canellas et al. (2001).

A incorporação de resíduos modificou a identidade química dos AH do solo.

A região do infravermelho pode ser útil para verificar o progresso de muitas reações químicas. A formação de derivados húmicos, a partir da acetilação com anidrido acético em piridina ou a metilação com diazometano pode ser monitorada por meio do aumento da absorção em 1720 cm^{-1} com aparecimento do estiramento de carbonila ($\text{C}=\text{O}$) e do estiramento C-H de metilas em 2950 cm^{-1} (CH_3), respectivamente, e a diminuição da absorção devido ao estiramento de hidroxilas em 3420 cm^{-1} ($\text{O}-\text{H}$). As diferenças nos espectros dos derivados húmicos podem ser observadas na Figura 6.6.

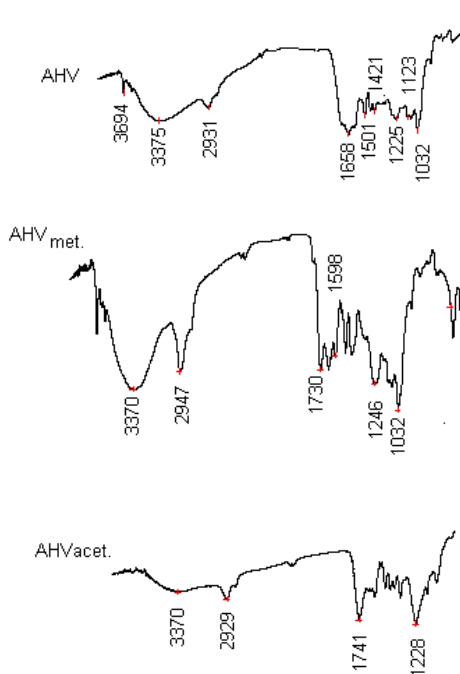
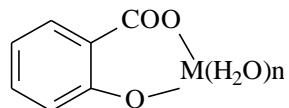


Figura 6.6. Espectros de infravermelho de ácidos húmicos isolados de vermicomposto (AHV) e de seus derivados acetilados (AHVact.) e metilados (AHVmet.). Surge uma absorção intensa em 1741 cm^{-1} e há diminuição da absorção devido à O-H com centro em 3370 cm^{-1} , depois das reações de acetilação com anidrido acético e o aparecimento da absorção intensa em 1730 cm^{-1} e o aumento da absorção em 2942 cm^{-1} , com a metilação com diazometano.

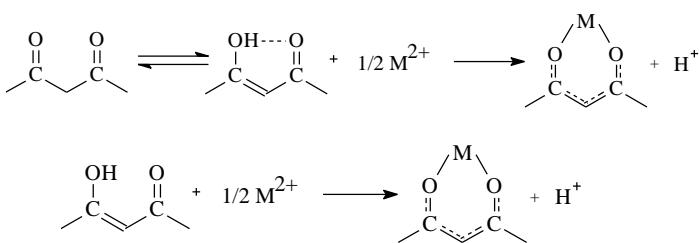
O interesse crescente na caracterização química das substâncias húmicas tem base na sua influência marcante sobre a solubilidade e mobilidade de metais-traços no solo e na complexação de nutrientes. A capacidade das substâncias húmicas de interagir com metais é normalmente atribuída ao elevado conteúdo de grupamentos funcionais contendo oxigênio, tais como, carboxilas (CO_2H), carbonilas (CO) e hidroxilas (OH). Esses grupamentos funcionais apresentam absorção marcante na região de infravermelho devido à grande diferença no momento dipolar que torna esta espectroscopia especial para o estudo da interação desses grupamentos com metais, fornecendo mais informações do que a RMN ^{13}C , por exemplo. Piccolo & Stevenson (1982) verificaram um aumento crescente na absorção entre 3450 e 3000 cm^{-1} com uma forte banda de absorção centrada em 3420 cm^{-1} com a adição crescente de Cu^{++} , Pb^{++} e Ca^{++} , sugerindo que parte dessa absorção em 3420 cm^{-1} é devida à água de hidratação do complexo a seguir.



A principal diferença entre os três íons metálicos estudados por Piccolo & Stevenson (1982) foi o ombro de absorção menos pronunciado para Cu^{++} e Pb^{++} do que para Ca^{++} em 3280 cm^{-1} , indicando o possível envolvimento de estruturas do tipo salicilato na complexação com cobre e

chumbo. A mudança do centro de absorção de 3500 para 3200 cm^{-1} , com a formação do complexo ácido fúlvico – Zn, foi observada por Tan *et al.* (1971) e por Prasad & Sinha (1983), com a formação de complexo com Zn e Cu, sugerindo ligação coordenada co-valente entre os íons metálicos e os grupos O-H.

A formação de complexos saturados com metais pode produzir o completo desaparecimento da banda de absorção em 1725 cm^{-1} e em 1230 cm^{-1} , enquanto aparecem bandas de absorção adicionais em 1600 e 1400 cm^{-1} . Essas bandas de absorção podem ser atribuídas ao estiramento assimétrico de grupos COO^- . O incompleto desaparecimento da absorção em 1720 cm^{-1} sugere que poucos grupos COO^- podem estar participando da formação do complexo. A absorção em 1660–1600 cm^{-1} pode estar associada a cetonas conjugadas que, de acordo com Piccolo & Stevenson (1982), podem formar complexos com íons de metais de transição:



O grupo C=O em cetonas conjugadas tem sua absorção mudada para região de menor energia entre 1620–1610 cm^{-1} e 1390–1309 cm^{-1} com a formação do complexo C-O-M e C=O-M. A vibração de estiramento assimétrico de COO^- (1630–1575 cm^{-1}) na formação de complexos com metais pesados tem sua freqüência mudada para 1650–1620 cm^{-1} e tem sido usada para estabelecimento da natureza da ligação iônica-covalente do complexo metal-carboxilato.

O aparecimento de bandas de absorção na região de 1070 cm^{-1} pode indicar que os polissacarídeos presentes nas substâncias húmicas podem estar envolvidos na reação com o metal, proporcionando oscilações simétricas na valência dos grupos O-O-C.

Índices relativos de hidrofobicidade e de condensação de substâncias húmicas podem ser obtidos pela análise de espectros de IV-TF, desde que observadas algumas restrições. Como a análise é semiquantitativa, os espectros devem ser obtidos nas mesmas condições, ou seja, mesma quantidade de amostra e de KBr, e os espectros devem ser gravados no modo de absorbância e a linha base de absorção corrigida ($A=0$ em 4000 cm^{-1} , 2000 cm^{-1} e 860 cm^{-1}). Inbar *et al.* (1989) acompanharam o processo de compostagem pelos índices relativos obtidos pela razão entre a absorbância de grupos polares e apolares (índice de hidrofobicidade) e a razão entre a absorbância de grupos alifáticos e aromáticos (índice de condensação). Freixo *et al.* (2002) aplicaram com sucesso essa metodologia para análise de matéria orgânica leve e dentro de agregados, indicando que materiais orgânicos mais hidrofóbicos concorrem para a formação dos agregados do solo. Canellas *et al.* (2004) estudaram o efeito da cobertura do solo com leguminosas perenes sobre a qualidade da matéria orgânica de um Argissolo Vermelho Amarelo em diferentes profundidades. A cobertura com Kudzu (*M. atropurpureum*) favoreceu o desenvolvimento de características de hidrofobicidade nos ácidos húmicos, bem como, maior grau de condensação, avaliados por meio da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier. Os valores obtidos foram comparados com os da cobertura de mata secundária e de gramíneas (*P. maximum*).

A utilidade e o potencial de uso da espectroscopia na região de infravermelho é bastante amplo. Adiciona-se ainda como vantagem o custo dos equipamentos, que são bem menores dos que o de espectrômetros de massa e os de ressonância nuclear magnética.

capítulo

Ressonância Magnética Nuclear

Victor M. Rumjanek

A matéria orgânica do solo (MOS) tem uma série de funções no meio ambiente, que incluem a fertilidade, reciclagem de nutrientes e de carbono, especiação de metais e transporte de poluentes. No entanto, devido à sua natureza extremamente complexa, sua caracterização sempre foi um desafio aos químicos analíticos. Um dos problemas cruciais é que, mesmo que os componentes individuais da MOS pudessem ser separados, gerar modelos estruturais seria muito difícil, pois as propriedades que emergem da interação destes componentes seria eliminada. Conseqüentemente, a técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) torna-se extremamente útil nesse caso, especialmente porque nos últimos anos houve um desenvolvimento muito rápido, tanto de técnicas como de acessórios, capazes de auxiliar grandemente na análise de MOS. Este capítulo descreve os princípios básicos que regem a RMN bem como diversas aplicações de diferentes técnicas, com o intuito de extrair dados qualitativos e quantitativos sobre a MOS.

Introdução

Apesar da Ressonância Magnética Nuclear (RMN) ser uma técnica de caracterização estrutural relativamente recente, ela é também uma das mais poderosas e versáteis. Durante o período que vai do final dos anos 50 até o presente tem havido avanços consideráveis, e uma medida de sua importância pode ser avaliada pela concessão de quatro prêmios Nobel para pesquisadores envolvidos com a química de RMN.

O texto que se segue é apenas uma breve descrição das bases físicas e químicas do fenômeno de RMN, elaborado de tal modo que o leitor formado em Ciências Agrárias possa entendê-lo e avaliar suas aplicações no campo da pesquisa de matéria orgânica do solo (MOS). No final do livro são fornecidas referências de textos mais completos sobre o assunto, bem como de trabalhos importantes de revisão da área específica de RMN aplicada à matéria orgânica. É importante lembrar que o campo da pesquisa de MOS por RMN vem se desenvolvendo com uma rapidez notável e novas técnicas são constantemente descritas na literatura e, portanto, a discussão que se segue ao fim deste capítulo tem como objetivo maior introduzir o leitor na área e não o de ser uma revisão sobre este assunto.

Propriedades dos Núcleos que Geram Sinal de Ressonância Magnética

Todos os núcleos dos elementos químicos possuem carga elétrica. Em alguns casos, esta carga pode girar em torno do eixo nuclear, e este movimento de precessão pode ser descrito através do número de spin I . A precessão do núcleo produz um campo magnético cuja magnitude é representada pela grandeza momento magnético nuclear, μ . Analisando o átomo de ^{12}C , constata-se que seu número de massa ($A=12$) e seu número atômico ($Z=6$) são pares. Neste caso, há uma distribuição simétrica de carga e massa e assim o núcleo se comporta como uma esfera estática, sendo que a carga está distribuída uniformemente sobre toda a sua superfície. Deste modo, não há movimento de carga e o spin nuclear $I=0$ e também o momento magnético nuclear $\mu = 0$. Uma vez que estas grandezas são nulas, não é possível para o átomo de ^{12}C gerar um sinal de RMN, bem como todos os outros núcleos que possuem A e Z pares (Tabela 7.1).

Tabela 7.1. Propriedades de alguns núcleos

A	par	ímpar	par	ímpar
Z	par	par ou ímpar	ímpar	par ou ímpar
forma				
m	0	$\neq 0$	$\neq 0$	$\neq 0$
I	0	1/2	1 2 3 4	3/2 5/2 7/2
eQ	0	0	>0	<0
Núcleos	^{12}C ^{16}O ^{24}Mg ^{28}Si ^{32}S	^1H ^{13}C ^{15}N ^{19}F ^{31}P ^{107}Ag	^2D ^{36}Cl ^{10}B ^{40}K ^6Li ^{98}Co ^{22}Na ^{134}Cs ^{14}N	^7Li ^{17}O ^{43}Ca ^{23}Na ^{25}Mg ^{51}V ^{35}Cl ^{27}Al ^{59}Co ^{37}Cl ^{55}Mn ^{139}La ^{39}K ^{67}Zn ^{53}Cr ^{63}Cu ^{65}Cu

Por outro lado, átomos como o ^1H e o ^{13}C possuem número de massa ímpar e, como a distribuição de massa é assimétrica, eles possuem momento angular diferente de zero e seu $I=1/2$. Conseqüentemente, este movimento gera um campo magnético e assim $\mu \neq 0$. Alguns outros núcleos importantes encontram-se nesta situação, tais como ^{15}N , ^{19}F e ^{31}P . Uma vez que estes núcleos apresentam momento magnético diferente de zero, eles são capazes de gerar um sinal de RMN e serão, portanto, o objeto principal de estudo neste capítulo. Como a distribuição de cargas elétricas nos dois tipos de núcleos analisados até agora é esférica, ou seja, o campo eletrostático é idêntico em todas as direções, o momento quadrupolar (eQ) destes núcleos é nulo. Apesar dos núcleos que serão estudados mais a fundo possuírem $eQ=0$, cabe mencionar esta grandeza pois o eQ , quando diferente de zero, pode dificultar a observação de um determinado núcleo. Finalmente, há ainda núcleos que se comportam como elipsóides em revolução. Nestes, a distribuição de cargas eletrostáticas não é uniforme e portanto $eQ \neq 0$ (por convenção $eQ > 0$ para elipsóides que giram em torno de seu eixo longitudinal e $eQ < 0$ para corpos que se movimentam em torno de seu eixo menor) (Tabela 7.1).

Orientações dos Núcleos em Campos Magnéticos

Como foi dito anteriormente, os núcleos mais importantes para os estudos descritos neste capítulo possuem $I=1/2$. Quando estes se encontram na ausência de um campo magnético, orientam-se ao acaso. Na presença de um campo magnético, os núcleos tendem a orientar-se em relação ao vetor que representa este campo magnético, assumindo dois estados possíveis de energia: alinhado com o vetor campo e de menor energia (α) e não alinhado com o campo e de maior energia (β) (Figura 7.1).

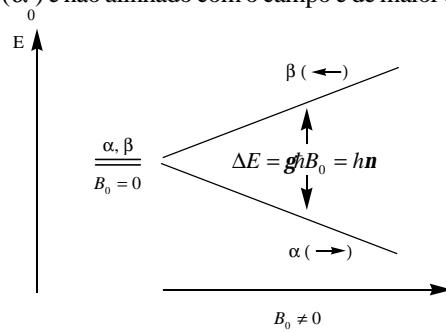


Figura 7.1 Diagrama de Energia para Núcleos com $I = 1/2$

No caso de núcleos com $I>1/2$ é possível um número maior de orientações em relação a um campo magnético. Este número é dado pela fórmula $n=2I+1$. Assim, quando o núcleo de ^{17}O ($I=7/2$) encontra-se em um campo magnético, ele possui 8 orientações diferentes em relação a este campo, sendo quatro de maior energia (não alinhados) e quatro de menor energia (alinhados com o campo magnético).

Sensibilidade e Receptividade em RMN

A eficácia da análise de um determinado núcleo em RMN depende de uma série de fatores. Assim, para ^{13}C e ^1H tem-se,

$$g_{^{13}\text{C}}/g_{^1\text{H}} = 6,728 \times 10^7 / 26,759 \times 10^7 = 0,251$$

A sensibilidade dos vários núcleos para determinação por RMN caracteriza-se pela intensidade do fenômeno em condições experimentais idênticas e é proporcional a

$$\frac{I+1}{I^2} \mu^3$$

onde μ , como já foi definido no começo do texto, é o momento magnético do núcleo e I é o seu spin. Tem-se então para ^{13}C e ^1H ,

$$\text{sensibilidade de } ^{13}\text{C}/\text{sensibilidade de } ^1\text{H} = (g_{^{13}\text{C}}/g_{^1\text{H}})^3 = 0,015$$

Outro fator importante é a abundância natural de cada nuclídeo e, novamente para os núcleos de ^{13}C e ^1H tem-se que,

$$\text{abundância natural de } ^{13}\text{C}/\text{abundância natural de } ^1\text{H} = 1,1\% / 99,9\% = 0,011$$

Finalmente, conjugando todos estes fatores obtém-se a receptividade relativa de núcleos para estudos de RMN. Desta maneira, para os núcleos usados como exemplo,

$$\text{receptividade de } ^{13}\text{C}/\text{receptividade de } ^1\text{H} = 0,015 \times 0,011 = 1,65 \times 10^{-4}$$

Apesar da receptividade de ^{13}C ser relativamente muito baixa, a análise deste núcleo pode ser feita sem maiores problemas. No entanto, em algumas instâncias, a receptividade e as concentrações dos compostos a serem analisados são tão baixas que os estudos utilizando abundância natural são muito dificultados. Nesses casos, como por exemplo o ^{15}N , pode recorrer-se ao enriquecimento isotópico para facilitar sua observação.

O Fenômeno de Ressonância

A distribuição dos núcleos com $I=1/2$ entre os dois estados de energia possíveis se dá de acordo com a equação de Boltzmann,

$$\frac{N_a}{N_b} = e^{\Delta E/kT}$$

onde N_a e N_b são as populações dos estados menos energético e mais energéticos, respectivamente; ΔE representa a diferença de energia entre os estados, k é a constante de Boltzmann e T a temperatura absoluta. Portanto, a uma determinada temperatura haverá um pequeno excesso de núcleos no estado de mais baixa energia em relação ao estado de mais alta energia. Este excesso é tão maior quanto for a diferença de energia entre os estados. Utilizando o ^1H como exemplo,

num campo magnético de um aparelho de porte médio ($9,39 \times 10^3$ Gauss) a 300 K tem-se que

$$\frac{Na}{Nb} = 1,0000066$$

Como pode ser visto no diagrama da Fig. 7.1, a diferença de energia entre os dois estados é

$$\Delta E = g\hbar B_0$$

onde g é a chamada constante giromagnética, que é uma característica de cada núcleo; B_0 é o campo magnético aplicado e \hbar é simplesmente $h/2p$

Ocorre que a diferença de energia também pode ser definida como

$$\Delta E = hn$$

onde h é a constante de Planck e n é a freqüência correspondente àquela diferença de energia. Igualando as equações,

$$g\hbar B_0 = hn$$

tem-se que

$$n = gB_0/2p$$

Esta equação indica que se um conjunto de núcleos é colocado em um campo magnético B_0 , é possível transportar os núcleos α em excesso (estado de mais baixa energia) até o estado de energia mais alta β fornecendo energia correspondente a uma radiação eletromagnética cuja freqüência é v . Quando isto ocorre, diz-se que há o fenômeno de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Por este motivo, esta relação é conhecida como equação fundamental da Ressonância Magnética Nuclear e v é chamada de freqüência de Larmor. A Tabela 7.2 mostra alguns exemplos de núcleos e suas respectivas freqüências de RMN.

Tabela 7.2. Propriedades magnéticas de núcleos importantes para o experimento de RMN

Núcleo	Momento magnético (m)	Constante giromagnética (g)	Freqüência de RMN (v) num campo de 9,39 T (em MHz)	Receptividade relativa a 1H	Abundância natural (%)
1H	2,7927	2,675	400,13	1,00	99,98
^{13}C	0,7021	0,673	100,61	$1,6 \times 10^{-4}$	1,01
^{15}N	-0,2829	-0,271	40,56	$3,6 \times 10^{-6}$	0,37
^{19}F	2,6273	2,517	376,49	0,782	100,0
^{31}P	1,1316	1,083	161,97	0,062	100,0

Observando-se a Figura 7.1, nota-se que, à medida que o campo magnético aumenta, há um aumento proporcional na diferença de energia entre os estados energéticos. Este, por sua vez, provoca um aumento no excesso de núcleos no estado de mais baixa energia (vide equação de Boltzmann). Como o sinal de RMN é diretamente proporcional ao número de núcleos no estado de menor energia, chega-se à conclusão de que quanto mais forte é o campo magnético, mais intenso é o sinal de RMN e assim explica-se a busca por aparelhos cada vez mais potentes.

É interessante notar que, segundo a equação fundamental da RMN, todos os núcleos dos diferentes átomos de 1H , ou qualquer outro átomo que se esteja observando, entrariam em ressonância na mesma freqüência, já que a equação envolve apenas constantes. Caso esta fosse a realidade, todos os compostos forneceriam o mesmo espectro de RMN! Felizmente a situação

não é tão simples, pois ocorre que em torno dos diferentes núcleos dos átomos que compõem uma molécula há elétrons em movimento e estes geram um campo magnético próprio e de sentido oposto ao campo magnético gerado pelos núcleos. Assim, há uma interação entre estes dois campos de sentidos opostos, gerando o chamado campo magnético local, e como estes campos magnéticos locais variam, dependendo do ambiente de cada átomo, as freqüências de ressonância destes núcleos também variam. Esta situação pode ser melhor compreendida observando-se a representação da molécula de etanol na Figura 7.2. Como pode se observar, os átomos de ^1H que estão mais afastados do átomo de oxigênio (mais eletronegativo) possuem uma alta densidade eletrônica o que acarreta, por sua vez, um forte campo magnético B' . À medida que os átomos de hidrogênio se aproximam cada vez mais do átomo de oxigênio, suas densidades eletrônicas diminuem progressivamente acarretando campos magnéticos B' cada vez mais fracos. Assim, três campos magnéticos locais diferentes são gerados e, portanto, haverá três freqüências diferentes de ressonância, uma para cada tipo de hidrogênio do etanol. Os valores destas freqüências são chamados de *deslocamentos químicos*. Quando a densidade eletrônica em torno do núcleo de ^1H é alta, diz-se que este núcleo sofre proteção e a constante de proteção, no caso do ^1H chamada de *constante de proteção diamagnética* (σ^{dia}), é alta. Por outro lado, à medida que a densidade eletrônica diminui, a constante de proteção também diminui, e o núcleo de ^1H , consequentemente, torna-se cada vez mais desprotegido.

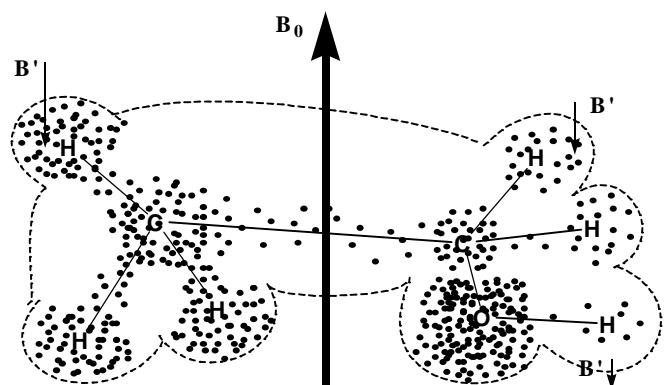


Figura 7.2. Representação da molécula de etanol com os campos magnéticos B' gerados pelas diferentes densidades eletrônicas sobre os átomos de ^1H .

Natureza do Sinal de RMN e os Espectrômetros

Como já foi visto no item anterior, ao submeter-se uma amostra a um campo magnético, há um pequeno excesso de núcleos no estado menos energético (α) em relação ao estado mais energético (β). Estes núcleos precessam, da mesma maneira que um peão de madeira precessa quando sofre a ação do campo gravitacional da Terra. Se fornecermos uma quantidade de energia (na forma de radiofrequência) relativa à diferença entre estes dois estados, é possível transferir os núcleos α em excesso para o estado β . Assim, estes núcleos entram em ressonância e a energia referente a este processo é captada por um receptor de radiofrequência (RF) e transformada num sinal (Figura 7.3).

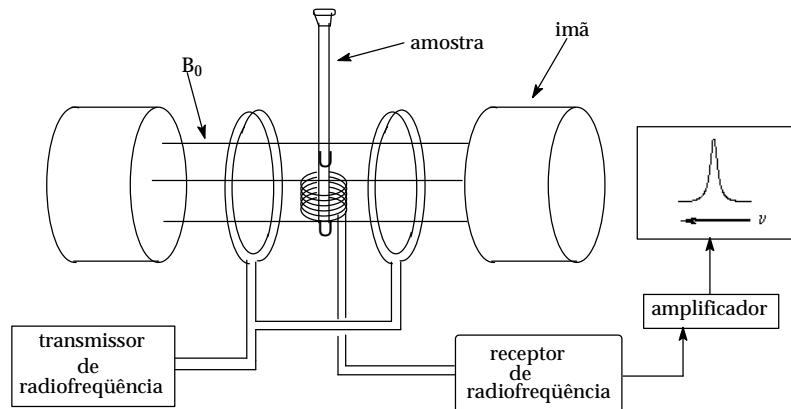


Figura 7.3 Diagrama esquemático de um espetrômetro de RMN.

Há duas técnicas possíveis para se observar um sinal de RMN: onda contínua (OC) e pulso com transformada de Fourier (PTF). Durante o registro de um espectro obtido por OC, a freqüência v de um transmissor de RF fraca é variada continuamente. O vetor \mathbf{M} , referente à magnetização total (Figura 7.4a), que é a soma dos momentos nucleares individuais μ , desvia-se de sua posição de equilíbrio no eixo z durante a ressonância ($v=\gamma B_0$) e induz uma corrente no receptor de RF (Figura. 7.4b) que é transformada num sinal (Figura. 7.4c). Após a ressonância ($v>\gamma B_0$), o vetor \mathbf{M} retorna à sua posição original, num processo chamado de relaxação.

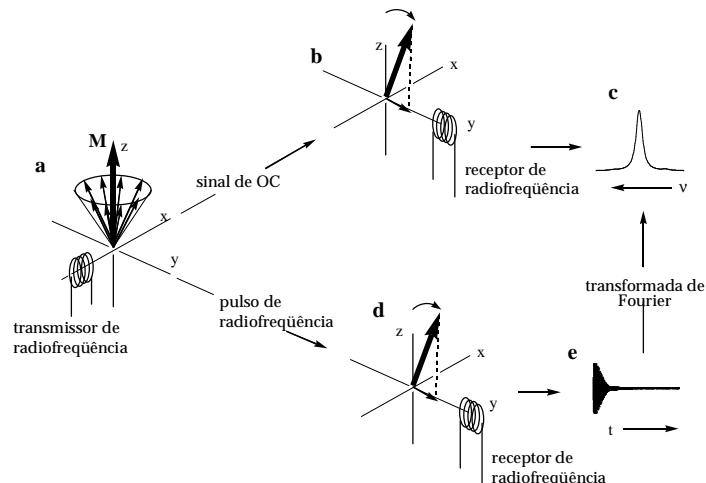


Figura 7.4 Geração de sinal em espectroscopia OC e PTF

Quando se utiliza a técnica de PTF, todos os diferentes núcleos com seus respectivos μ são excitados ao mesmo tempo, por meio de um potente pulso de RF que contém todas as diferentes freqüências de ressonância daqueles núcleos ($v>\gamma B_0$) e o resultado é que o vetor \mathbf{M} também se desvia de sua posição original, induzindo uma corrente no receptor de RF (Figura 7.4d). Como cada núcleo possui um tempo de relaxação diferente, obtém-se um gráfico das intensidades de todos os sinais dos diferentes núcleos em função do tempo (Figura 7.4e). Esta função é chamada de FID (do inglês Free Induction Decay). Ao processar-se esta função, através de uma operação

matemática conhecida por transformada de Fourier, obtém-se um espectro de RMN, que reflete a intensidade dos sinais em função das freqüências ν (Figura 7.4c).

Ambos os espectrômetros são constituídos dos mesmos componentes, com a diferença que o de PFT é acoplado a um computador que realiza a operação de transformada de Fourier. Os espetrômetros de OC possuem campos magnéticos de até 2,3 Tesla (correspondente a uma freqüência de ressonância para o ^1H de 100 MHz) e uma das vantagens dos espetrômetros de PTF é, exatamente, a da possibilidade de se obter campos magnéticos mais fortes (o aparelho comercial mais potente hoje é o de 900 MHz). Estes campos magnéticos são conseguidos com bobinas de material supercondutor. Tendo em mente o fato de que quanto maior é a força do campo magnético do aparelho, ao aumentar-se a força do campo magnético, aumenta-se a sensibilidade do aparelho.

Como os espetrômetros de PTF possuem um computador acoplado, pode-se somar (ou realizar qualquer outra operação matemática sobre) espectros e com isso diminuir a razão sinal/ ruído, o que indiretamente torna-se um aumento de sensibilidade. Uma outra vantagem dos espetrômetros de PTF é o tempo reduzido de análise quando comparado a um aparelho de OC.

Nos próximos itens serão investigados os principais parâmetros de um espectro de RMN de ^1H e mais à frente de outros núcleos importantes.

Tempos de Relaxação

Relaxação é o fenômeno através do qual os núcleos no estado excitado voltam ao estado original. Observando-se a Figura 7.4d, nota-se que após a aplicação de um pulso, a magnetização total afasta-se do eixo z , gerando uma componente no plano x - y (o vetor magnetização precessa em torno do eixo z). O tempo que leva para a componente no eixo z retornar ao original é chamado de tempo de relaxação longitudinal (T_1) e o tempo que leva para a componente no plano x - y retornar a zero chama-se tempo de relaxação transversal (T_2). O tempo T_1 , também chamado tempo de relaxação spin-rede, é muito maior do que T_2 , também conhecido por tempo de relaxação spin-spin. O conhecimento de T_1 é importante, pois ele se correlaciona com parâmetros estruturais, em especial, com a mobilidade das moléculas. Por sua vez, T_2 está diretamente ligado à largura do sinal pela equação,

$$d_n = \frac{1}{pT_2}$$

onde d_n é a largura do sinal a meia altura. T_2 é pequeno para substâncias rígidas (estado sólido) e longo para moléculas com grande mobilidade (líquidos e amostras em solução).

Deslocamentos Químicos de ^1H

Utilizando qualquer uma das duas técnicas descritas no item anterior e uma amostra de etanol, obtém-se o espectro da Figura 7.5, onde se confirma a presença de três tipos diferentes de ^1H (comparar com a Figura 7.2).

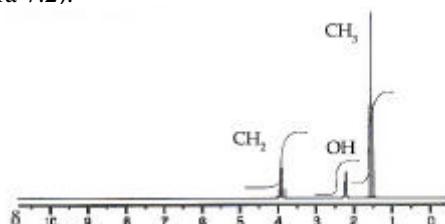


Figura 7.5. Espectro de RMN de ^1H do etanol

Os diferentes parâmetros que são analisados num espectro de RMN serão discutidos nos próximos itens, utilizando o espectro de etanol da Figura 7.5.

A discussão da proteção relativa de núcleos individuais de ^1H , dominada pela constante de proteção diamagnética, σ^{dia} , indica que pode se elaborar um sistema de medição do deslocamento químico e que estes deslocamentos variam com a estrutura química. A medida de deslocamentos químicos em freqüências não é usada, pois diferentes espetrômetros operam com diferentes campos B_0 e, de acordo com a equação fundamental da RMN, as freqüências de ressonância dos diferentes núcleos variam com B_0 . Assim, mede-se a posição do sinal de ressonância em relação ao de um composto referência ou padrão. No caso de RMN de ^1H ou de ^{13}C este composto é o tetrametilsilano, $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ (TMS). Como já foi dito, uma vez que os valores das freqüências de ressonância não dependem do campo magnético do aparelho, uma unidade adimensional foi definida para o deslocamento químico que é definida por:

$$d = \frac{n_{\text{substância}} - n_{\text{referência}}}{n_0}$$

Nesta equação, v_0 representa a freqüência do espetrômetro utilizado (por exemplo, 250 MHz) e para a escala de δ são usadas partes por milhão (ppm). Assim, para os sinais do etanol, são encontrados os valores de 3,8; 2,2 e 1,5 ppm, independentemente de que aparelho foi usado para obter-se o espectro. A relação entre as escalas de freqüências em Hz ou em ppm é mostrada na Figura 7.6.

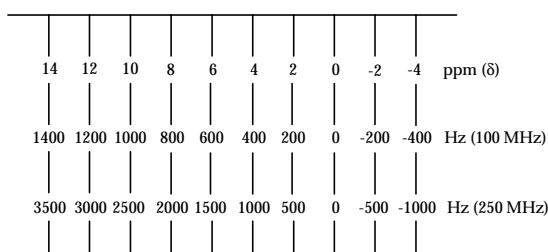


Figura 7.6. Relação entre escalas de deslocamento químico

O tetrametilsilano (TMS) mencionado anteriormente fornece um sinal único, com uma freqüência diferente da maioria dos núcleos de ^1H ou ^{13}C e tem, portanto, sua freqüência de ressonância assinalada como 0 na escala δ .

Uma vez que estabeleceu-se a escala δ , é possível a partir de agora assinalar hidrogênios numa estrutura química a regiões definidas do espectro. As principais funções orgânicas com seus respectivos valores de δ estão descritas na Figura 7.7.

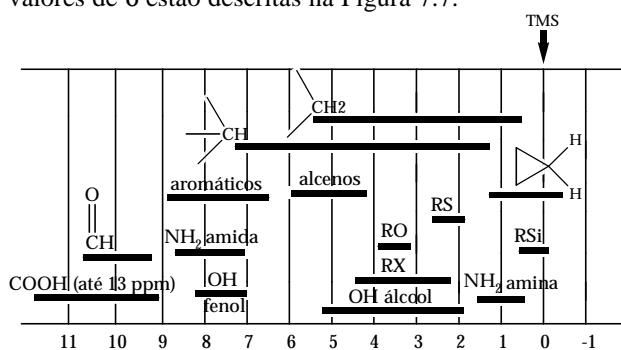


Figura 7.7. Principais funções orgânicas e seus deslocamentos químicos de ^1H .

Já foi visto, utilizando a molécula de etanol, que a densidade eletrônica em torno de núcleos de ^1H é capaz de alterar o deslocamento químico destes núcleos. Assim, se a densidade eletrônica aumenta, o deslocamento químico diminui (CH_3 , $\delta=1,5$) e, ao contrário, se a densidade eletrônica diminui, o deslocamento químico aumenta (CH_2 , $\delta=3,5$). Este fenômeno é geral e outro exemplo pode ser observado na série,

	$\text{CH}_3\text{-H}$	$\text{CH}_3\text{-I}$	$\text{CH}_3\text{-Br}$	$\text{CH}_3\text{-Cl}$	$\text{CH}_3\text{-F}$
δ	0.13	1.98	2.45	2.84	4.13

Cabe ressaltar ainda que o efeito indutivo observado nestes exemplos é aditivo e também se perde com a distância, como pode ser observado no próprio exemplo do etanol.

Há um outro fator de importância que influencia o deslocamento químico. A Figura 7.8 mostra a molécula de benzeno e o campo magnético formado pelo movimento circular dos elétrons que formam as ligações π . Este campo magnético faz com que a molécula de benzeno (e os compostos aromáticos em geral) possua duas regiões diferentes: uma em que há um efeito de proteção (representado por +), ou seja, menores deslocamentos químicos para átomos de ^1H que ali se encontram e outra, de desproteção (representado por -), onde os hidrogênios tem deslocamento químicos mais altos. Como o campo magnético em torno da molécula de benzeno varia conforme o local analisado, diz-se que há um efeito de anisotropia magnética e por extensão, diz-se que a molécula de benzeno (e dos outros compostos aromáticos) é magneticamente anisotrópica.

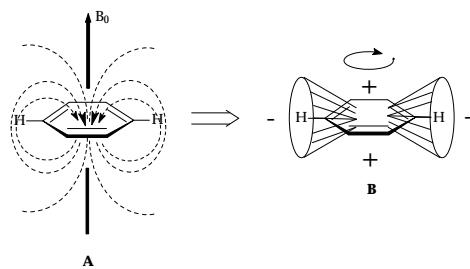


Figura 7.8. Campo magnético gerado pelos elétrons na molécula de benzeno (A) que dão origem a regiões de proteção (+) e desproteção (-) (B). A seta mostra o plano de circulação dos elétrons π

Similarmente ao que ocorre com as moléculas dos compostos aromáticos, há outras ocasiões em que se observa a anisotropia magnética. Assim, na Figura 7.9 estão representados grupos ou ligações mais comuns em que o movimento dos elétrons faz com que seja gerado um campo magnético que, por sua vez, torna estes grupos ou ligações magneticamente anisotrópicos, dando origem a regiões de proteção (+) ou de desproteção (-).

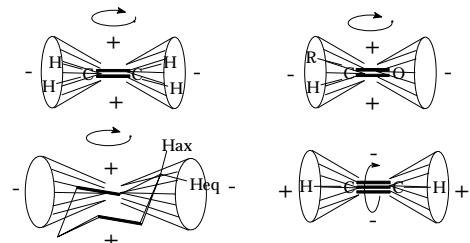


Figura 7.9. Efeito de anisotropia magnética em algumas ligações importantes. As setas indicam o plano de circulação dos elétrons das ligações.

Deslocamentos Químicos de ^{13}C

Como foi mencionado anteriormente, a constante de proteção dominante no caso de ^1H é σ^{dia} . Entretanto, no caso de ^{13}C (ou qualquer outro átomo que possua elétrons 2p), a constante de proteção dominante é a chamada paramagnética, σ^{para} e assim é ela que influencia os deslocamentos químicos de ^{13}C e dos outros núcleos que possuem elétrons 2p. A grande diferença que existe é que, no caso do ^1H , o aumento da constante de proteção σ^{dia} acarreta uma diminuição de deslocamento químico enquanto que no caso do ^{13}C (e dos outros núcleos que possuem elétrons 2p), o aumento da constante de proteção σ^{para} leva a um aumento do deslocamento químico.

Segundo a equação abaixo,

$$s^{\text{para}} \propto \Delta E^{-1} r_{2p}^{-3} \Sigma Q_{AA}$$

a constante de proteção paramagnética aumenta com a diminuição da energia média de excitação eletrônica ΔE e também com o inverso do cubo da distância dos elétrons 2p ao núcleo r_{2p} . A constante de proteção paramagnética também aumenta com o aumento do termo ΣQ_{AA} , que representa basicamente a ordem de ligação. Assim, por exemplo, a relação da proteção com a energia de excitação está de acordo com o fato de que os compostos carbonílicos apresentam deslocamentos químicos maiores ($\delta_c > 170$ ppm, transição n-p* com $\Delta E \sim 7$ eV) do que aqueles de alcenos ou compostos aromáticos ($\delta_c \sim 100$ -150 ppm, transição $\pi-\pi^*$ com $\Delta E \sim 8$ eV) ou de alcanos ($\delta_c < 50$ ppm, transição s-s* com $\Delta E \sim 10$ eV).

As principais classes de compostos orgânicos, com seus respectivos deslocamentos químicos de ^{13}C , estão descritas na Figura 7.10.

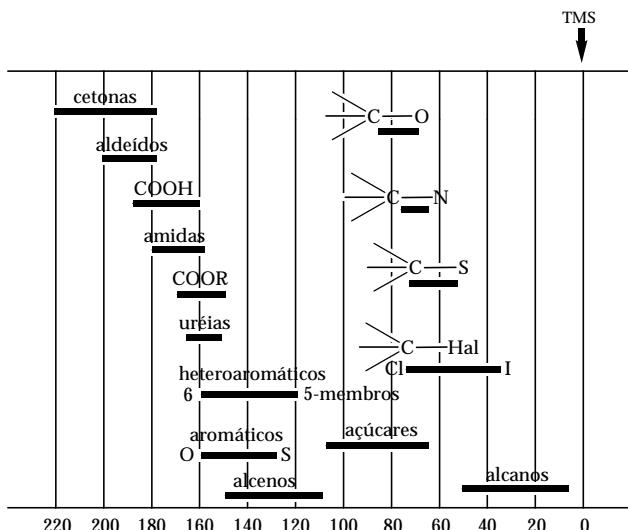


Figura 7.10. Deslocamentos químicos de ^{13}C das principais classes de compostos orgânicos

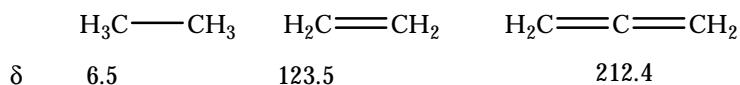
O termo r_{2p}^{-3} é afetado basicamente por efeitos que variam a densidade eletrônica e o resultado é semelhante àquele encontrado para o átomo de ^1H . Assim, a Tabela 7.3 mostra os efeitos de alguns substituintes na posição 1 do pentano sobre os deslocamentos químicos de ^{13}C .

Tabela 7.3 – Deslocamentos químicos de ^{13}C dados pelo substituinte em 1-X-pentanos (em relação ao n-pentano: $d_{\text{C}_1} = 13.7$, $d_{\text{C}_2} = 22.6$ e $d_{\text{C}_3} = 34.5$).

Substituinte X	C ₁	C ₂	C ₃
F	70.1	8.0	-6.7
Cl	30.6	10.0	-5.3
Br	19.3	10.1	-4.1
COOH	20.5	2.3	-2.7
NO ₂	61.6	3.1	-4.6
CH ₃	9.3	9.4	-2.5
NH ₂	29.7	11.2	-5.0

Note-se que os núcleos C₁ e C₂ apresentam deslocamentos químicos correspondentes a uma diminuição de densidade eletrônica produzida pelos substituintes eletronegativos, como é esperado. Entretanto, os núcleos C₃ sofrem uma proteção, que é causada por outros efeitos cujo estudo foge ao propósito deste texto.

Finalmente, o efeito da ordem de ligação (ΣQ_{AA}) pode ser observado na série abaixo.



Deslocamentos químicos de ^{31}P

Os efeitos estruturais sobre os deslocamentos químicos de ^{31}P são semelhantes aos já descritos para o átomo de ^{13}C . A Figura 7.11 mostra as principais classes de compostos orgânicos de fósforo e seus deslocamentos químicos.

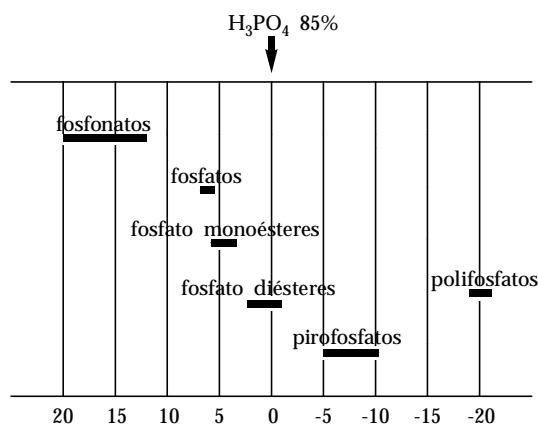


Figura 7.11. Deslocamentos químicos de ^{31}P de algumas classes de compostos fosforados.

Deslocamentos Químicos de ^{15}N

A análise por RMN de ^{15}N é grandemente dificultada pelo fato de que, tanto sua abundância natural como as concentrações de compostos de nitrogênio na MOS são baixas. Ainda assim, na Figura 7.12 são apresentados os deslocamentos de algumas funções nitrogenadas importantes.

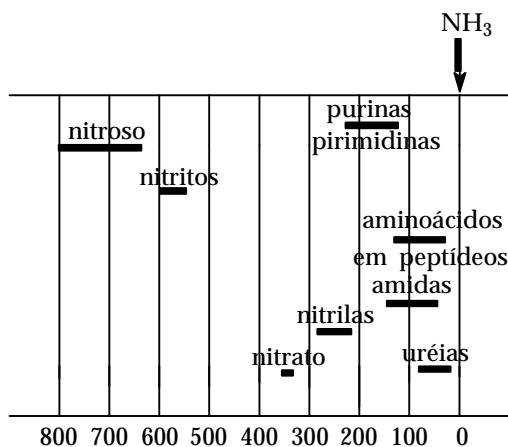


Figura 7.12. Principais deslocamentos químicos de ^{15}N .

Acoplamentos de spins

Apesar do fato de que em análises de MOS o principal parâmetro analisado seja o deslocamento químico, segue-se uma breve descrição sobre uma outra característica do espectro de RMN de ^1H , que pode ser observada na Figura 7.2, que é o número de linhas de cada sinal referente a cada tipo de hidrogênio do etanol. O número de linhas de cada sinal é chamado de multiplicidade do sinal. Assim, os hidrogênios da metila dão origem a um sinal que tem 3 linhas enquanto que o sinal do metileno possui 4 linhas. Este fenômeno é chamado de acoplamento de spins e ele ocorre devido a uma interação magnética, através das ligações químicas, entre núcleos de ^1H que são diferentes.

Como a Figura 7.13 mostra, para os hidrogênios de um grupo metileno, o momento magnético do núcleo A causa uma pequena polarização dos elétrons da ligação que é transmitida através do entrosamento dos orbitais até o núcleo X.

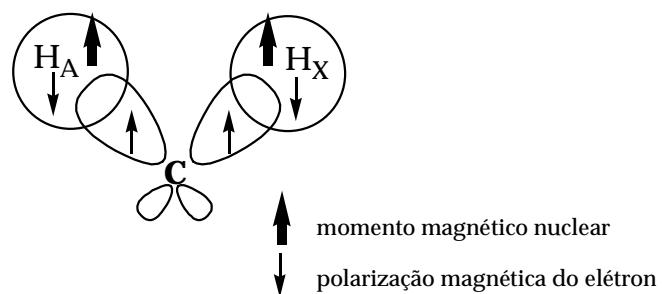


Figura 7.13. Representação esquemática da interação spin-spin através dos elétrons de ligação num grupo CH_2 .

Como consequência, dependendo do estado do spin de A, o campo magnético em torno de X varia e o seu sinal é dividido em duas linhas, formando um doubleto. O mesmo efeito ocorre para o núcleo A e assim, seu sinal também é um doubleto.

Para núcleos com $I = \frac{1}{2}$, a multiplicidade do sinal é igual a $n + 1$, onde n é o número de núcleos no grupo vizinho. Para saber a multiplicidade de um determinado sinal, pode-se usar o

triângulo de Pascal abaixo:

$n = 0$			1					
1			1	1				
2			1	2	1			
3			1	3	3	1		
4			1	4	6	4	1	
5			1	5	10	10	5	1

Os índices do triângulo de Pascal fornecem a intensidade relativa das linhas de um sinal. Assim, se não há núcleos vizinhos ($n = 0$), o sinal é um singlet. Se há, por exemplo, três núcleos vizinhos, o sinal é um quarteto com linhas de intensidade relativa 1:3:3:1. A separação entre as linhas é chamada de constante de acoplamento (J) e é dada em Hz. O valor desta constante dá uma medida da eficiência do acoplamento, que por sua vez, está relacionada, em termos gerais, com a distância entre os dois núcleos. Finalmente, a constante de acoplamento entre H_A e H_X tem o mesmo valor daquela entre H_X e H_A .

Cabe ressaltar ainda que diferentes núcleos de spin $1/2$ podem acoplar entre si. Assim, núcleos de 1H acoplam com núcleos de ^{13}C . No entanto, no espectro de RMN de 1H só se observam acoplamentos entre núcleos de hidrogênio, pois a abundância natural do núcleo de ^{13}C é de apenas 1% e assim a probabilidade de um núcleo de ^{13}C encontrar-se vizinho a um núcleo de 1H é também baixa.

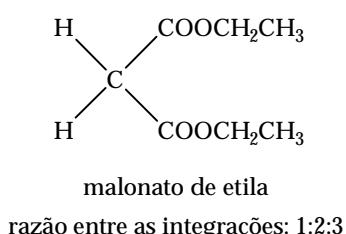
Seguindo este raciocínio, é possível observar num espectro de RMN de 1H , o acoplamento dos átomos de hidrogênio com átomos de ^{31}P ou ^{19}F , já que estes são abundantes. No caso de um espectro de RMN de ^{13}C , geralmente não se vêem os acoplamentos (possíveis) com os átomos de hidrogênio, pois estes acoplamentos são eliminados, através da irradiação de todos os núcleos de 1H com uma segunda fonte de radiofrequência, por motivos de clareza do espectro.

As constantes de acoplamento entre núcleos de hidrogênio ($J_{H,H}$) variam, em termos absolutos, de 0 a 15 Hz enquanto que os valores absolutos de $J_{C,H}$ encontram-se na faixa de 0 a 250 Hz.

Devido ao fato de que amostras de MOS são geralmente muito complexas e com sinais relativamente largos, em geral não se observam nos espectros de RMN os acoplamentos discutidos neste item.

Integração dos sinais

Foi mencionado anteriormente que a intensidade do sinal de RMN é proporcional ao número de átomos que geram aquele determinado sinal. Um integrador eletrônico no aparelho de RMN produz uma curva para cada sinal e as alturas das curvas indicam, para o exemplo do etanol da Figura 7.5, uma razão de 1:2:3. Cabe ressaltar que apenas o número relativo de átomos é determinado pela integração. Assim, o malonato de etila abaixo também fornece a mesma razão de número de átomos de hidrogênio.



A integração de sinais é muito importante para a análise quantitativa. Os espectros de RMN de ^{13}C também podem ser integrados, desde que sejam utilizadas técnicas apropriadas que serão mencionadas mais tarde.

Estado físico da amostra

A dissolução de uma amostra em um solvente (geralmente deuterado, tanto para evitar que o sinal do solvente, presente em grande quantidade, perturbe a análise do espectro como também por requisitos técnicos) tem como vantagem o fato de que o movimento Browniano elimina as causas de alargamento de sinais, além do fato de que, num sistema líquido, os processos de relaxação são mais favoráveis à obtenção de sinais finos. Consequentemente, o estado líquido é o estado predominante no qual as análises de RMN são feitas. Entretanto, no que diz respeito à área de MOS, as análises no estado sólido são muito mais comuns devido aos seguintes fatores:

- ausência de efeitos do solvente,
- menor tempo de aquisição dos espectros,
- possibilidade de análise de frações insolúveis, tais como huminas e carbono pirogênico,
- maior estabilidade das amostras no estado sólido,
- ausência de limites de concentração e
- possibilidade de análise de amostras íntegras de solos.

A principal desvantagem das análises no estado sólido é o alargamento dos sinais devido ao fato de que amostras sólidas possuem tempos de relaxação T_2 menores. Cabe relembrar que quanto maior é a força do campo magnético de um espetrômetro, maiores são a resolução e a sensibilidade. Enquanto isso é benéfico para as análises em solução, os estudos no estado sólido são dificultados por campos muito fortes, pois são requeridas maiores velocidades de rotação da amostra e isso só pode ser conseguido com menores rotores, que por sua vez exigem menores quantidades de amostra o que acarreta uma sensibilidade menor. Há um consenso geral de que análises de RMN de ^1H (núcleo abundante e alta sensibilidade) são geralmente feitas em solução enquanto que as análises de ^{13}C (núcleo de baixa abundância e sensibilidade) são feitas no estado sólido, pelos motivos expostos acima. Finalmente, as análises de ^{31}P (núcleo abundante e sensibilidade razoável) são feitas em ambos os estados, sendo que em solução, como mencionado acima, obtém-se maior resolução. As ocasiões em que as análises de ^{13}C são realizadas no estado líquido são aquelas em que técnicas bidimensionais (descritas mais à frente) são empregadas.

Análises no estado sólido

Uma vez que as análises de RMN de ^{13}C de material orgânico extraído de solos são geralmente feitas no estado sólido e que a quantificação requer cuidados especiais, segue-se uma breve descrição das principais técnicas.

MAS – sigla em inglês de Rotação no Ângulo Mágico. Numa molécula esférica, o deslocamento químico é independente de sua orientação no campo magnético. No entanto, se a molécula é assimétrica (caso, por exemplo, de MOS), o deslocamento químico passa a depender da orientação e sinais muito largos são obtidos. Quando se realiza a análise em solução, o movimento rápido das moléculas elimina este problema. A dependência do deslocamento químico com a orientação é uma função, entre outros fatores, da expressão $3 \cos^2 \theta - 1$, em que θ é o ângulo entre as moléculas e o campo magnético do aparelho. Quando o ângulo θ é igual a $54,7^\circ$ o termo acima se anula e assim, se todas as moléculas pudessem ser posicionadas de acordo com este ângulo, a resolução do

espectro aumentaria. Este ângulo é denominado ângulo mágico. Evidentemente não é possível colocar todas as moléculas nesta posição. No entanto, pode-se fazer com que a orientação média das moléculas seja aquela, fazendo com que a amostra gire rapidamente num ângulo de 54,7° em relação ao campo magnético. Em análises no estado sólido, a amostra é então colocada num tubo que por sua vez é posto dentro de um rotor especial que gira a velocidades na faixa de $v_R = 5$ a 15 kHz. Todas as análises no estado sólido utilizam necessariamente esta técnica.

CP – sigla em inglês para Polarização Cruzada. Esta técnica é utilizada para análises de ^{13}C , pois como este núcleo é pouco abundante, utilizando-se a CP, observam-se os átomos de ^{13}C através dos átomos de ^1H aos quais aqueles estão ligados e assim a sensibilidade é aumentada. Entretanto, o aumento de sensibilidade é contrabalançado por uma perda na qualidade da quantificação das diferentes funções orgânicas presentes na MOS.

DP – sigla em inglês de Polarização Direta, também conhecida como decaimento de Bloch (Bloch decay). Esta técnica é uma alternativa à CP, pois a quantificação por DP é mais confiável, porém sua sensibilidade é menor.

TOSS – sigla em inglês de Supressão Total de Bandas Laterais. Um dos efeitos da rotação da amostra é o aparecimento de bandas laterais nos espectros e esta técnica as elimina.

RESTORE – sigla em inglês de Restauração de Espectros por Edição de $T_{\text{C-H}}$ e T Um Rho (T1rH) e às vezes denominada contagem de spins. Esta é uma técnica que envolve a combinação de três espectros de CP-MAS em diferentes condições que fornecem, em tese, um espectro verdadeiramente quantitativo.

RAMP – sigla em inglês de Amplitude em Ramps. É uma técnica utilizada para corrigir possíveis erros na quantificação dos diferentes sinais.

A Figura 7.14 dá uma idéia da melhora conseguida na análise do aminoácido glicina no estado sólido pela aplicação de algumas técnicas descritas acima.

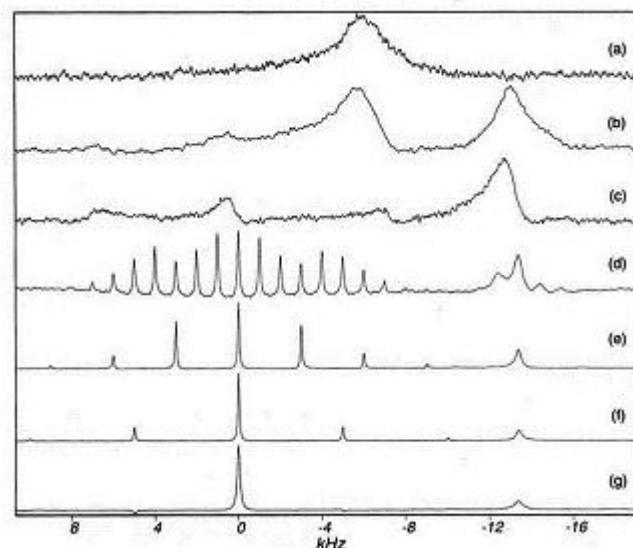


Figura 7.14. Espectros de ^{13}C de glicina no estado sólido: (a) sem desacoplamento de hidrogênio; (b) com desacoplamento de hidrogênio; (c) com desacoplamento de hidrogênio e CP; (d) CPMAS ($n_R = 1$ kHz); (e) CPMAS ($n_R = 3$ kHz); (f) CPMAS ($n_R = 5$ kHz); (g) CPMAS ($n_R = 5$ kHz) e TOSS. Adaptado de Evans 1995.

Técnicas unidimensionais

Além dos espectros normais de ^1H , ^{13}C e ^{31}P , outras técnicas podem ser utilizadas nas análises de MOS. As principais são:

DEPT – sigla do inglês Distortionless Enhacement by Polarization Transfer. Esta técnica envolve a transferência de polarização do hidrogênio para os átomos de carbono aos quais aqueles se encontram ligados. Assim, é possível observar os átomos de carbono utilizando as populações de núcleos de ^1H . A principal vantagem desta técnica é o aumento de sensibilidade. Evidentemente, só os átomos de carbono que possuem átomos de hidrogênio ligados é que são observados. Os espectros separam os sinais de CH , CH_2 e CH_3 . Uma técnica alternativa que gera o mesmo tipo de resultado é a INEPT.

PENDANT - sigla do inglês Polarization ENhacement During Attached Nucleus Testing. Esta técnica alternativa possui a mesma sensibilidade de DEPT, porém, é possível observar-se também os átomos de carbono quaternários (aqueles que não tem átomos de hidrogênio ligados a eles).

Técnicas bidimensionais

Devido ao fato de que as amostras de MOS são geralmente muito complexas, mesmo no estado líquido a resolução dos espectros é baixa e assim, a dispersão dos dados em uma segunda dimensão é muito vantajosa. As técnicas bidimensionais podem ser divididas em três classes diferentes:

1. Experimentos homonucleares

Existem dois experimentos básicos nesta classe. Um é o chamado COSY (do inglês COrrelation SpectroscopY) em que é feita a correlação entre todos os átomos de hidrogênio que acoplam entre si. Em geral, é possível observar-se apenas acoplamentos entre átomos de hidrogênio que estão distantes entre si duas (2J) ou três (3J) ligações. A outra técnica, mais poderosa ainda, é chamada de TOCSY (do inglês TOtal Correlation SpectroscopY). Através de seu uso é possível observar o acoplamento entre todos os átomos de hidrogênio de uma cadeia alquílica até que esta seja interrompida por um átomo de carbono quaternário.

2. Experimentos heteronucleares

Estes experimentos possibilitam correlacionar átomos diferentes, mas que estão ligados entre si. Assim, é possível obter espectros com correlações entre $^1\text{H}/^{13}\text{C}$, $^1\text{H}/^{15}\text{N}$ ou $^1\text{H}/^{31}\text{P}$. A técnica chamada HSQC (do inglês Heteronuclear Single Quantum Coherence) permite observar qualquer uma das correlações mencionadas acima, com a ressalva de que somente são observados os pares de átomos que estão diretamente ligados entre si ($^1J_{\text{X-H}}$). Esta técnica, portanto, só permite a observação de átomos de carbono que tenham átomos de hidrogênio ligados a ele. Uma técnica que fornece resultados muito semelhantes é a de HMQC (do inglês Heteronuclear Multiple Quantum Coherence). As vantagens destas técnicas são a maior resolução dos sinais que estão superpostos no espectro de ^1H , através da maior dispersão de sinais de ^{13}C , ^{15}N ou ^{31}P e aumento de sensibilidade. Quando uma alta resolução é necessária pode-se usar a técnica alternativa HETCOR (do inglês Heteronuclear Correlation). Em contrapartida, as técnicas de HSQC, HMQC e HMBC fornecem um ganho de sensibilidade da ordem de 30 para ^{13}C e de 300 para ^{15}N . Uma modificação introduzida na HSQC transforma-a num outro experimento, chamado HMBC (do inglês Heteronuclear Multiple Bond Correlation) e através deste é possível observar acoplamentos heteronucleares através de duas ($^2J_{\text{X-H}}$) ou três ligações ($^3J_{\text{X-H}}$). Assim, é possível observar um átomo de carbono quaternário, através de seu acoplamento com átomos de hidrogênio

que estão ligados aos átomos de carbono vizinhos.

3. Experimentos de difusão

Estudos recentes mostram que substâncias húmicas resultam da agregação de várias classes de compostos orgânicos, tais como açúcares, aminoácidos, ésteres e éteres alifáticos e aromáticos. Numerosos estudos mostram que há uma correlação direta entre o peso molecular e os coeficientes de difusão para uma variedade de espécies orgânicas e estas correlações são descritas por equações empíricas. Baseado nestas observações foi desenvolvido um experimento bidimensional chamado DOSY (do inglês Diffusion Ordered SpectroscopY), em que observam-se deslocamentos químicos em um eixo e no outro eixo encontram-se os respectivos coeficientes de difusão. Comparando-se os deslocamentos químicos e os coeficientes de difusão com os de diferentes padrões, é possível identificar várias classes de compostos no agregado.

Aplicações de RMN à análise da matéria orgânica de solos (MOS)

A primeira análise de MOS envolvendo RMN foi descrita por Barton & Schnitzer (1963), que avaliaram um ácido húmico metilado através de RMN de ^1H . No entanto, somente nos últimos 20 anos é que a união de magnetos supercondutores cada vez mais potentes com o desenvolvimento de muitas das técnicas descritas nos itens anteriores, possibilitou a intensificação do uso de RMN aplicada à matéria orgânica extraída de solos.

Devido ao fato de que as amostras de MOS são muito complexas, sua análise requer técnicas e acessórios específicos, além de pesquisadores que se dediquem a esta área, e no Brasil esta situação é mais crítica ainda, o que explica, em parte, que o primeiro estudo realizado seja relativamente recente (Ceretta 1995).

As análises de MOS por RMN envolvem a identificação e quantificação dos diferentes grupos funcionais presentes. O núcleo ideal para estes estudos é o ^{13}C , já que está uniformemente distribuído. No entanto, devido à sua baixa abundância natural, as análises são muito demoradas, requerendo às vezes, mais de 24 horas. Assim, um grande número de estudos tem sido realizado com ^1H e ^{31}P .

Recentemente foram publicadas revisões que focalizam vários aspectos da técnica de RMN. Cook (2004) fez uma excelente análise dos diferentes métodos aplicáveis aos estudos por ^1H e ^{13}C , focalizando principalmente as diferentes técnicas de quantificação, concluindo que os avanços no desenvolvimento de técnicas e acessórios continuará pelos próximos anos, especialmente se os fabricantes derem-se conta de que existe um mercado para espectrômetros dedicados à pesquisa de MOS. Outra oportunidade de expansão citada pelo autor é o início do emprego de técnicas chamadas hifenadas, ou seja, o acoplamento de técnicas de extração e separação ao uso de RMN, como, por exemplo, CLAE-RMN (cromatografia líquida de alta eficiência-RMN) ou CLAE-EFS-RMN (cromatografia líquida de alta eficiência-extração na fase sólida-RMN), utilizadas em um estudo feito por Simpson *et al.* (2004). Conte *et al.* (2004) elaboraram uma revisão detalhada sobre o uso de RMN de ^{13}C concluindo com uma série de procedimentos a serem seguidos a fim de obter quantificações confiáveis.

No que diz respeito à quantificação, Smernik (2005) investigou extensivamente os métodos disponíveis para análise de MOS, utilizando um espectrômetro de 200 MHz e um outro de 400 MHz, e observou que não há diferença, em termos de resolução, entre os dois. Isto ocorre, pois apesar de um campo mais potente fornecer um sinal mais intenso, ele exige maiores velocidades de rotação da amostra o que, por sua vez, acarreta uma diminuição da intensidade do sinal. Mais

ainda, a quantificação por ambos (200 MHz CP-MAS a 5 kHz e 400 MHz CP-MAS a 10 kHz) fornece praticamente os mesmos resultados. Smernik observou ainda que a intensidade dos sinais em espectros obtidos com Bloch decay (BD) ou polarização direta não foi afetada pelo aumento na velocidade de rotação da amostra, confirmando-a assim como uma técnica mais robusta do que CP.

Canellas *et al.* (2001a) estudaram, através de RMN de ^{13}C em solução, as modificações advindas da adição de resíduos de origem urbana (lodo de estação de tratamento de esgoto e composto de lixo) e concluíram que há uma diminuição de carbono alquílico e um aumento de carbono de polissacarídeos (Figura 7.15). Numa publicação posterior, Canellas *et al.* (2002a) descreveram o uso de RMN de ^{13}C aliado à pirólise seguida de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) para avaliar as modificações sofridas pelos ácidos húmicos isolados de outras amostras de solos com adição de resíduos urbanos e foi constatado um aumento na quantidade relativa de polissacarídeos e aminoácidos naquelas amostras tratadas com resíduos orgânicos. Este aumento parece ser devido à incorporação de microorganismos (Beyer *et al.* 1996).

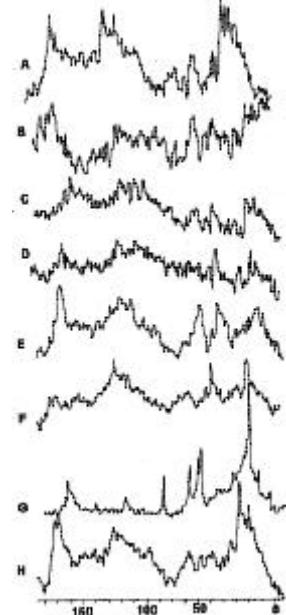


Figura 7.15. Espectros de RMN de ^{13}C dos ácidos húmicos isolados de Argissolo (A), Argissolo com adição de composto (B) e lodo (C), de Latossolo (D), Latossolo com adição de composto (E) e lodo (F) e de composto de resíduos sólidos urbanos (G) e lodo de estação de tratamento de esgoto (H).

Em um estudo semelhante, Canellas *et al.* (2002b) investigaram as características de ácidos húmicos extraídos de um Argissolo e de um Latossolo com cultivo de cana-de-açúcar e eucalipto e a análise dos grupos funcionais por RMN de ^{13}C em solução mostrou que a quantificação deste grupos pode servir como um importante indicador da tendência da humificação, quando foi observado uma diminuição do conteúdo de C alquílico e um aumento de C aromático de acordo com a profundidade.

Um dos problemas nas análises por RMN de ^{13}C , especialmente no caso de ácidos húmicos isolados de solos de zonas tropicais com predomínio de minerais de argila é o considerável teor de Fe, que causa um alargamento dos sinais devido ao seu paramagnetismo, além de poder alterar o tempo de relaxação, que por sua vez altera a intensidade relativa dos sinais. O problema

é ainda mais acentuado pelo fato de que o isolamento dos ácidos húmicos envolve a acidificação da amostra de solo, o que causa a degradação dos minerais de Fe, aumentando ainda mais sua concentração na solução de ácido húmico. Alguns tratamentos prévios da amostra foram descritos e Canellas *et al.* (2001b) observaram uma melhora considerável na resolução após a adição de uma solução 0,03 M de KCl (Figura 7.16).

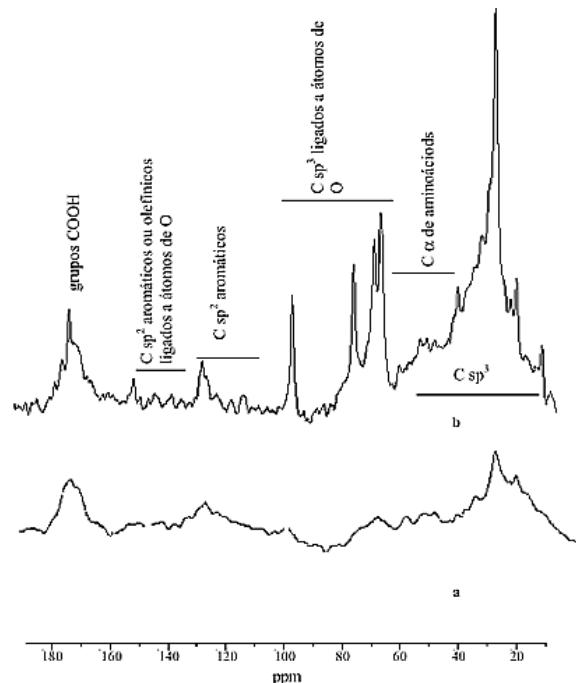


Figura 7.16 Espectros de RMN de ^{13}C de ácido húmico extraído de resíduo orgânico sólido de origem urbana sem (a) e com (b) adição de KCl 0,03 M antes da precipitação do ácido húmico em meio ácido.

Alternativamente, pode ser usada uma solução de HF 10% (Gonçalves *et al.* 2003) e mais recentemente, Schilling e Cooper (2004) investigaram as diferenças no tratamento de amostras de solos minerais com HF/BF_3 2%, ditionito de sódio 4% ou SnCl_2 0,05 M, concluindo que o primeiro tratamento é o que dá melhores resultados.

Dick *et al.* (2002) investigaram ácidos húmicos isolados de carvões de diferentes ranks. À medida que o rank aumenta, isto é, que ele matura, o conteúdo de C aumenta ao passo que o conteúdo de O diminui e este comportamento também é observado nos respectivos ácidos húmicos. Através de RMN de ^{13}C no estado sólido, foi possível observar que as amostras apresentaram altos teores de C aromático, e baixos teores de C carboxílico, em contraste com amostras de ácidos húmicos extraídos de solos. Finalmente, as amostras de baixo rank apresentaram uma abundância mais elevada de grupos O-alquil-C quando comparada às de alto rank, o que foi justificado por uma possível preservação de carboidratos nos carvões de baixo rank.

Pérez *et al.* (2004) utilizaram a RMN de ^{13}C no estado sólido para caracterizar ácidos húmicos isolados de um Latossolo sob diferentes condições de cultivo e não cultivado, concluindo que os ácidos húmicos do solo não cultivado apresentava o menor conteúdo de C

aromático, corroborando as observações de Mathieu *et al.* (1999).

O uso de técnicas bidimensionais, com seu aumento considerável de resolução, decorrente de um espalhamento maior dos sinais, foi muito bem ilustrado por Mao *et al.* (2001).

A Figura 7.17 mostra uma comparação entre os espectros 1D e 2D HETCOR (numa dimensão $\delta\text{-}^1\text{H}$ e na outra $\delta\text{-}^{13}\text{C}$) de um ácido húmico isolado de turfa.

Além de ser possível uma caracterização mais bem detalhada, os autores utilizaram algumas técnicas de edição e foram capazes de observar que grupos metila ligados a átomos de carbono (C-CH_3) estão próximos tanto de átomos de carbono alifáticos quanto de átomos de grupos O-alquil, porém nunca próximos de C aromáticos. Os grupos OCH_3 estão conectados diretamente aos anéis aromáticos, como é típico em lignina. Como resultado, concluíram que cerca de 1/3 dos grupos C-O aromáticos não são fenólicos. Utilizando este tipo de informação, é possível aperfeiçoar o modelo estrutural dos ácidos húmicos.

Outros pesquisadores utilizaram-se da maior resolução de técnicas bidimensionais na caracterização da MOS e alguns outros exemplos são os trabalhos de Cook *et al.* (2003), Mao *et al.* (2003b), Simpson *et al.* (2004), onde podem ser encontradas mais algumas referências sobre estas técnicas.

Mesmo a utilização de técnicas bidimensionais não elimina, como pode ser observado na Figura 7.16, o problema da superposição de sinais num espectro de RMN de MOS. Fazendo-se valer do aumento de resolução que uma dimensão adicional proporciona, Simpson *et al.* (2003) foram capazes de obter uma caracterização com grande detalhe, utilizando RMN tridimensional. A Figura 7.17 mostra os espectros unidimensional de ^1H e bidimensional ^1H - ^{13}C HMQC de um ácido fúlvico isolado do horizonte superficial de um solo de pinheiros.

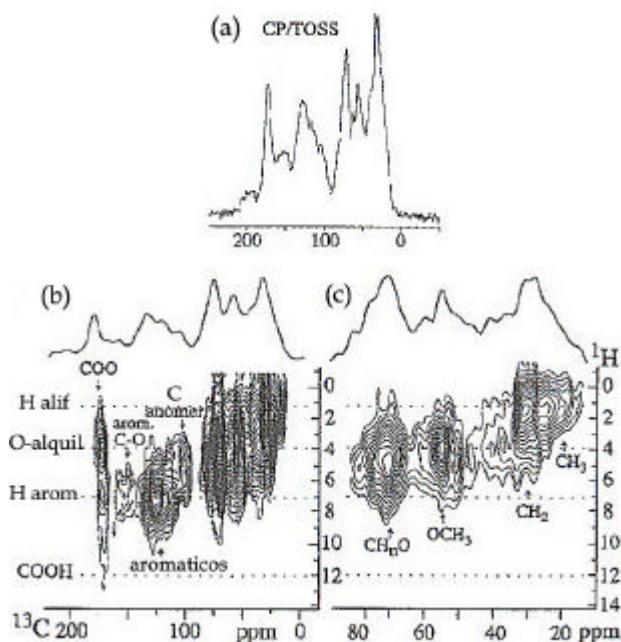


Figura 7.17. Espectros de RMN de ^{13}C de ácido húmico isolado de turfa: 1D (a) e 2D HETCOR (b) e (c). Adaptado de Mao *et al.* 2001.

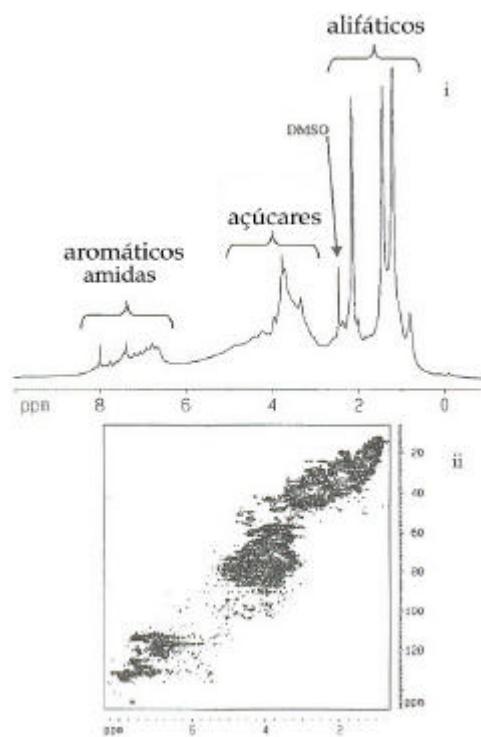


Figura 7.17. Espectro de RMN de ^1H de ácido fulvico isolado de solo de floresta de pinheiros (i) e espectro bidimensional ^1H - ^{13}C HMQC da mesma amostra. Adaptado de Simpson et al. 2003.

Pode-se observar, mesmo no espectro bidimensional, uma considerável superposição de sinais. A Figura 7.18 mostra todo o cubo de um experimento 3D de HMQC-TOCSY em que o eixo x tem as freqüências de ^{13}C (F1) e os eixos y e z contém as freqüências de ^1H (F2 e F3).

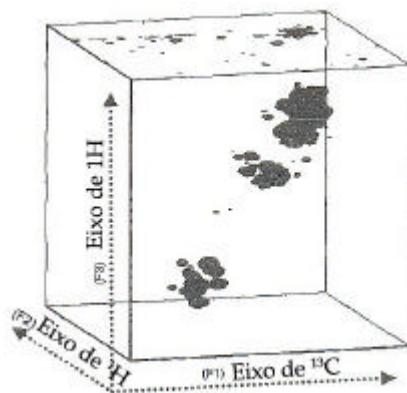


Figura 7.18. Espectro 3D HMQC-TOCSY de ácido fulvico isolado de solo de floresta de pinheiros. Adaptado de Simpson et al. 2003.

A informação de TOCSY (correlação entre os átomos de hidrogênio que acoplam entre si ao longo de uma cadeia alquílica) está contida no plano y - z (F2-F3) e os dados de HMQC (correlação entre ^1H e ^{13}C conectados entre si) estão contidos no plano x - y (F1-F3). O plano x - z (F1-F2) contém informação tanto de HMQC quanto de TOCSY. Fazendo cortes no cubo, criam-se espectros 2D que contém informações importantes sobre acoplamentos e deslocamentos químicos. Especialmente interessantes são os cortes através do plano F1-F2. Assim, para criar um corte, escolhe-se um ponto qualquer no eixo F3 (^1H). A Figura 7.19 mostra um corte F1-F2 através do maior sinal de ^1H , que resulta de unidades CH_2 de cadeias alquílicas longas (Simpson *et al.* 2001) e está em δ 1.3 ppm.

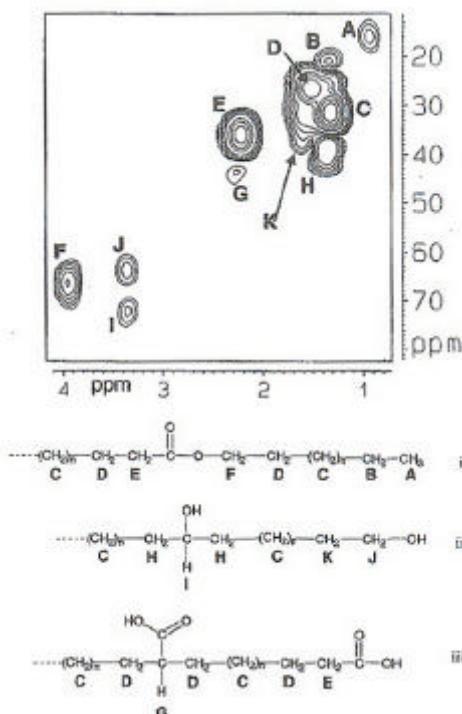


Figura 7.19. Espectro 2D produzido por um corte F1-F2 através do espectro 3D HMQC-TOCSY em δ 1.3 ppm do eixo F3 (^1H) da Figura 17. As letras nas manchas correspondem às estruturas C-H das cadeias alifáticas i-iii. Adaptado de Simpson *et al.* 2003.

O corte F1-F2 resultante produz um espectro bidimensional em que as manchas descrevem os deslocamentos dos átomos de ^1H e ^{13}C das unidades CH_2 e de todas as outras unidades com as quais elas acoplam. Assim, a interpretação fica muito mais fácil, pois o corte possui somente informações de estruturas que contém uma cadeia alquílica longa, havendo uma superposição espectral muito menor do que no espectro 2D HMQC padrão (comparar com a Figura 7.17ii).

A MOS tem sido caracterizada, através dos anos, como uma estrutura de alto peso molecular com ligações cruzadas de macromoléculas. No entanto, através da técnica de DOSY, Simpson (2002) foi capaz de demonstrar que, pelo menos para as amostras estudadas, as substâncias húmicas são, na realidade, associações ou agregados de moléculas de menores pesos moleculares que podem ser rompidos pela adição de ácido. A Figura 7.20 mostra os espectros de DOSY, em duas concentrações diferentes, de um ácido húmico isolado de turfa.

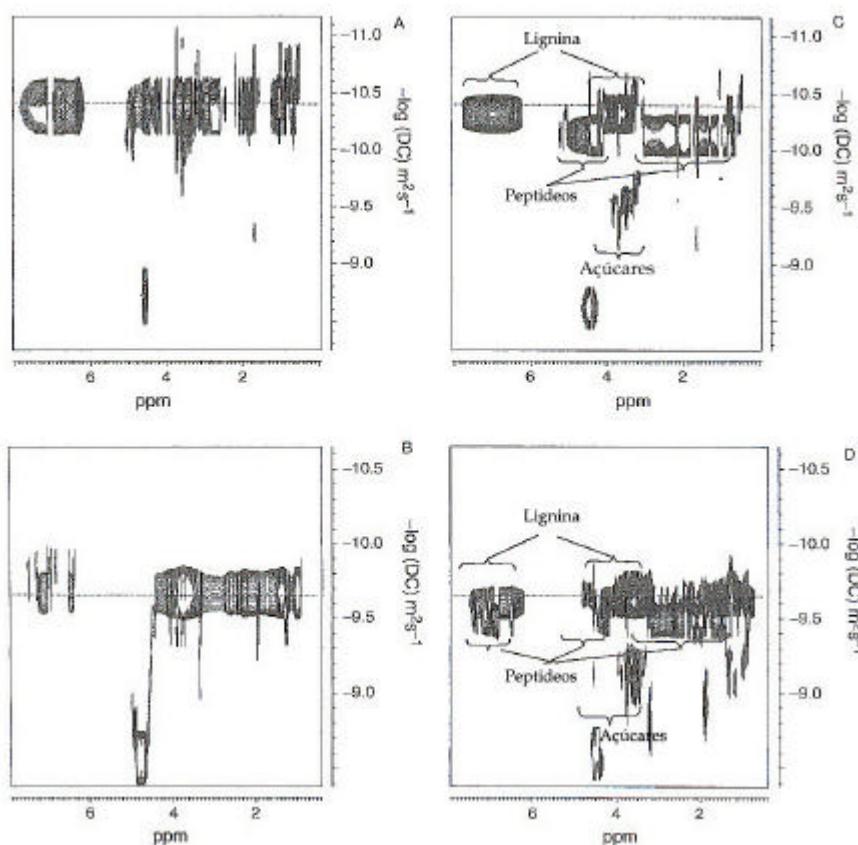


Figura 7.20. Espectros de DOSY de ácido húmico isolado de turfa em concentração de 5mg/ml (A) e 133 mg/ml (B) e após adição de 5ml de ácido acético (C e D). Adaptado de Simpson 2002.

Em ambas as concentrações de ácido húmico, os componentes da mistura exibem coeficientes de difusão semelhantes, indicando que existem associações entre os vários componentes. Entretanto, a adição de ácido acético, que promove a desagregação de materiais húmicos (Piccolo 2002), resulta na formação de bandas discretas de difusão que estão correlacionadas com deslocamentos químicos consistentes as espécies mais abundantes nestas misturas, ou seja, lignina, polissacarídeos e peptídeos (ver também Piccolo *et al.* 2003). Após a desagregação com ácido acético, os coeficientes de difusão médios para cada uma das espécies podem ser calculados (Figura 7.20D). Finalmente, os tamanhos moleculares podem ser extrapolados a partir da comparação destes coeficientes com padrões e os resultados estimam pesos moleculares na região de 200-600, 2000-2500 e ~1000 Da, respectivamente. Este resultado é muito significante, pois a degradação de material vegetal, especialmente em ambientes de floresta, resulta na formação de ácidos orgânicos. Estes ácidos podem, por sua vez, auxiliar a dissociação de material húmico que pode então ser levado aos horizontes inferiores, não se acumulando nos horizontes superficiais, como ocorre em campos cultivados ou áreas de pastagem.

A RMN de ^{31}P foi usada pela primeira vez num extrato de solo por Newman & Tate (1980) e desde então tem auxiliado enormemente no conhecimento sobre os compostos orgânicos de

fósforo na MOS. Canellas *et al.* (2004) investigaram a MOS extraída de um Argissolo (duas profundidades diferentes) cultivado com leguminosas herbáceas perenes (kudzu, *Pueraria phaseoloides* e siratro, *Macroptilium atropurpureum*). Em áreas adjacentes ao experimento foram coletadas amostras do mesmo solo sob cobertura de floresta tropical secundária (capoeira) e capim-colonião (*Panicum maximum*). A Figura 7.21 mostra os espectros de RMN de ^{31}P obtidos a partir destas amostras (por restrições de espaço, somente os espectros das amostras referentes às leguminosas são mostrados). Através da identificação (Cade-Menun e Preston 1996) e quantificação dos diferentes compostos orgânicos de fósforo foi possível observar que os fosfatos em ligações monoésteres são predominantes em todas as amostras de solo e os fosfatos em ligações diésteres são acumulados na camada superficial do solo sob floresta secundária. Mais ainda, foi possível observar um aumento considerável na razão Pdiéster /Pmonoéster com a permanência dos resíduos das leguminosas no solo. Este fato é importante, pois representa um aumento de compostos fosforados mais lábeis, o que, por sua vez, está de acordo com observações prévias (Alvey *et al.* 2001, Daroub *et al.* 2001 e Phiri *et al.* 2001) de que a disponibilidade de P aumenta com a rotação no solo com leguminosas.

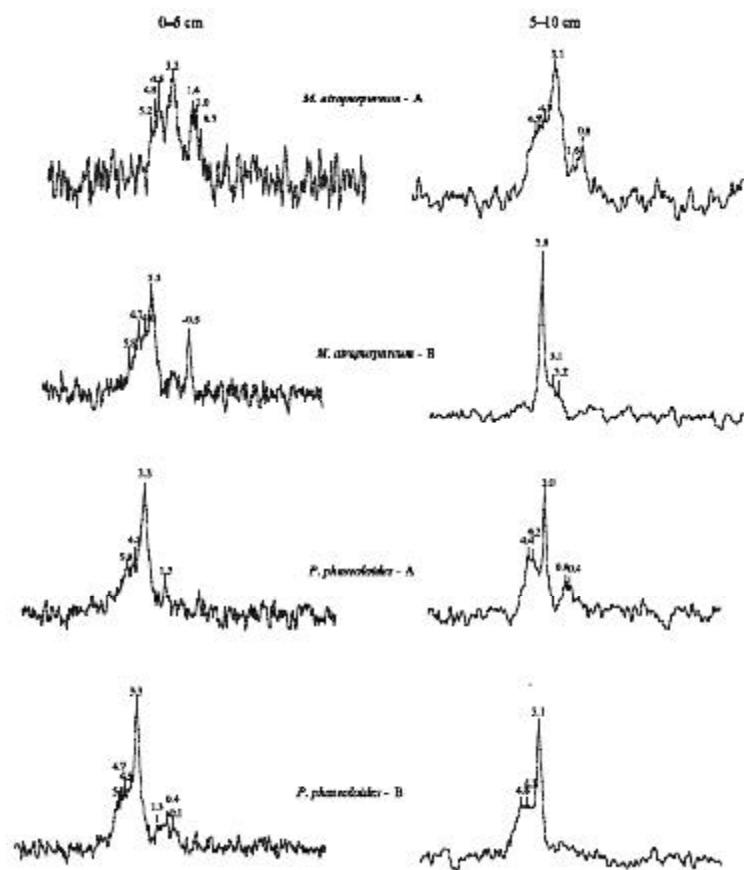


Figura 7.21. Espectros de RMN de ^{31}P de extratos alcalinos de Argissolo (0-5 e 5-10 cm) cultivado com kudzu (*Pueraria phaseoloides*) e siratro (*Macroptilium atropurpureum*). A: sem remoção da parte aérea da leguminosa do solo; B: com remoção da parte aérea da leguminosa do solo.

A análise de ^{31}P pode ser dificultada pelo fato de que durante o processo de extração da MOS, íons paramagnéticos como Fe e Mn, que estão comumente associados aos compostos de P, também são extraídos. Estes íons causam alargamento dos sinais gerando incertezas tanto nos seus assinalamentos quanto em suas integrações. A fim de minimizar estes efeitos, o uso de alguns agentes quelantes tais como Chelex (Ray *et al.* 1990) ou Chelex em conjunto com água ou hidróxido de sódio (Cade-Menun e Preston 1996 e Cade-Menun *et al.* 2002). Apesar de fornecer bons resultados, estes procedimentos são caros e demorados, além do fato de que há a possibilidade de polifosfatos serem removidos da solução. McDowell e Stewart (2005) desenvolveram um método que envolve o uso de Ca-EDTA/ditionito de sódio, que libera o P ligado a Fe sob condições brandas (pH 7,5) sem remover o P orgânico. Utilizando este tratamento, os pesquisadores obtiveram maior definição quanto ao número e à distribuição dos sinais.

Recentemente, Cade-Menun (2005a e 2005b) elaborou duas excelentes revisões sobre o emprego de RMN de ^{31}P aplicada à MOS.

Os estudos de MOS através de RMN de ^{15}N são mais raros devido à baixa abundância natural deste elemento. Assim, geralmente envolvem a dinâmica do nitrogênio no solo através do enriquecimento com ^{15}N . Como exemplo, pode ser citado o trabalho de Tinoco *et al.* (2004) em que foram avaliadas as diferentes formas de C e N nas frações húmicas de um solo mineral de aluvião. Um composto foi preparado a partir de resíduo de lixo urbano, palha de trigo e K^{15}NO_3 . Após 80 dias de incubação, o composto foi adicionado ao solo e após mais 80 dias de incubação, foi feita a análise das diversas frações do solo. A espectrometria de RMN de ^{15}N revelou, para todas as frações um sinal intenso em 70 ppm, assinalado a estruturas amídicas. Os espectros mostraram ainda um sinal em 370 ppm, que corresponde ao conjunto mineral solúvel disponível, o que sugere que a maior parte do ^{15}N adicionado foi transformado em metabólitos microbiais que contém nitrogênio. Os espectros, tanto do composto quanto das frações de solo, não mostraram evidências de produção de novas formas de N (heterociclos, por exemplo) durante a transformação no solo. Estes resultados estão de acordo com os estudos de outros autores (Almendros *et al.* 1991 e Schulten *et al.* 1998) e indicam uma estabilização eficiente de estruturas que contém aminoácidos nas substâncias húmicas.

capítulo 8

Pirólise acoplada à cromatografia gasosa- espectrometria de massas

Luciano P. Canellas

O uso da pirólise acoplada à cromatografia gasosa - espectrometria de massas é uma técnica poderosa na identificação das unidades estruturais das substâncias húmicas. A identificação de compostos por espectrometria de massas é baseada nos mecanismos químicos de fragmentação de uma substância orgânica. As rotas de fragmentação são características dos grupamentos funcionais das moléculas, e os fragmentos produzidos com a ionização do composto servem de “pista” para a identificação das unidades formadoras dos agregados húmicos. Devido à pouca volatilidade do material húmico e ao intrincado problema do que seja o seu tamanho molecular, a espectrometria de massas geralmente é usada com a fragmentação prévia das substâncias húmicas, conseguida com o uso da pirólise, ou seja, a transferência rápida de calor na ausência de oxigênio. Os fragmentos obtidos com a agitação térmica são separados por meio da cromatografia gasosa e analisados pela relação entre a sua massa e a sua carga (m/z). Os caminhos da fragmentação são bastante duros e enfrentados com dificuldade até para um químico experiente, o que não é o caso dos agrônomos e estudantes de agronomia, que, hoje em dia, raramente têm contato com a mecânica de reações orgânicas durante o curso. É recomendada a leitura do livro “Introducción a la espectrometria de masa de sustancias orgánicas” dos Profs. Otto R. Gotllieb, Raimundo Braz-Filho, Afrânio A. Cordeiro e José Wilson de Alencar. Trata-se de um trabalho com vários exemplos sobre a fragmentação dos mais diferentes compostos orgânicos. Para salvação da lavoura, hoje os equipamentos contam, na maioria dos casos, com um arsenal de espectros de massas guardados nas livrarias eletrônicas, fornecidas pelos fabricantes dos equipamentos e dos programas computacionais. A busca nas coleções eletrônicas por similaridade com o espectro obtido facilita muito a vida do pesquisador menos relacionado com a química orgânica avançada. Além das dificuldades teóricas inerentes à espectrometria de massas, cabe ressaltar o elevado custo dos equipamentos envolvidos na técnica (dependendo do modo de ionização da amostra) podem superar em muito o preço dos equipamentos de RMN. Não obstante, os resultados obtidos com a EM aliados aos fornecidos pela RMN têm colocado o problema da determinação estrutural das substâncias húmicas numa esfera muito além da imaginada antes do advento das espectroscopias.

Introdução

A pirólise analítica não é técnica *ideal* para a investigação da estrutura dos materiais macromoleculares complexos, tais como, as susbtâncias húmicas, porém é a *melhor* técnica

para revelar a origem das unidades estruturais (Saiz-Jimenez, 1994).

A pirólise é caracterizada pela degradação térmica de materiais em atmosfera inerte, diferente da combustão, na qual a matéria é queimada na presença do oxigênio atmosférico. Na técnica de pirólise, quando uma macromolécula absorve energia térmica por meio da transferência rápida de calor, ocorre a distribuição da energia ao longo da molécula promovendo a vibração do eixo das ligações. A relaxação dessa vibração acontece com a quebra, homolítica ou heterolítica, das ligações mais fracas. Os fragmentos são removidos rapidamente, separados com o uso da cromatografia gasosa e depois identificados pela espectrometria de massas.

De acordo com Bracdweel *et al.* (1989), a pirólise pode ser realizada dentro do forno ou em pirolisadores específicos. Na pirólise com o uso de forno, a amostra de substâncias húmidas é colocada rapidamente com ajuda de um dispositivo mecânico numa zona quente mantida na temperatura de pirólise. Neste método, é preciso um volume grande de amostra e a taxa de transferência de energia térmica é pequena. O volume de fragmentos produzidos também é pequeno, o que, nesse caso, apresenta uma vantagem na detecção direta por espectrometria de massas. Já nos filamentos pirolisadores, são usadas outras fontes de energia térmica. Existem dois tipos de filamentos utilizados em pirólise. O primeiro trata-se do filamento aquecido por uma corrente de calor (resistência) à temperatura de pirólise. A taxa de aquecimento é variável e a amostra é colocada numa cubeta de quartzo próximo ao filamento e a temperatura é aumentada na ordem de 600 ms. O outro método disponível é o uso de pirolisador com filamento ferromagnético, que é aquecido por indução de calor por meio de uma bobina de radiofrequência em taxas que variam de 5 a 150 ms. A temperatura final é determinada pelo *Curie Point* do material, acima do qual, a energia magnética não é efetivamente absorvida. A escolha do tipo de metal que compõe o filamento (Fe, Co ou Ni) determina a temperatura de pirólise. Existem, ainda, pirolisadores a *laser*, com os quais a amostra alcança a temperatura de pirólise em tempos muito baixos (na ordem de 1 ms). Porém, o plasma produzido pelo *laser* pode dar lugar a uma série muito complicada de composição fotolítica, originando fragmentos muito pequenos. A pirólise por *Curie Point* é normalmente a mais utilizada pois apresenta algumas vantagens, tais como, alta sensibilidade, boa reprodutibilidade e facilidade de automação.

A composição dos produtos da pirólise depende diretamente da temperatura de pirólise. A faixa de temperatura utilizada para as substâncias húmidas está na ordem de 500 a 700°C, quando se obtém energia suficiente para aumentar a vibração de uma estrutura orgânica com ligações co-valentes e provocar sua volatilização e fragmentação. Para as substâncias húmidas de origem tropical, Marbot (1999) encontrou uma temperatura ótima de 400°C, sugerindo que o teste de temperatura de pirólise deve ser feito antes do processamento das amostras.

O principal problema envolvido no desenvolvimento de pirolisadores está relacionado à retirada dos fragmentos imediatamente após a quebra das ligações, com o objetivo de se evitarem as reações secundárias e a formação de outros produtos, gerando artefatos e dificultando a identificação da origem das unidades estruturais. A aceleração dos fragmentos é conseguida com uma diferença de potencial aplicada e, ainda, com o uso de alto vácuo.

A amostra sólida colocada no filamento aquecido sofre vaporização e é ionizada, ou seja, há a formação e emissão de íons. A razão do número de fragmentos ionizados formados (n_+) e

o número de fragmentos neutros (n_0) depende da temperatura, da natureza do suporte da amostra e de sua matriz. A eficiência da ionização é dada pela equação:

$$n_+ / n_0 = A \exp^{-[(W-I)/kT]}$$

onde W é uma função de trabalho (energia necessária para remover um elétron da superfície) do suporte do material; I é a energia da primeira ionização da amostra; k é a constante de Boltzmann; e T é a temperatura absoluta do suporte. W e I são expressos em eV. A eficiência da ionização é maior se W for grande e I , pequeno.

O principal incoveniente da análise de pirólise é que o espectro obtido corresponde a uma mistura bastante complicada de produtos da amostra, o que torna extraordinariamente complexa, e, muitas vezes, impossível a identificação de boa parte dos fragmentos produzidos.

Após a quebra das macromoléculas pela pirólise, a análise dos fragmentos pode ser realizada diretamente por espectrometria de massas (EM) (Técnica de injeção direta e ionização suave dos fragmentos da pirólise desenvolvida por Schulten *et al.* 1973) ou com a ajuda da separação cromatográfica dos produtos da pirólise. Várias empresas oferecem o conjunto cromatógrafo a gás (CG) acoplado pela interface com o pirolisador e com detecção dos fragmentos por EM. Geralmente, são utilizadas colunas de sílica fundida e temperaturas elevadas no forno do cromatógrafo. A separação dos produtos da pirólise com a CG é baseada no fato de que a velocidade de arraste do fragmento pelo gás é uma função de seu peso molecular (lei da difusão de Graham). Com isso, espécies de menor peso molecular são removidas primeiro com a passagem do gás. Com a separação dos fragmentos, os picos de separação revelados pelo cromatograma são identificados pela EM.

Com o uso de uma fonte ionizante (o mais comum é um feixe eletrônico de energia), os produtos da pirólise, separados no tempo pela cromatografia gasosa, são fragmentados em diferentes íons com uma relação massa:carga (m/z) específica. O evento mais simples que pode ocorrer é a retirada de um elétron do fragmento pelo feixe eletrônico e a formação de um radical positivo (m^+) (o ponto simples indica a presença de um elétron desemparelhado). Este fragmento é decomposto em fragmentos iônicos menores (íons m/z). Os fragmentos são detectados por um analisador de massas. Nos espectrômetros de massas mais recentes, o analisador é composto por quatro eletrodos metálicos, dispostos perpendicularmente entre si e conectados diagonalmente. Cada par de eletrodo recebe uma combinação de voltagem de radiofrequência (rf) e uma corrente contínua (cc) de amplitude crescente. Um par recebe rf a uma voltagem e cc + e outro recebe a rf com diferença de fase de 180° e cc -. Aplicando-se relações adequadas de rf/cc, é possível fazer atravessar pelo analisador somente íons com uma relação massa carga específica. Depois de analisados, os fragmentos são registrados e o espectro de massas é gravado (Constantin & Schnell, 1990). A ionização pelo impacto de elétrons promove, via de regra, uma fragmentação muito grande dos produtos da pirólise impedindo, na maior parte das vezes, a obtenção do íon molecular e, com isso, não permitindo a identificação dos fragmentos. Por essa razão, há uma corrida tecnológica pelo desenvolvimento de métodos suaves de ionização, tais como, dessorção de campo, ionização por campo, ionização orgânica etc, que encarecem cada vez mais os equipamentos. Uma análise desses modernos métodos de ionização foge do escopo desse capítulo.

O espectro de massas é um gráfico contendo as massas dos fragmentos carregados positivamente com as suas concentrações relativas. O pico mais intenso é chamado de pico

base e tem sua intensidade arbitrada em 100%. Há ainda os picos de íons metaestáveis, correspondentes aos íons metaestáveis formados depois da passagem do fragmento pela câmara de ionização e, geralmente, com um valor m/z não-integral. É possível, ainda, a existência de picos secundários decorrentes da reação entre íons formados e a molécula. A intensidade desses picos é dependente da extensão dessas reações paralelas. A transferência de um próton para os íons moleculares e a formação do íon “quase molecular” é o exemplo mais importante (Gottlieb *et al.*, 1983)

O reconhecimento dos caminhos e mecanismos de fragmentação e dos rearranjos atômicos numa molécula orgânica é a base da correlação entre a seqüência de fragmentação e a estrutura das substâncias. Uma revisão importante desse assunto é encontrada em Gottlieb *et al.* (1983) e é referência obrigatória para o estudo de fragmentação.

A fragmentação de uma molécula é iniciada com a sua ionização. A fonte ionizante mais comum é um feixe de elétrons a 70eV (ionização por impacto de elétrons). Existem outros tipos de ionização mais suaves, comentados anteriormente, como por exemplo, a dessorção de campo, na qual uma amostra é dessorvida de uma superfície ionizada (formada por microagulhas de Si e C) pela passagem de um campo elétrico forte com diferença de potencial de 5 a 10 KW entre dois eletrodos, ou, pelo bombardeamento da amostra com átomos neutros (técnica FAB, *faster atom bombardment*) ou ainda pela ionização conhecida como “electronspray”. Essas fontes de ionização permitem uma fragmentação menor das amostras e, no caso de moléculas orgânicas maiores, detectar o íon molecular, ou seja, a massa da molécula inteira menos um elétron. No entanto, tornam os aparelhos de EM excepcionalmente caros.

Com a ionização do fragmento, pode ocorrer uma quebra homolítica ou heterolítica de uma ligação simples do fragmento. Na quebra homolítica, só um elétron move-se independentemente, gerando fragmentos que são um cátion (número par de elétrons) e um radical livre (com número ímpar de elétrons).



Na quebra heterolítica, um par de elétrons se move em direção à carga:



Os produtos também são um cátion e um radical. A quebra de uma ligação está associada à força dessa ligação, à possibilidade de transição e à estabilidade dos fragmentos formados. Nas Tabelas 8.1 e 8.2 (extraídas de Gottlieb *et al.*, 1983), encontram-se os principais fragmentos com significado estrutural num composto orgânico.

Tabela 8.1. Possíveis significados estruturais das massas de fragmentos (Gottlieb *et al.*, 1983)

Massa	Significado estrutural	Massa	Significado estrutural
1	1H	39	CH ₃ H ₃
2	2H	40	CH ₃ H ₄
3	3H	41	CH ₃ H ₅
4	4H	42	C ₃ H ₆ , CH ₂ CO
14	CH ₂	43	C ₃ H ₇ ., CH ₃ CO·; HNCO
15	CH ₃	44	C ₃ H ₈ , CO ₂ , C ₂ H ₄ NH ₂ ⁺ , CONH ₂ [·] , CH ₃ CHO
16	CH ₄ , O	45	CH ₂ H ₅ O, COOH
17	OH	46	NO ₂ [·]
18	H ₂ O	47	FC ₂ H ₄ ., CH ₃ S
19	F	49	ClCH ₂ [·]
20	HF	57	C ₂ HSCO [·] , C ₄ H ₉ [·]
26	C ₂ H ₂	58	C ₃ H ₈ N [·]
27	C ₂ H ₃ , HCN	59	CH, CH ₃ COO [·] (CH) ₂ COH
28	C ₂ H ₄ , CO, N ₂	60	CH ₃ CO ₂ H, O ₂ NCH ₂ [·]
29	C ₂ H ₅ , CHO	61	
30	C ₂ H ₆ , CH ₂ O, NO ₂ , H ₂ NCH ₂ .	69	C ₅ H ₉ ., C ₃ H ₅ CO
31	CH ₃ O	70	C ₅ H ₁₀
32	CH ₃ OH	71	C ₅ H ₁₁ [·] , CH ₃ CO ₂ CH ₂ ⁺
33	FCH ₂	72	C ₂ O ₃
34	H ₂ S	79	Br
35	Cl.	85	C ₆ H ₁₃ [·] , C ₄ H ₉ CO [·] , C ₃ H ₅ CO ₂ [·]
36	HCl	127	I

Os principais produtos obtidos com a pirólise de ácidos húmicos e fúlvicos foram compilados por Marbot (1999) como: fenóis; derivados de carboidratos (furanos); ácidos graxos e seus ésteres; hidrocarbonetos aromáticos (alquilbenzeno, naftaleno, antraceno); hidrocarbonetos saturados e insaturados, lineares ou ramificados, cíclicos e acíclicos, bem como os compostos nitrogenados e sulfurados.

De acordo com a revisão feita por Saiz-Jimenez (1994), a pirólise acoplada à cromatografia gasosa/espectrometria de massas (P-CG/EM) foi utilizada pela primeira vez por Simmonds *et al.* (1969), em amostras do deserto da Califórnia, com a perspectiva de utilização da técnica numa missão exploratória em Marte. Foi constatada a possibilidade de utilização da técnica para estudos da matéria orgânica do solo, em aspectos relacionados com a geoquímica, determinação estrutural e ecologia da humificação (Schulten, 1993).

Na Tabela 8.3, encontram-se os principais produtos obtidos da pirólise de extratos orgânicos de ácidos húmicos, fúlvicos e do horizonte Ap de um Haplaquoll e, na Figura 8.1, encontram-se as principais estruturas encontradas (Schulten & Schnitzer, 1992; 1993).

As principais unidades estruturais dos ácidos húmicos determinadas por P-CG/EM foram constituídas por grupamentos alquil e aril. Na análise dos grupamentos alquil obtidos do extrato hexânico de ácidos húmicos, Schnitzer & Schulten (1989) observaram a presença na série de n-alcenos com razão massa: carga (m/z) de 240 (C₁₇), 576 (C₄₁), 842 (C₆₀) e 884 (C₆₃). O componente mais abundante foi m/z 368 (C₂₄). Na série homóloga de n-ácidos graxos foi sugerida a presença de m/z 256 (C₁₆), 312 (C₂₀), 326 (C₂₁), 340 (C₂₂), 368 (C₂₄), 396 (C₂₆), 410 (C₂₉), 424 (C₂₉), 452

(C₃₁) e 480 (C₃₃) e seus respectivos ésteres monoméricos, com íons moleculares de m/z entre 676 a 704.

Estudando a composição química de três tipos de húmus florestais (do tipo mull, moder, mor), Hempfling & Schulten (1990) observaram que a qualidade da fonte de matéria orgânica influenciam as condições químicas do húmus formado. Foram encontrados polissacarídeos, ligninas, proteínas, lipídios, polifenóis e polímeros alifáticos. No húmus do tipo *mor*, formado principalmente por resíduos de gimnospermas, o comportamento térmico foi diferenciado, observando-se uma faixa de temperatura maior de evaporação e degradação térmica, revelando maior heterogeneidade nos tipos de ligações e, possivelmente, maior interação física da matéria orgânica com as partículas minerais.

Ainda conforme estes autores, os produtos da pirólise de baixo peso molecular foram semelhantes para todos tipos de húmus estudados, sendo que, no *mor*, subunidades de sirilgil foram mais abundantes.

Tabela 8.2. Possíveis significados estruturais dos picos (m/z) dos espectros de massas de compostos orgânicos (Gottlieb *et al.*, 1983)

m/z ⁽¹⁾	Estrutura	origem
	compostos alifáticos	
30 + 14 (n-1)	C _n H _{2n} =NH ₂ ⁺	amina
31 + 14 (n-1)	C _n H _{2n} =OH ⁺	álcool/éter
45 + 14 (n-1)	C _n H _{2n} =OC _v H _{2v-1}	éter
47 + 14 (n-1)	C _n H _{2n} =SH ⁺	tiol/tioéter
61 + 14 (n-1)	C _n H _{2n} =S C _v H _{2v-1}	tioéter
29	HCO	aldeído
43 + 14 (n-1)	C _n H _{2n+1} CO ⁺	cetona
44	H ₂ N-CO ⁺	amida
45	HO-CO ⁺	ácido
74	CH ₂ =C(OMe) ⁺⁺ OH	éster metílico
60	CH ₂ =C(OH) ⁺ OH	ácido
59	CH ₂ =C(NH ₂) ⁺	amida
41 + 14 (n-1)	C _n H _{2n+1} CN ⁺	nitrila
15 + 14 (n-1)	C _n H _{2n+1}	alcanos
28 + 14 (n-2)	C _n H _{2n} (n>2)	alcenos
41 + 14 (n-3)	C _n H _{2n-1} (n>3)	alcenos
	compostos aromáticos	
26, 39	C ₂ H ₂ ⁺⁺ ; C ₃ H ₃	benzeno
50, 51	C ₄ H ₂ ⁺⁺ ; C ₄ H ₃ ⁺	
52, 65	C ₄ H ₄ ⁺⁺ ; C ₅ H ₅ ⁺	
76, 77	C ₆ H ₄ ⁺⁺ ; C ₆ H ₅ ⁺	
26, 39	C ₂ H ₂ ⁺⁺ ; C ₃ H ₃ ⁺	derivado do benzil
65, 91	C ₅ H ₅ ⁺ ; C ₇ H ₇ ⁺	
105	C ₆ H ₅ CO ⁺	derivado do benzoil
149	C ₆ H ₄ (CO) ₂ OH ⁺	derivado do oftaloil

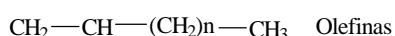
(1) n= 1, 2, 3 etc.

Tabela 8.4. Principais produtos da pirólise de extratos orgânicos de ácidos húmicos, fúlvicos e do horizonte Ap de um Haplaquoll. (Adaptação de Schnitzer & Schulten, 1995)

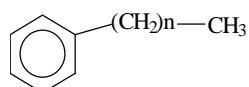
Componentes	Ácidos húmicos	Ácidos fúlvicos	Solo
n alcanos	C ₁₇ -C ₁₀₁	C ₂₀ -C ₇₄	C ₁₇ -C ₃₄
n-alcenos	C ₂₂ -C ₅₁	Nd	C ₈
n-ácidos graxos	C ₁₅ -C ₃₃	C ₁₆ -C ₃₄	C ₁₄ -C ₃₀
n-álcoois	Nd	Nd	C ₂₉
Dióis	C ₁₆ ,C ₂₄ , C ₃₁ , C ₃₂	C ₂₄	nd
Esteróis	C ₂₈ -C ₂₉	C ₂₇ -C ₂₉	nd
n-alquil-monoésteres	C ₄₀ -C ₆₈	C ₄₄ -C ₆₈	C ₃₈ -C ₅₂
n-alquil-diésteres	C ₆₅ -C ₆₆	C ₅₆ -C ₆₆	nd
n-alquil-triésteres	C ₇₅ -C ₉₃	Nd	nd
Ácidos dióicos	Nd	Nd	C ₁₈ , C ₂₆



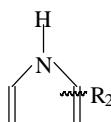
Alcanos



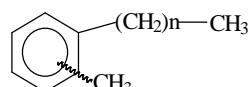
Olefinas



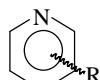
Alquilbenzenos



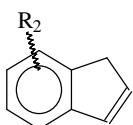
pirróis metil substituídos



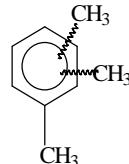
metil-alquil-benzenos



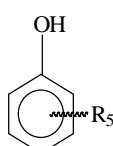
piridinas metil substituídas



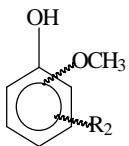
indenos metil substituídos



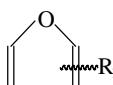
benzenos metil substituídos



fenóis metil substituídos



metóxi fenóis metil substituído



furanos metil susbtituídos

Figura 8.1. Principais unidades estruturais de AH observadas por pirólise acoplada a cromatografia gasosa e espectrometria de massas (Schulten & Schnitzer, 1992).

A técnica termodegradativa tem-se constituído uma ferramenta importante na avaliação de contaminação das terras agrícolas por poluentes e na avaliação das mudanças qualitativas da matéria orgânica do solo, submetida a diferentes tipos de manejo. Leeuw *et al.* (1986) detectaram a presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, compostos com enxofre e poliestirenos em solos da Holanda.

Canellas *et al.* (2000) estudaram a composição das unidades estruturais de ácidos húmicos isolados de matéria orgânica de origem urbana (composto de lixo domiciliar urbano e lodo da estação de tratamento de esgoto) por meio da P-CG/EM. Os cromatogramas dos produtos da pirólise (Figura 8.2) foram bastante diferentes, dependentes da fonte de matéria orgânica de onde os ácidos húmicos foram isolados. A lista dos produtos da pirólise identificados com a espectrometria de massas se encontra na Tabela 8.4.

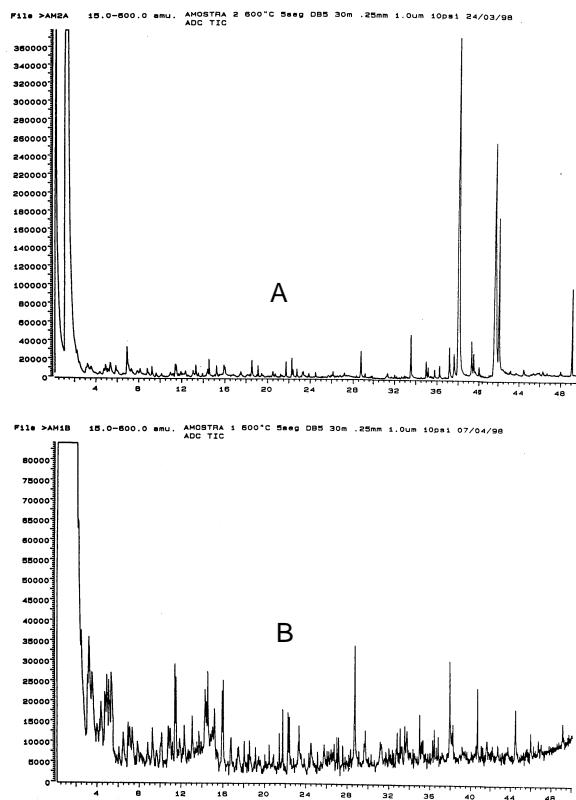


Figura 8.2. Cromatograma dos produtos da pirólise de ácidos húmicos extraídos do composto de resíduos sólidos (A) e de ácidos húmicos extraídos do lodo da estação de tratamento de esgotos (B).

Na região de C alquílicos foram identificados compostos com longas cadeias alquílicas (m/z 270 e 185), principalmente de 2-metil hexadecano (m/z 192). Os compostos com fragmentos de razão massa:carga maior foram predominantes nos ácidos húmicos isolados do lodo de esgoto (m/z 541, 549, 555, 556, 559, 563, 578 e 590) e correspondem ao padrão de fragmentação de mono e diaril ésteres com cadeia alquílica longa. Resultados semelhantes foram encontrados por Leinweber *et al.* (1996), em solos com adição recente de lodos da estação de tratamento de esgotos, ou seja, a presença de ácidos graxos em maior quantidade nos ácidos húmicos.

Nos ácidos húmicos isolados do composto de lixo urbano, foi mais intensa a presença dos ácidos octadecanoíco (m/z 284), heptadecanoíco (m/z 282) e palmítico (m/z 256), enquanto, nos ácidos húmicos isolados do lodo de esgoto, predominaram os ácidos hexanoíco (m/z 120) e limoneno (m/z 136), ou seja, ácidos graxos de cadeia mais curta. A presença de ácidos graxos voláteis segundo Keeling *et al.* (1994), pode ser indicativo de algum grau de anaerobiose nos estágios iniciais da compostagem dos resíduos.

De acordo com Khan & Schnitzer (1972) a tendência, com a maturação dos AH, é o desaparecimento dos ácidos graxos e a permanência de alcanos na região de C alquílicos.

Tabela 8.4. Análise por pirólise – cromatografia gasosa/espectrometria de massas (P-CG/EM) de ácidos húmicos extraídos do composto de resíduo urbano (AH-CRSU) e de lodo da estação de tratamento de esgoto (AH-LETE). Adaptado de Canellas *et al.*, 1999a)

pico	T R	AH LETE	AH CRSU	possível atribuição	m/z (observados acima de 50% de intensidade do espectro)
2	5,35	***	**	Metilbenzeno	92, 91, 77
1	4,89	**	**	monómeros de ligninas	94, 67, 41, 39, 28
13	11,21	*	*	Dimetilpirrol	95, 60, 39, 27
3	5,87	*	**	derivado do imidazol	97, 84, 54, 26
5	7,3	*	*	2,5-Furandiona	98, 54, 26
27	15,91	****	****	álcool furfúlico	98, 68, 53, 39
10	9,62	*	*	Heptanol	98, 68, 40, 27
8	8,8	*	*	Estireno	104, 78, 77, 51
7	8,13		*	Xileno	106, 91, 77, 65
18	12,37	**	*	pirrol 2-carboxialdeído	95, 94, 66, 39, 28
19	12,57	*	*	dimetil piridina	107, 77, 67, 27
4	6,89	*	***	Furfural	98, 96, 67, 39
9	9,23	*	*	Metilfenol	108, 107, 93, 80, 54
6	7,84	*	*	não identificado	93, 66, 39
12	10,98	*	*	Diidroxibenzeno	110, 109, 51, 27
23	13,93	*	*	1,2-propadienil benzeno	116, 115, 42, 27
16	11,72	*	*	propenil 2-benzeno	118, 117, 78, 65
24	14,4	***	*	ácido hexanoíco	116, 105, 73, 60
25	14,53	***	***	metil furfural	120, 107, 90, 77
26	15,22	**	**	4-metoxi fenol (guaiacol)	124, 109, 95, 81
22	13,55	*	*	não identificado	127, 113, 110, 97, 67, 58, 41, 29
35	20,49	**	**	ácido heptanoíco	130, 115, 73, 60
28	16,02	***	**	Escatol	132, 99, 56, 28,
14	11,42	**	*	tetraidroquinolina	133, 94, 66, 39
15	11,52	**	*	2-metilbenzoxazol	133, 97, 54, 26
33	19,13	*	*****	hidroxiacetofenona	120, 91, 51, 27
21	13,32	*	**	Limoneno	136, 93, 65, 68, 43
20	13,06	**	*	derivado do naftaleno	142, 138, 57, 41
31	18,56	*****	*****	cresol (metil guaiacol)	138, 122, 94, 95, 77, 55
30	18,38	**	**	1,4-dimetoxibenzeno	138, 123, 95, 77
32	19	*	*	3,5-diidroxi-2-metilpiranona	126, 98, 97, 109, 98, 69, 41, 29
38	21,75	*****	*****	Diidrohexose	144, 98, 69, 29
29	17,51	**	**	não identificado	148, 122, 115, 107, 91, 85, 73, 60
45	24,5	**	**	dimetilisopropilbenzeno	148, 105, 57, 43
41	22,75	*	**	1-(2-hidroxi-5-metilfenil)-etanona	150, 135, 107, 77
39	22,29	**	*****	5-metil- 2-(1-metiletil)fenol	150, 135, 107, 77
37	21,23	*	*	4-etyl- 2-metoxifenol	152, 137, 122, 91
42	23,27	**		2,6-dimetóxi fenol	154, 139, 111, 65

Tabela 8.4. Cont.

pico	T R	AH LETE	AH CRSU	possível atribuição	m/z (observados acima de 50% de intensidade do espectro)
44	23,88	*	*	dimetil naftaleno	160, 73, 60, 29
46	26,15	*	***	eugenol (alil guaiacol)	164, 149, 121, 77
40	22,39	*****	*	ácido 1, 2 -dicarboxílico benzeno	166, 148, 104, 76
47	27,3	**	*	Acetovanilona	166, 99, 71, 57, 43
34	19,46	*	*	ftalato de diótila	390, 278, 83, 76
43	23,34	*	*	ácido decanóico	172, 155, 73, 60
57	34,5	*	*	aldeído coniferílico	178, 150, 71, 57
55	32,93	*	*	n-olefinas	194, 179, 57, 41
48	28,3	*	*	álcool coniferílico	180, 137, 94, 77
50	29,1	*	*	acetato de guaiacila	180, 165, 137, 91, 65
52	32,01	*	*	n-olefinas	182, 181, 55, 41
49	28,74	****	***	n-alcano	74, 60, 41, 29
53	32,19	*	*	2-metilhexadecano	240, 192, 99, 43
36	20,72	*	*	metoxipirocatecol	140, 125, 97, 51
56	33,55	*****	**	ácido tetradecanóico	228, 73, 60, 43
59	35,17	**	**	metil dodecil benzeno	242, 73, 55, 41, 29
63	37,61	***	***	ácido hexadecanóico	254, 236, 55, 41
62	37,18	*****	*****	ácido hexadecanóico ramificado	256, 73, 60, 43, 29
64	38,13	*****	*****	ácido palmítico	256, 129, 60, 43, 29
65	39,29	*	*	n-alcenos	268, 241, 57, 43, 29
66	39,49	*	*	n-alcenos	268, 241, 57, 41, 29
67	40,01	*	*	n-alcenos	270, 256, 43, 57, 43
61	36,25	***	**	ftalato de neo-butila	224, 223, 149, 122, 41
70	43,18			não identificado	280, 256, 236, 67, 55, 29
17	11,93	*	*	n-alcenos	282, 281, 84, 55, 29
60	35,79	**	**	n-alcenos	282, 281, 83, 73, 43, 29
68	41,71	*	*	heptadeceno(8)-1-ácido carbônico	282, 264, 83, 69, 55, 29
69	42,07	*	*	ácido octadecanóico	284, 241, 83, 73, 43, 29
71	44,44			alquil monoésteres e série homóloga/ insaturado	316, 281, 257, 225, 208, 180, 166, 152, 124, 96, 70, 41, 28
54	32,67		**	derivados da-Galactose	327, 135, 136, 73, 60
72	49,03			ácidos graxos (C22)	346, 331, 283, 71, 57, 43
51	40,01			n-ácidos graxos (C23)	356, 281, 221, 84, 73, 28
58	34,99	**	**	Tocoferol	430, 242, 73, 43
73	6,13			alquil monoésteres e série homóloga	514, 473, 119, 87, 43
84	16,76			alquil monoésteres e série homóloga	542, 504, 452, 90, 51
75	25,93			alcenos (C39)	546, 510, 368, 168,
81	18,25	**	*	alquil monoésteres e série homóloga	550, 544, 109, 69, 29
79	21,42	**	*	alquil monoésteres e série homóloga	552, 527, 69, 41
80	40,65	*	*	alquil monoésteres e série homóloga	554, 508, 105, 71, 57
83	14,17	*	**	alquil monoésteres e série homóloga	555, 508, 112, 85, 28
86	36,76	*	**	alquil monoésteres e série homóloga	556, 481, 110, 97, 41
76	46,25	*	**	alcenos (C40)	560, 474, 69, 41
11	10,13	**	**	alquil monoésteres e série homóloga	564, 550, 68, 39
78	16,77	***	**	alquil monoésteres e série homóloga	578, 180, 117, 92, 41
77	14,3	**	**	alquil monoésteres e série homóloga	582, 498, 104, 85, 28
85	33,04	**	**	alquil monoésteres e série homóloga	590, 511, 469, 439, 387, 355, 318, 265, 203, 186, 130, 93, 38
82	24,49	**	**	alquil monoésteres e série homóloga	592, 506, 130, 74, 18
74	7,03	**	**	alquil monoésteres e série homóloga	598, 551, 108, 80, 41

* intensidade no cromatograma entre 5-10%, **10-20%, ***20-30%, ****30-50%, *****acima de 50%

Por meio dos fragmentos e suas respectivas intensidades relativas, o reconhecimento por similaridade, na biblioteca Nist, permitiu observar nos ácidos húmicos isolados da matéria orgânica de origem urbana, a presença de ftalato de dioctila e ftalato de neobutila (sinal do picograma mais intenso nos ácidos húmicos obtidos do composto de lixo). Foi descartada a hipótese de contaminação na manipulação das amostras uma vez que todos os frascos e equipamentos eram de vidro ou metal. A presença de ftalatos em resíduos de origem urbana foi observada por Ziogou *et al.* (1986). Apesar de alguns microrganismos e plantas sintetizarem ftalatos, a principal fonte é a produção industrial de plásticos. Analisando a decomposição de ftalatos nos solos Inman *et al.* (1984), por meio da incubação de ácido ftálico, monobutilftalato e dibutilftalato marcados com ^{14}C , observaram que a maior parte dos compostos é degradada até $^{14}\text{CO}_2$ como resultado da atividade microbiana que realiza a hidrólise do éster butílico e quebra do anel aromático. O grupo carboxila é liberado como CO_2 durante a quebra do anel ou depois de metabolizado (depois da degradação de succinato ou piruvato). A principal enzima responsável por essa atividade é a esterase que tem seu pleno funcionamento em condições de pH próximas da neutralidade. Uma parte do carbono dos ftalatos pode ser incorporada na biomassa microbiana e também retida na matéria orgânica estável do solo. A identificação da incorporação de fragmentos de ftalatos de dioctila na estrutura dos AH estudados, através de reações químicas ou enzimáticas, corrobora esta hipótese e, se usada com cuidado, pode indicar o grau de contaminação da atividade humana no solo.

Na região de carbonos aromáticos, foram identificados em maior quantidade, nos ácidos húmicos isolados do lodo da estação de tratamento de esgoto, os compostos derivados do naftaleno (dimetil naftaleno, m/z 160), derivados do benzeno (metildodecilbenzeno, m/z 242) e dimetilisopropilbenzeno (m/z 148). Os compostos derivados do benzeno presentes nos produtos da pirólise dos ácidos húmicos do composto de lixo apresentaram fragmentos de menor massa, tais como m-xileno, tolueno (m/z 93), propenilbenzeno (m/z 117), 1,2-propadienilbenzeno (m/z 116). Estes compostos foram identificados também por Schnitzer & Schulten (1982) como parte dos compostos aromáticos de ácidos húmicos extraídos de solos de clima temperados. Uma série de compostos derivados da lignina foram identificados a partir da fragmentação dos produtos voláteis da pirólise dos ácidos húmicos, como os monômeros (m/z 108) e os compostos cresol (m/z 108), acetovanilona (m/z 166), álcool coniferílico (m/z 180), aldeído coniferílico (m/z 178) e tocoferol (m/z 429). Essa análise sugere que mesmo para matéria orgânica de origem urbana a transformação de ligninas é um importante mecanismo de formação de substâncias húmicas. Como representantes dos compostos oxiaromáticos mais intensos nos ácidos húmicos do lodo, foram encontrados picos característicos de fenóis substituídos, principalmente 4-metoxifenol (m/z 124), 2-metoxi, 4-metilfenol (m/z 138), 4-etyl-2-metoxifenol (m/z 152). Os AH-CRSU não apresentaram pico de fóton molecular m/z154 característico de 2,6-dimetoxifenol.

Nos carbonos oxigenados foi observada uma série de furanos (m/z 107) substituídos, característicos da degradação de carboidratos, principalmente metilfurano aldeído (m/z 120), 2-metanolfurano (m/z 98), 2,5-furanodiona (m/z 98). No AH-LETE, foram encontrados fragmentos constituintes de unidades de galactose (m/z 327) que não se encontram presentes nos AH-CRSU.

A presença de compostos derivados das ligninas, de fenóis e de furanos na estrutura dos ácidos húmicos mostra que as vias de formação das substâncias húmicas em solos descritas em Stevenson (1994), são válidas também para a evolução da matéria orgânica de resíduos de origem urbana. A alteração de compostos lignificados, as reações de condensação de polifenóis e a neossíntese microbiana de compostos são as principais vias de formação dessas substâncias húmicas.

Os picos obtidos da pirólise de grupos nitrogenados revelaram a predominância de compostos nitrogenados heterocíclicos nas unidades estruturais dos ácidos húmicos, principalmente os derivados do imidazol (m/z 97), pirrol (m/z 94), pirróis substituídos (2,3 ou 2,4 ou 2,5 dimetilpirrol m/z 95), 1-H- pirrol 2- carboxialdeído (m/z 107), tetraidroquinolina (m/z 133), 2-metilbenzoxazol (C_8H_7NO , m/z 133) e piridinas substituídas (dimetilpiridina, m/z 107). Apesar de a análise de RMN ^{13}C indicar a presença de N-aminoácidos, a identificação de N-heterocíclico na estrutura dos ácidos húmicos, aliada à presença de ácidos graxos de cadeia alquílica longa e seus respectivos ésteres, mostra também a pouca evolução desses AH. Estes compostos representam uma reserva importante de nitrogênio, quando adicionado ao solo, visto que sua transformação em N-mineral, disponível às plantas, é possível com a evolução dos AH.

Foram também encontrados, na estrutura dos AH da matéria orgânica de origem urbana, ácidos benzocarboxílicos (ácido 1,2-benzodicarboxílico, m/z 166) e pico de maior intensidade nos AH-LETE de bis metil-propil ácido 1,2 benzocarboxílico. Ambos os ácidos apresentaram função cetona 1- (2-hidróxi-5-metilfenil) etanona (m/z 150). A presença desses grupamentos pode ser uma evidência que permite justificar a maior acidez determinada nos ácidos húmicos isolados do lodo de esgoto e a maior área integrada na região de δ_C 165-180 ppm na espectroscopia de RMN ^{13}C -CP/MAS. Os ácidos húmicos extraídos do lodo da estação de tratamento de esgotos apresentaram, na composição dos produtos voláteis resultante da pirólise, maior quantidade de mono e diaril ésteres de massa mais elevada. A presença de ácidos graxos na estrutura dos AH indica um possível estágio inicial de evolução destas substâncias. Os n-alcanos presentes na estrutura dos ácidos húmicos isolados do lodo de esgoto, são de cadeia mais curta dos que os presentes nos ácidos húmicos isolados do composto de lixo. Foram incorporados, na estrutura dos AH, fragmentos de ftalatos de dioctila, provavelmente devido à contaminação da matéria orgânica pelos plásticos existentes na matéria prima dos resíduos. Os compostos aromáticos presentes nos ácidos húmicos, isolados do lodo de esgoto, são oriundos, principalmente, de derivados do naftaleno e do benzeno, com substituição por cadeias alifáticas maiores do que as dos ácidos húmicos isolados do composto de lixo. Os compostos nitrogenados presentes são essencialmente heteroaromáticos e os oxigenados são furanos substituídos originados pela degradação de carboidratos. Os compostos oxiaromáticos predominantes são os fenóis substituídos.

A análise de compostos nitrogenados, presentes nas substâncias húmicas, foi realizada por Schulten *et al.* (1995) por meio da P-CG/EM com detector seletivo para compostos nitrogenados. Mais de 50 produtos contendo N foram identificados, sendo os principais: pirróis, imidazóis, piridinas, pirimidinas, indóis, quino-indóis, N derivados de benzenos, alquil nitrilas e aminas alifáticas. Canellas *et al.* (1999) detalharam, a partir do trabalho original de Schulten *et al.* (1995), com o uso da P-CG-EM, a estrutura dos compostos nitrogenados nos ácidos húmicos. Os resultados (Tabela 8.5 e Figura 8.3) indicam que a acumulação de nitrogênio nos ácidos húmicos se dá preferencialmente pela formação de estruturas heterocíclicas, o que contribui sobremaneira para a estabilidade estrutural das substâncias húmicas.

Todos os compostos heterocíclicos nitrogenados encontrados nos ácidos húmicos são naturais e derivados do metabolismo secundário de plantas ou sintetizados por microrganismos. O escatol é um alcalóide derivado do triptofano, responsável pelo odor característico de esterco.

A tetraidroquinolina é derivada do ácido antranílico pela incorporação de malonil ou acetilcoenzima -A, seguida de hidrogenação das ligações duplas. A dimetilpiridina (não é possível identificar o padrão de substituição) é produto da condensação do glicerol com ácido aspártico, seguido de reação de descarboxilação e alquilação.(Geissman & Crout, 1969).

Tabela 8.5. Análise por pirólise – cromatografia gasosa / spectrometria de massas (P-CG/EM) dos compostos heterocíclicos nitrogenados, presentes nos ácidos húmicos, extraídos de composto de resíduo urbano (AH-GRSU).

TR ⁽¹⁾ min	m/z ⁽²⁾	atribuição
5,87	97, 84, 54, 26	derivado do imidazol
11,21	95, 60, 39, 27	Dimetilpirrol
11,42	133, 94, 66, 39	Tetraidroquinolina
11,52	133, 97, 54, 26	2-metilbenzoxazol
12,37	95, 94, 66, 39, 28	pirrol 2-carboxialdeído
12,57	107, 77, 67, 27	dimetilpiridina
16,02	133, 99, 56, 28	Escatol

(1) TR: tempo de retenção do composto obtido pela pirólise dos ácidos húmicos na coluna cromatográfica; (2) m/z: razão massa/carga dos principais fragmentos obtidos com a spectrometria de massa

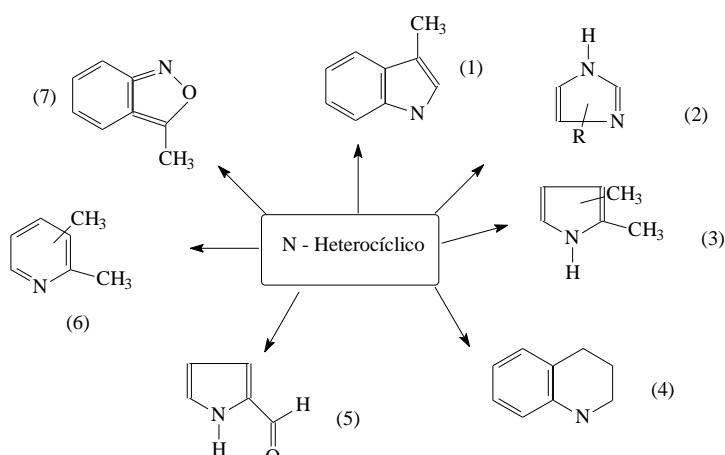


Figura 8.3. Principais estruturas dos compostos heterocíclicos nitrogenados encontrados em ácidos húmicos extraídos de composto de resíduo sólido urbano. (1)- escatol; (2)- derivados do imidazol; (3)- dimetilpirrol; (4)- tetraidroquinolina; (5)- pirrol 2-carboxialdeído; (6)-dimetilpiridina; (7)- 2- metilbenzoxazol (Adaptado de Canellas et al., 1999b)

Os pirróis (compostos 3 e 5) são provenientes da ornitina, após a ciclização e oxidação da cadeia lateral. A formação do pirrol 2-carboxialdeído requer ainda a alquilação do anel pirrólico formado por ação do NADP. O 2-metilbenzoxazol é gerado, provavelmente, a partir do ácido antranílico que é oxidado (formando um óxido nitrogenado) e ciclizado. A obtenção de derivados imidazólicos ocorre pela policondensação do ácido cianídrico (Torssell, 1983).

A incorporação de compostos heterocíclicos nitrogenados, na estrutura de ácidos húmicos, vem sendo postulada como uma consequência de reações de condensação, como as preconizadas por Schnitzer (1981) e mostradas na Figura 8.4.

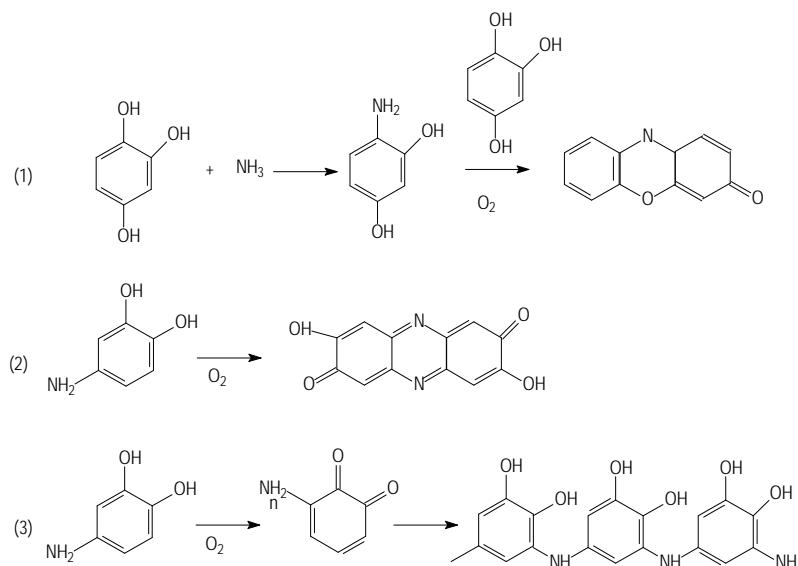


Figura 8.4. Formação de compostos heterocíclicos nitrogenados em substâncias húmidas, de acordo com Schnitzer (1981). 1 – um mol de 4-aminocatecol reage com outro mol do mesmo composto para formar um derivado da fenazina; 2 e 3- condensação em condições oxidativas de 3-aminocatecol para formação de polímeros.

Ainda conforme Schnitzer (1981), estes compostos são responsáveis em sua maioria pela fração hidrolizável de N chamada de não-determinada ou não-identificada. Já para Stevenson (1994), a incorporação de N nas substâncias húmicas, seja em ácidos húmicos ou em ácidos fulvicos, ocorre de cinco formas: como grupo amino livre, como grupo $-\text{NH}_2$, $=\text{N}-$ em cadeias abertas, como parte de anéis heterocíclicos, unindo radicais livres do tipo quinonas e como aminoácidos ligados a formas aromáticas, de modo que não seja liberado durante o ataque ácido da hidrólise.

Em trabalho posterior, Canellas *et al.* (2002), verificaram, por meio do estudo de P-CG/EM, o efeito sobre as unidades estruturais dos ácidos húmicos do tratamento de dois solos tropicais intemperizados (Argissolo Vermelho-Amarelo e Latossolo Vermelho-Amarelo), com o equivalente a 80 Mg de lodo de esgoto ou de composto de lixo por hectare. Devido à presença de um número bastante elevado de fragmentos obtidos nos cromatogramas (Figura 8.5) após a pirólise dos ácidos húmicos, somente os principais picos foram assinalados. Foram caracterizados sete grupos de produtos nominados de derivados da lignica (L), devivados de carboidratos (C), compostos nitrogenados (N), compostos aromáticos (Ar) compostos alifáticos (Al) e derivados do ftalato (Pht). A atribuição dos principais compostos obtidos nos cromatogramas foi realizada pela comparação direta com a base de dados Nist library, com grau de similaridade na fragmentação acima de 90 %, e o caminho de fragmentação foi testado para estabelecer consistência na determinação da estrutura. Esse método não é inequívoco mas representava na época (e ainda hoje) o “estado da arte” na análise por espectrometria de massas (Davies *et al.*, 2001). Derivados de ligninas, tais como, guaiacil, coniferil, creosol e tocoferol, foram encontrados nos ácidos húmicos. Os produtos formados mais abundantes foram os derivados dos

carboidratos, como metil furfural e furfuraldeído entre outro furanos, encontrados em menor proporção. A origem dos furanos nos ácidos húmicos está relacionada à degradação de polissacarídeos pela atividade microbiana (Hayes *et al.* 1989). Os fenóis mais abundantes foram o metil fenol, e etil metóxi fenol, e os compostos aromáticos mais abundantes foram os dihidroxibenzeno, propenil benzeno, metil benzeno, naftaleno e xileno. As unidades estruturais alifáticas, em maiores proporções, foram os alcanos e longas cadeias de alquil monoésteres.

A Figura 8.5 mostra a mudança no cromatograma dos ácidos húmicos extraídos do Argissolo e do Latossolo com a adição dos resíduos orgânicos de origem urbana, e a Figura 8.6 apresenta a abundância relativa dos principais compostos obtidos nos cromatogramas dos produtos da pirólise. Nos ácidos húmicos isolados do Argissolo tratado com os resíduos orgânicos de origem urbana, foi observado um decréscimo na quantidade de fenóis de produtos derivados da degradação de polissacarídeos, tais como furanos e seus derivados. Já para o Latossolo, foi observado um comportamento químico diferente, ou seja, aumento de fenóis e furanos. Isso sugere que a incorporação de novas estruturas provenientes de adubos orgânicos, nos ácidos húmicos de solo, ocorre e é bastante dependente dos atributos químicos e físicos, como o teor de argila e metais. O elevado conteúdo de argila, por exemplo, tende a preservar mais intactas as estruturas provenientes dos resíduos. Isso é particularmente notado para os compostos de natureza alifática.

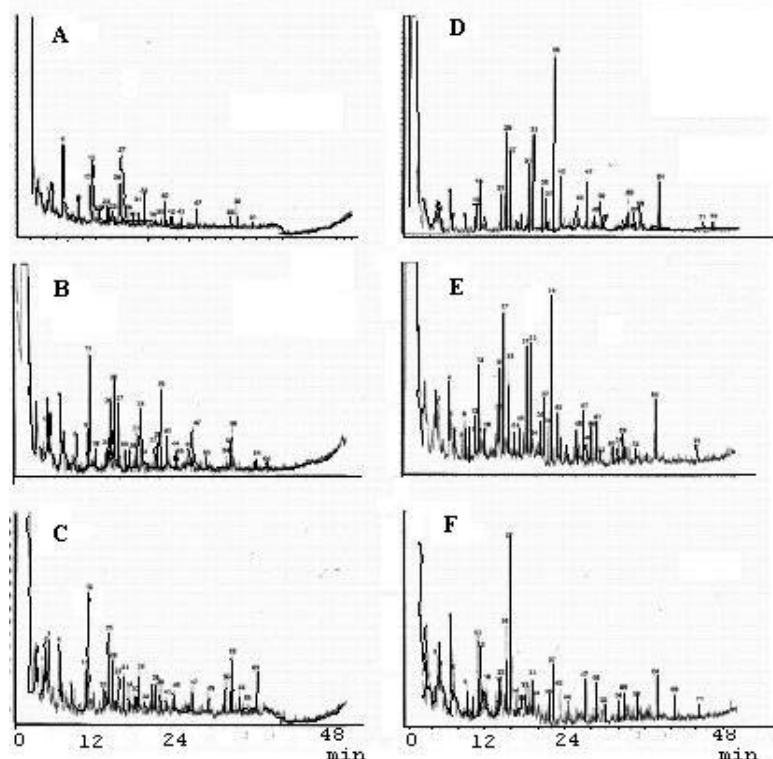


Figura 8.5. Perfil cromatográfico dos fragmentos da pirólise de ácidos húmicos isolados de um Latossolo Vermelho Amarelo (A), incubados com a dose equivalente a 80 Mg ha^{-1} de lodo da estação de tratamento de esgoto (B), de composto de resíduo domiciliar urbano (C) e de um Argissolo (D), incubado com os resíduos orgânicos de origem urbana (E) e (F) (adaptação de Canellas *et al.*, 2002).

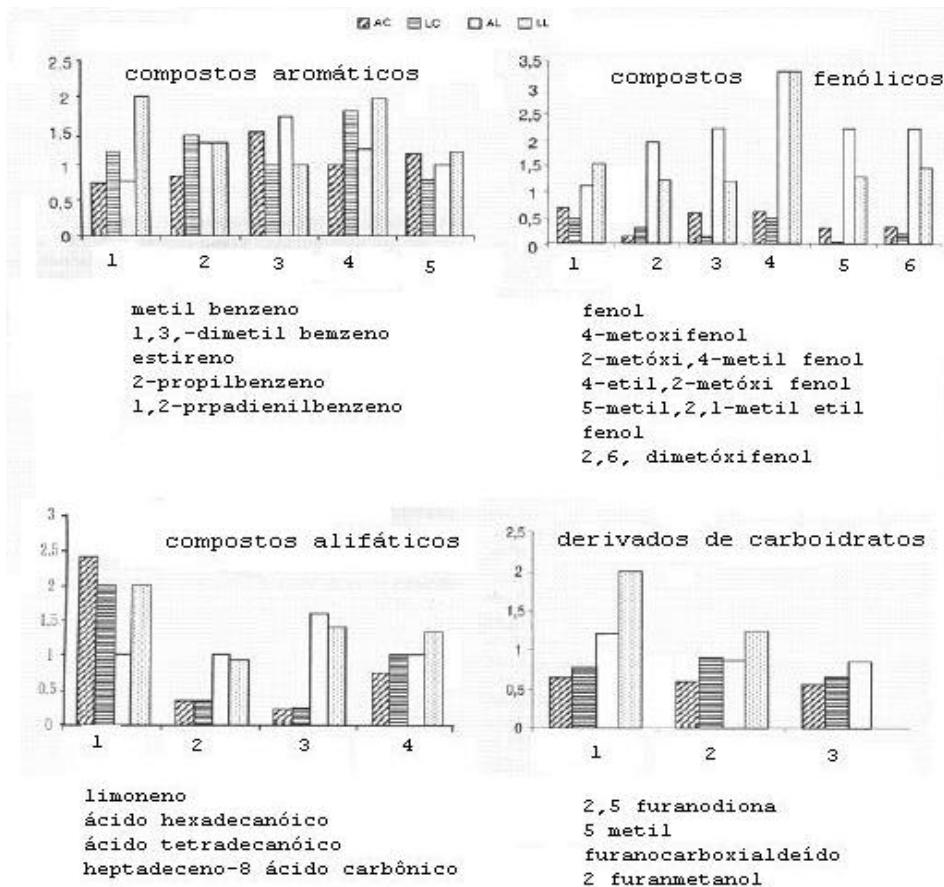


Figura 8.6. Abundância relativa de compostos aromáticos, derivados do furano, compostos fenólicos e de alifáticos nos cromatogramas dos produtos da pirólise de ácidos húmicos, extraídos de um Latossolo e de um Argissolo incubados com o equivalente a 80 Mg de resíduos orgânicos de origem urbana ha⁻¹. A abundância relativa foi calculada considerando o valor 1 para a área do pico, no cromatograma do AH, isolados das amostras de solo sem a adição dos resíduos. Abreviações: AC: argissolo + composto de lixo urbano; AL: argissolo + lodo da estação de tratamento de esgoto; LC: latossolo + composto de lixo urbano; LL: Latossolo + lodo da estação de tratamento de esgoto (adaptação de Canellas et al., 2000)

A análise de pirólise, acoplada à cromatografia gasosa-espectrometria de massas, permite compor um mapa das unidades estruturais das substâncias húmicas, delimitar as origens dessas unidades (i.e., de quais biopolímeros são originadas) e ainda identificar mudanças na sua composição pelo uso e manejo do solo. É possível ainda, conhecendo-se os códigos dessa cartografia química validar ou negar os inúmeros modelos de estrutura química (capítulo 2) e aproximar as variáveis termodinâmicas (capítulo 4) com a realidade.

Em conjunto com as demais espectroscopias, compõe hoje o arsenal de ferramentas disponíveis para caracterização das substâncias húmicas e geração de seus modelos (capítulo 2). O comportamento e a reatividade das substâncias húmicas no ambiente podem ser acessados pelo emprego das técnicas espectroscópicas.

capítulo 9

Propriedades redox de ácidos húmicos

Marihus A. Baldotto

Luciano P. Canellas

Maria Cristina Canela

Ary C. X. Velloso

Os processos de oxidação da matéria orgânica são os principais responsáveis pelo controle do balanço de carbono no solo, assunto de grande interesse científico, com implicações na geoquímica, pedologia, agricultura, oceanografia, limnologia etc. O estado redox do sistema solo é predominantemente governado pela atividade do oxigênio. De forma geral, solos bem aerados apresentam-se com baixa atividade de elétrons e, na medida em que a porosidade do solo é preenchida pela água, ocorre diminuição da disponibilidade de oxigênio e o consequente aumento na disponibilidade de elétrons. Muitos solos encontram-se alagados ou saturados com água permanentemente ou, pelo menos, durante alguns meses do ano. A matéria orgânica é a principal fonte de elétrons para as reações redox, gerando energia para o desenvolvimento da biota. Depois de uma introdução geral aos processos, este capítulo aborda as propriedades redox de ácidos húmicos que, por sua vez, podem ser utilizadas como um marcador da qualidade da matéria orgânica humificada

Introdução

As reações químicas são classificadas como de oxidação e redução (oxirredução ou redox) quando nelas ocorre a transferência de elétrons entre as espécies químicas envolvidas. Denomina-se oxidação a transferência de elétrons de uma espécie química (agente redutor) a outra (agente oxidante). O doador tem seu número de oxidação (NOX) aumentado e se oxida. Por outro lado, o ganho de elétrons é conhecido como redução. Nesse caso, há diminuição do NOX da espécie química.

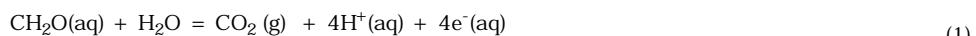
A tendência de uma espécie química em doar elétrons é medida pelo respectivo potencial de oxidação e a quantidade de elétrons transferidos por unidade de massa de uma determinada substância ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$), que é denominada capacidade de oxidação (COX.). Quanto maior o valor desse potencial e da capacidade de oxidação, maior será a tendência dessa espécie em ceder elétrons (ou seu poder redutor). Por analogia, o potencial de redução mede a tendência de uma espécie em ganhar elétrons, e a capacidade de redução é a quantidade de elétrons recebidos, que, quanto maiores, maior será o poder oxidante desta espécie acceptora de elétrons. Na determinação dos potenciais de oxidação e/ou de redução, convencionou-se como eletrodo padrão o eletrodo de hidrogênio, atribuindo-lhe o valor zero nas condições-padrão. Os potenciais dos demais elementos são calculados em relação ao que se convencionou potencial padrão. A União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) indica que as semi-reações redox sejam escritas como reduções. Assim, o potencial redox (E) é a propriedade redox associada qualitativamente às equações de redução nestas reações químicas.

Os principais elementos químicos afetados pelas reações redox são: C, N, O, S, Mn e Fe. Nos solos contaminados podem-se, ainda, acrescentar As, Se, Cr, Hg e Pb. Quando se estudam as

reações redox em sistemas naturais deve-se estar ciente de que as concentrações das espécies reduzíveis ou oxidáveis podem situar-se bem distantes daquelas previstas pela termodinâmica. Isso acontece, porque muitas reações redox são lentas ou nunca atingem o equilíbrio. Assim, por exemplo, nos sistemas aquáticos, e mesmo nos solos, existe uma diferença marcante no ambiente redox entre a superfície em contato com o O₂ da atmosfera e as camadas mais profundas desses sistemas. Entre tais camadas, acontecem numerosas zonas intermediárias resultantes de misturas ou difusões imperfeitas que, somadas às complicações resultantes das variadas atividades biológicas, produzem um sistema redox global, que difere das previsões para os efeitos redox dos subsistemas isoladamente. Portanto, um equilíbrio perfeito não é atingido (Stumm & Morgan, 1996).

A matéria orgânica constitui a principal fonte de elétrons para as reações redox nos solos

Ao acoplar o inverso da semi-reação de redução da matéria orgânica, representada simplificadamente por CH₂O, à semi-reação de redução do oxigênio, tem-se:



Em solos bem drenados, a decomposição da matéria orgânica é realizada por uma diversidade de microrganismos. Devido à elevada energia liberada durante a respiração aeróbia desses microrganismos, a decomposição do substrato e a síntese de material celular acontecem rapidamente. A maior parte da matéria orgânica desaparece como CO₂, deixando um resíduo bastante resistente, formado principalmente de lignina alterada e de espécies oxidadas, como CO₂H e acúmulo de radicais do tipo quinona, precursores da humificação. Na decomposição aeróbia existe uma forte demanda por nutrientes, especialmente nitrogênio.

Em condições anaeróbias, resultante da depleção do O₂, após o alagamento do solo, ou mesmo em microssítios anóxicos, como no interior dos microporos saturados por água, os microrganismos aeróbios, diminuem drasticamente sua atividade, tornam-se quiescentes ou morrem. Os microrganismos facultativos e anaeróbios então proliferam, usando os compostos de carbono como substrato e compostos de N(V), Mn(IV), Fe(III) e S(VI), para transferir seus elétrons provenientes da respiração. Nos sistemas alagados, a decomposição da matéria orgânica acontece quase inteiramente pelo trabalho de microrganismos anaeróbios e/ou facultativos. Como as bactérias anaeróbias operam num nível de energia bem menor que as aeróbias, tanto a decomposição como a assimilação são bem mais lentas nos sistemas submersos. Esse fato é ilustrado pela acumulação de resíduos de plantas em pântanos e em sedimentos submersos.

A diferença fundamental entre decomposição aeróbia e anaeróbia reside na natureza dos produtos finais. Assim, as condições redox intermediárias em solos situam-se entre dois extremos:

- solos bem drenados: CO₂, NO₃⁻, SO₄²⁻ e resíduos resistentes à futura decomposição (húmus).
- solos alagados: CO₂, H₂, CH₄, NH₃, N₂, H₂S, mercaptanas e resíduos parcialmente humificados.

Até a formação do metabólito-chave ácido pirúvico (CH₃COCOOH), o metabolismo dos carboidratos é, provavelmente, o mesmo em condições aeróbias e anaeróbias. Na ausência do O₂ os prótons e elétrons, formados durante tal processo, são transferidos para as espécies oxidadas do solo ou, então, para os metabólitos orgânicos. A transformação do ácido pirúvico em condições anaeróbias leva à formação de uma série de substâncias orgânicas instáveis (etanol, ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico), seguida de evolução de CO₂, CH₄, H₂, C₂H₂. Quando o O₂ e os receptadores secundários estão ausentes, os microrganismos do solo (ou de

outros sistemas) podem, ainda, extrair alguma energia dos compostos orgânicos pela fermentação. Essas reações liberam ~ 10% de energia. Isso significa que os produtos (etanol, metano etc) retêm cerca de 90% da energia. Resumindo:

Receptor inorgânico	Respiração aeróbia : O ₂ funcionando como receptor terminal de elétrons
	Respiração anaeróbia : espécies oxidadas do solo (receptores secundários): NO ₃ , Mn (IV), Fe(III), funcionando como receptor terminal de elétrons
Receptor orgânico	fermentação : (CH ₂ O) _n = n/2 CO ₂ + n/2 CH ₄ (CH ₂ O) _n = C ₂ H ₅ OH + CO ₂

Propriedades redox

Considerando que a variação de energia livre de uma reação redox é de natureza elétrica, as seguintes equações podem ser obtidas de acordo com a primeira e segunda leis da termodinâmica, que abordam a variação de energia de uma reação

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln Q \quad (4)$$

e

$$\Delta G = -nFE \quad (5)$$

onde,

ΔG = variação de energia livre de Gibbs da reação;

ΔG° = variação de energia livre padrão da reação, quando todos os reagentes e produtos estão em seu estado padrão;

R = constante dos gases, igual a 1,987 cal K⁻¹ mol⁻¹;

T = temperatura em Kelvin, que a 25°C é igual a 298,15 K;

n = mol de elétrons transferidos na reação;

F = constante de Faraday, igual a 23,061 kcal V⁻¹ mol⁻¹;

E = potencial da cela para a reação;

E° = potencial padrão para a reação da meia cela.

Para a obtenção de Q (quociente da atividade de produtos e reagentes), considera-se a reação geral dada abaixo:



considerando também a velocidade de reversibilidade da reação



As taxas de reações são proporcionais aos produtos e reagentes, de acordo com as seguintes relações:

$$V_1 \sim (A_{Ox})^n (B_{Red})^m \quad (9)$$

$$V_2 \sim (A_{Red})^p (B_{Ox})^q \quad (10)$$

Introduzidas nas equações anteriores as constantes de proporcionalidade k_1 e k_2 , o equilíbrio é atingido quando as taxas de reação são iguais, ou seja:

$$V_1 = V_2 \quad (11)$$

e assim:

$$k_1 (A_{Ox})^n (B_{Red})^m = k_2 (A_{Red})^p (B_{Ox})^q \quad (12)$$

ou

$$\frac{k_1}{k_2} = \frac{(A_{Red})^p (B_{Ox})^q}{(A_{Ox})^n (B_{Red})^m} \Rightarrow K \quad (13)$$

que define uma nova constante, denominada constante de equilíbrio da reação (Q).

Quando os produtos e reagentes estão em seu estado padrão, Q é definida como K e a equação 4 pode ser reescrita como:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln K \quad (14)$$

Como no equilíbrio ? $G = 0$:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K \quad (15)$$

Substituindo os valores apropriados de R e T e aplicando log:

$$\Delta G^\circ = -(0,001987 \text{ kcal grau}^{-1}) (298,15 \text{ graus}) (2,303 \log K^\circ) \quad (16)$$

$$\Delta G^\circ = -1,364 \log K^\circ \quad (17)$$

Combinando as equações 5 e 14,

$$-nFE^\circ = -1,364 \log K \quad (18)$$

$$\log K = 16,91 - nE^\circ \quad (19)$$

E ainda,

$$E^\circ = \frac{0,05916}{n} \log K \quad (20)$$

Sendo assim, K, ΔG° e E° indicam a atividade a variação da energia livre e a direção de uma reação redox.

Conceito de p_e

De maneira análoga à atividade de prótons, definida como $-\log(H^+)$, a atividade de elétrons pode ser expressa em termos de $-\log(e^-)$. Dessa maneira, os elétrons podem ser tratados como os demais reagentes e produtos, permitindo que uma única constante de equilíbrio defina simultaneamente os equilíbrios químico e eletroquímico.

Consideremos a semi-reação redox simples:



$$\log K = \log \frac{(Red)}{(Ox)} - n \log(e^-) \quad (22)$$

Por definição:

$$-\log(e^-) = pE \quad \text{e} \quad (23)$$

$$\frac{1}{n} \log k = pE^0 \quad (24)$$

Portanto,

$$pE = pE^0 - \frac{1}{n} \log \frac{(\text{Red})}{(\text{Ox})} \quad (25)$$

Quando (Ox) = (Red):

$$pE = pE^0 \quad (26)$$

Valores elevados de pE favorecem a existência de espécies pobres em elétrons (i.e., oxidadas), assim como valores elevados de pH favorecem a existência de espécies pobres em prótons (i.e., bases). Valores baixos de pE favorecem a existência de espécies ricas em elétrons (ou reduzidas), assim como valores baixos de pH favorecem espécies ricas em prótons (i.e., ácidos). Porém, o pE se diferencia do pH por adotar valores negativos. Esse fato resulta da diferença na convenção estabelecida para a interpretação das medidas de pE e pH, realizadas em células eletroquímicas. Como no caso do pH, pE não apresenta unidades.

Usualmente, os valores de pEº não são encontrados na literatura, pois o pE é, geralmente, obtido de forma indireta por métodos eletrométricos, que medem a força eletromotriz (f.e.m.) do sistema redox em relação ao sistema padrão que, por definição, é do hidrogênio. Tais métodos, portanto, especificam uma diferença de potencial entre eletrodos em termos da f.e.m. da cela, dada em Volts. A relação entre essas propriedades eletroquímicas é dada a seguir.

Relação entre E_H e pE

Combinando as equações 20 e 25, pode-se escrever:

$$pE = \frac{E_H}{0,05916} \quad (27)$$

quando E_H^0 é expresso em Volts (V) e, a mesma relação também pode ser dada por:

$$E_H^0 = 0,05916 pE^0 \quad (28)$$

Assim, o pE indica a tendência de oxidação e redução em um sistema.

Utilizando as equações 23 e 26, obtém-se a Equação de Nernst:

$$E_H = E_H^0 + \frac{0,05916}{n} \log Q \quad (29)$$

A Equação de Nernst prediz que o potencial de semireação mudará 59,16 mV, a cada mudança, em dez vezes na concentração de uma substância envolvida na reação redox, envolvendo um elétron. Para n elétrons, a variação será $(59,16/n)$ mV por mudança de dez vezes na concentração de

uma das substâncias da reação redox. Essas predições se cumprem em meios diluídos, não só do íon eletroativo, mas de todas as espécies iônicas presentes. Este valor provém do coeficiente angular (declividade da reta) da região linear da curva obtida, relacionando-se os potenciais, por exemplo, da meia reação $\text{Ag}^+|\text{Ag}$, calculados pela equação de Nernst e concentração de Ag^+ no meio (Figura 9.1). Quanto maior a carga do íon, mais baixa a concentração deve ser para as relações serem consideradas aceitáveis.

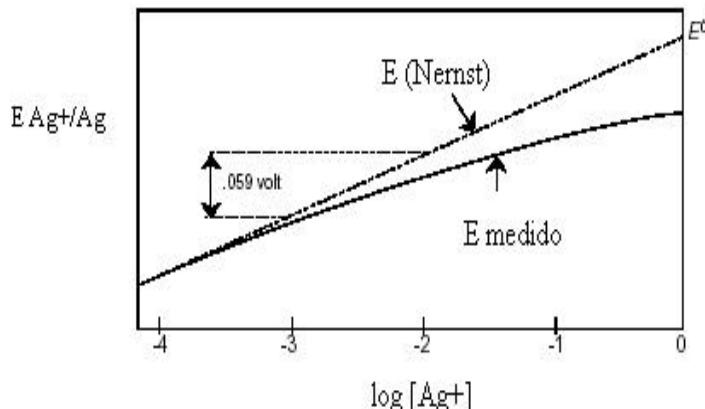


Figura 9.1. Potenciais Padrão e Formal (Medido) de meias reações, de acordo com a resposta à concentração. Adaptação de Stumm & Morgan (1996).

Não é possível determinar experimentalmente um potencial absoluto, mas sim em relação à semi-reação de redução do hidrogênio que, por convenção, é o eletrodo primário ou padrão, em que o potencial redox e a variação de energia livre padrão da reação são iguais a zero (a constante de equilíbrio é igual a uma unidade). Os potenciômetros medem a força eletromotriz (f.e.m.) gerada pela diferença de potencial eletroquímico entre dois eletrodos, sendo um eletrodo o de referência e o outro, sensível. Os eletrodos podem ser construídos de modo a permitirem reação redox entre um metal e uma solução específica. Em contato com a solução, os metais tendem a se oxidarem, liberando os cátions correspondentes em solução, enquanto os elétrons livres ficam na placa metálica. Se um dos metais utilizados possuirem maior tendência a sofrer oxidação em relação ao outro, haverá no sistema um fluxo de elétrons, a partir do metal com maior tendência à oxidação para o de menor tendência, gerando a f.e.m.. A f.e.m. pode ser detectada pelo potenciômetro acoplado entre o anodo (doador de e^-) e o catodo (aceptor) no circuito elétrico (sistema em que o elétron flui do anodo para o catodo, por um condutor). Essa força é uma corrente elétrica gerada pelo catodo, suficiente para impedir o fluxo de elétrons vindos do anodo. A f.e.m. é medida em Volt (V), grandeza que pode ser representada por:

$$V = \frac{\text{Joule}}{\text{Coulomb}} \quad (30)$$

A passagem de 1 coulomb (C) é capaz de realizar o trabalho de 1 joule (J). A f.e.m. está relacionada com a atividade de cátions em solução, pela equação de Nernst. Portanto, a f.e.m. varia apenas com as atividades dos íons em solução, uma vez que E° , R, T e F são constantes. Os instrumentos são construídos de modo que a atividade de um dos íons em solução seja conhecida (eletrodo de referência). Assim, a f.e.m. passa a ser função apenas da atividade do outro íon, que é a variável desconhecida (eletrodo sensível).

Eletrodos

Os eletrodos de referência possuem potencial padrão fixo, sendo que os eletrodos primários possuem um metal em equilíbrio com seus íons, embora, geralmente, sejam utilizados padrões secundários em relação ao eletrodo padrão de hidrogênio. Dessa forma, são construídos eletrodos nos quais um metal está em equilíbrio com uma solução saturada de um sal pouco solúvel. Os eletrodos mais comuns são o prata, cloreto de prata (Ag, AgCl) e o eletrodo de calomelano ($\text{Hg}_2\text{Cl}_2, \text{Hg}$).

No eletrodo AgCl, Ag , as equações abaixo podem ser estabelecidas:

(32)



Neste caso, segundo a Equação de Nernst:

$$E = E^\circ - \frac{0,05916}{n} \log \frac{(\text{AgCl})}{(\text{Ag})(\text{Cl}^-)} \quad (35)$$

Como, $(\text{AgCl}) = (\text{Ag}) = 1,0$, a equação se apresenta:

$$E = E^\circ - 0,05916 \log \frac{1}{(\text{Cl}^-)} \quad (36)$$

O potencial depende apenas da atividade de cloreto (Cl^-) em solução, que é mantida constante por meio de solução KCl saturada em contato com o metal, conferindo aos eletrodos potencial constante e conhecido (referência). Geralmente, o eletrodo sensível a reações redox associado ao eletrodo AgCl, Ag é o eletrodo de platina (Pt). O potencial lido na cela pode ser desmembrado em:

$$\text{f.e.m.}_\text{cela} = E_\text{Referência} - E_\text{Sensível} \quad (37)$$

Diagramas pE x pH

Em princípio, é possível predizer reações de oxidação e redução em sistemas naturais usando diagramas de equilíbrio pE x pH (ou E_H x pH). Sendo a água o meio principal para essas reações, torna-se necessário definir os limites de estabilidade termodinâmica da mesma. O oxidante mais forte geralmente encontrado na água é o oxigênio molecular (O_2). Oxidantes mais fortes que o O_2 não persistem na água, porque reagem com a ela para liberar O_2 . O redutor mais forte encontrado na água é o H_2 . Redutores mais fortes que o H_2 não persistem na água porque reagem com a mesma para liberar H_2 . A água age, assim, nivelando a força dos oxidantes no sistema.

O diagrama da Figura 9.2 mostra a relação entre os vários pares redox esquematicamente. Os doadores de elétrons são mostrados à esquerda, e os aceptores conjugados à direita. Cada par redox é representado pela energia livre de um elétron, na forma reduzida do par, relativa à energia livre do elétron ao íon de hidrogênio (e assim em H_2). A Figura indica que a água sofre oxidação e redução. Só as substâncias que aparecem entre as reações, determinam o campo de estabilidade da água, serão estáveis em solução aquosa em ambas as formas, oxidadas e reduzidas.

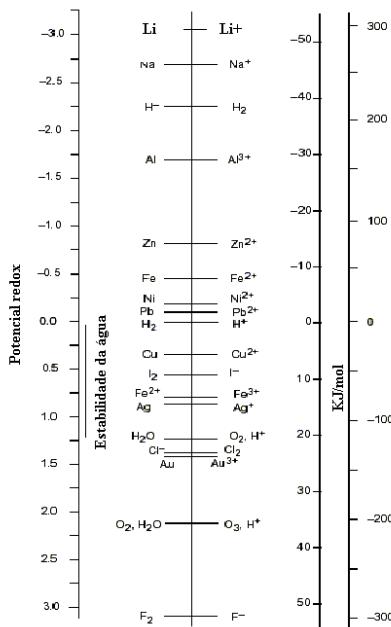


Figura 9.2. Diagrama de energia livre de elétrons para soluções aquosas. Adaptação de Lower (1977).

Para o equilíbrio entre o oxigênio molecular e a água:



$$K = \frac{(\text{H}_2\text{O})^2}{\text{PO}_2(\text{H}^+)^4(\text{e}^-)^4} \quad (38)$$

$$\text{pE} = 20,78 + \frac{1}{4} \log \text{PO}_2 \text{ pH} \quad (39)$$

$$\text{pE} + \text{pH} = 20,78 + \frac{1}{4} \log \text{PO}_2 \quad (40)$$

Assumindo a pressão parcial de oxigênio (PO_2) igual a 1atm (condição de máxima oxidação):

$$\text{pE} = 20,78 - \text{pH} \quad (41)$$

ou,

$$\text{pE} + \text{pH} = 20,78 \text{ (limite superior de estabilidade da água)} \quad (42)$$

Para o equilíbrio entre a água e o H_2 , tem-se a equação de redução:



$$K = \frac{\text{PH}_2}{(\text{H}^+)^2(\text{e}^-)^2} \quad (47)$$

$$pE = \frac{1}{2} \log \frac{PH_2}{(H^+)^2} \quad (47)$$

$$pE = -\frac{1}{2} \log PH_2 + \log (H^+) \quad (48)$$

$$pE = -pH - \frac{1}{2} \log PH_2 \quad (49)$$

Assumindo $PH_2 = 1$ atm (condição de máxima redução)

$$pe = -pH \text{ ou } pe + pH = 0 \text{ (limite inferior de estabilidade da água)} \quad (50)$$

A oxidação e a redução da água situam os limites de oxidação e redução dos sistemas naturais. O estado redox do sistema solo pode ser expresso em termos de $pe + pH$, bem como em termos de pressão parcial de O_2 ou H_2 . Os valores mais freqüentemente encontrados em sistemas naturais aparecem no interior do círculo. As pressões parciais de O_2 e H_2 permanecem fixas para um dado valor de $pe + pH$.

Amplitude de pe em solos

Para ilustrar a amplitude de pe em solos, é apresentado um diagrama pE vs pH (Figura 9.3). Já se viu que do mesmo modo que a acidez é expressa quantitativamente como $pH = -\log (H^+)$, a capacidade redox de um sistema pode ser expressa em $pe = -\log (e^-)$.

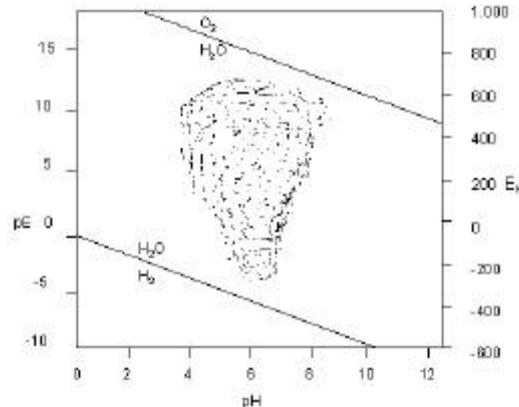


Figura 9.3. Diagrama pE versus pH observado para solos (os pontos formando a área destacada representam os resultados experimentais). Adaptação de Baas Becking *et al.*, (1960)

Na Figura 9.3, a amplitude de pe em solos é indicada pela porção hachurada. O gráfico mostra os domínios das atividades de elétrons e de prótons que têm sido observados em diversos solos. O maior valor de pe encontrado é um pouco maior do que +13,0 e o menor, próximo a -6,0.

A seqüência de redução é também refletida na sucessão de microrganismos: aeróbios, aeróbios facultativos e estritamente anaeróbios. O curso, a velocidade e a grandeza da variação de pe dependem da qualidade (“labilidade”) e quantidade de matéria orgânica, da natureza e quantidade de receptores secundários de e^- , da temperatura, da duração do alagamento e dos processos catalíticos envolvidos.

Essa amplitude de pe pode ser divida em três partes, de acordo com a Tabela 9.1:

Tabela 9.1. Amplitude de pE (e de pE + pH) em solos e o estado redox correspondente.

Estado redox	pe (pH 7,0)	pe+pH
Solos “óxicos” (oxidados)	>5	>12
Solos “subóxicos” (suboxidados)	2 a 5	9 a 12
Solos “anóxicos” (reduzidos)	<2	<9

Os solos subóxicos diferem dos “óxicos” por apresentarem valores de pe suficientemente baixos para que ocorra depleção de O_2 , porém, são baixos o bastante para a depleção dos íons SO_4^{2-} .

Na solução do solo com pE + pH abaixo de 18, os elétrons passam a existir em quantidade suficiente para a redução de $O_2(g)$ a H_2O . Abaixo de pe + pH = 12, o oxigênio deixa de ser estável. Acima de pe + pH = 12, o oxigênio é consumido nos processos de respiração aeróbia.

Em valores de pe + pH < 15, há atividade de elétrons para a redução de NO_3^- a NO_2^- , N_2 , N_2O , ou NH_4^+ . A desnitrificação constitui um caso especial de nitrato-respiração, em que N_2 e N_2O são produzidos.

Valores de pe + pH entre 14 e 12, indicam quantidades suficientes de elétrons para a redução de Fe e Mn nas fases sólidas. A redução do Fe somente acontece após o consumo de O_2 e NO_3^- . A redução do Mn (IV) pode, entretanto, iniciar-se na presença de nitrato. As reduções de Fe (II) e Mn (IV) são características de ambientes subóxicos.

Abaixo de pe + pH 9, o solo torna-se anóxico e, quando pe + pH < 7, existe disponibilidade de elétrons para a redução de sulfato, que é catalisada por uma variedade de bactérias anaeróbias. Como resultado da redução, aparecem H_2S , HS^- , $S_2O_3^{2-}$. Como já mostrado, a seqüência de reações químicas para a redução de O, N, Mn, Fe e S (induzida pelas mudanças de pE) corresponde também a uma seqüência ecológica de microrganismos (catalisadores biológicos que mediam essas reações). Os microrganismos aeróbios (que utilizam O_2 para oxidar a matéria orgânica) não se desenvolvem abaixo de pe + pH 12.

Tabela 9.2. Seqüência de redução em solos neutros

Semi-reações de redução	Faixa de (pE+pH)
$\frac{1}{4} O_{2(g)} + H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = \frac{1}{2} H_2O_{(l)}$	12,0 – 18,0
$\frac{1}{2} NO_3^- + H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = \frac{1}{2} NO_2^-_{(aq)} + \frac{1}{2} H_2O_{(l)}$ $\frac{1}{2} NO_3^- + 6/5 H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = 1/10 N_2(g) + 3/5 H_2O_{(l)}$ $1/8 NO_3^- + 5/4 H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = 1/8 NH_4^+_{(aq)} + 3/8 H_2O_{(l)}$	10,4 – 15,5
$\frac{1}{2} MnO_{2(s)} + 2H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = \frac{1}{2} Mn^{2+}_{(aq)} + H_2O_{(l)}$	10,4 – 13,8
$Fe(OH)_{3(s)} + 2H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = Fe^{2+}_{(aq)} + 3H_2O_{(l)}$ $FeOOH_{(s)} + 2H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = Fe^{2+}_{(aq)} + 2H_2O_{(l)}$	8,7 – 12,0
$1/8 SO_4^{2-}_{(aq)} + 9/8 H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = 1/8 HS^-_{(aq)} + \frac{1}{2} H_2O_{(l)}$ $\frac{1}{4} SO_4^{2-}_{(aq)} + 5/4 H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = 1/8 S_2O_3^{2-}_{(aq)} + 5/8 H_2O_{(l)}$ $1/8 SO_4^{2-}_{(aq)} + 5/4 H^+_{(aq)} + e^-_{(aq)} = 1/8 H_2S_{(aq)} + \frac{1}{2} H_2O_{(l)}$	4,5 – 7,0

Adaptação de Stumm & Morgan (1996).

As bactérias denitrificadoras, na maior parte dos casos, desenvolvem-se entre pe + pH 17 e 7. As bactérias responsáveis pela redução do sulfato não proliferam em pe + pH acima de 9. Esses exemplos mostram que os diagramas pe-pH retratam os domínios de estabilidade tanto para as espécies químicas como para espécies microbianas (Stumm & Morgan, 1996).

Processos oxidativos envolvendo a matéria orgânica

A oxidação é uma forma de transformar biopolímeros oriundos de microrganismos, plantas e animais em outras moléculas mais simples, para que estas possam ser assimiladas de modo mais harmonioso nos ciclos da natureza. A oxidação pode ser completa ou parcial. Na maioria das vezes, a oxidação acontece de modo incompleto, e os subprodutos serão os substratos para as reações de humificação da matéria orgânica. No entanto, a oxidação total (também chamada de mineralização) de um composto orgânico gera, como produto final, dióxido de carbono, água e íons inorgânicos, sendo o processo responsável pela disponibilização de nutrientes às plantas.

Processos biológicos oxidativos

Os microrganismos são capazes de realizar uma série de reações químicas ainda difícil de sintetizar em laboratório pelo homem moderno e sua tecnologia evoluída. Tome-se a fotossíntese, por exemplo, um processo no qual a luz absorvida é convertida em energia química pela molécula de clorofila. De forma resumida, tem-se:



onde $\{\text{CH}_2\text{O}\}$ representa a nova biomassa produzida neste processo, que requer energia ($\Delta G = +475 \text{ kJ mol}^{-1}$). A reação inversa, ou seja, a degradação da matéria orgânica (oxidação ou respiração) libera a mesma quantidade de energia ($\Delta G = -475 \text{ kJ mol}^{-1}$), fundamental ao sustento da vida (Taiz & Zeiger, 1991):



Existem, também, fungos com habilidade de sintetizar enzimas com capacidade de degradar as ligninas. Esse complexo é formado majoritariamente pelas enzimas lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacases que, genericamente, formam as fenoloxidases. Essas enzimas oxidam seus substratos, pela redução de um elétron, para a formação de um radical catiônico. Estes fungos caracterizam-se por serem bons produtores de lacase, fenoloxidase dependente de cobre. Esta enzima lignolítica tem a capacidade de catalisar reações de demetilação, que é um passo inicial e importante para os processos de biodegradação de cadeias poliméricas, com subsequente decomposição de macromoléculas de lignina pelo rompimento de anéis aromáticos e ligações $\text{C}_a - \text{C}_b$ em estruturas fenólicas. Em processos de oxidação de muitos compostos (principalmente de compostos fenólicos), a lacase apresenta especificidade para um grande número de compostos xenobióticos e efluentes industriais.

O tratamento biológico de esgoto doméstico é outro exemplo do uso de consórcios de microrganismos que realizam o excelente trabalho de oxidar e/ou reduzir matéria orgânica a um menor custo e alta eficiência, quando comparado a qualquer outro processo químico.

A oxidação da matéria orgânica mediada biologicamente vem sendo explorada pelo homem desde os primórdios da civilização e é a base da adubação orgânica. Por meio de uma série de processos aeróbios de oxidação, que usam o O_2 atmosférico como receptor de elétrons na oxidação de moléculas orgânicas liberando íons inorgânicos necessários ao metabolismo celular.

A compostagem é uma das práticas mais antigas da agronomia, que usa racionalmente o conjunto de reações de oxidação de compostos orgânicos durante o processo de estabilização da matéria orgânica.

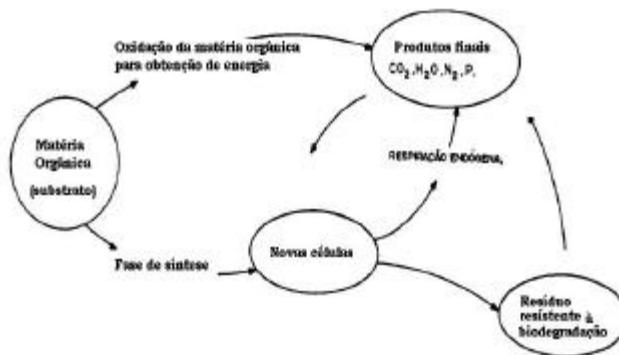


Figura 9.4. Representação esquemática da evolução dos resíduos orgânicos. A oxidação da matéria orgânica mediada por microrganismos é fonte de energia para a microbiota e o início do processo de humificação.

A formação do composto ou adubo orgânico compostado nada mais é do que a biodegradação induzida e controlada que conduz à estabilização da matéria orgânica. Ocorre, no final do processo, a diminuição da atividade biológica pela exaustão dos estoques de nutrientes e competição entre espécies de agentes decompositores. Como consequência, há a transformação dos componentes orgânicos com a diminuição do conteúdo de carbono e oxirredução dos elementos químicos para formas orgânicas lábeis. A compostagem realiza-se em duas fases: a primeira, quando ocorrem as reações bioquímicas de oxidação mais intensas, predominantemente termofílicas. A segunda fase ou fase de maturação (mesofílica) é mais lenta e é quando ocorre o processo de estabilização dos sólidos e a humificação. Existem vários métodos de compostagem, entre eles: a) Compostagem artesanal: em pilhas ou leiras a céu aberto, misturadas por processo manual, para a aeração das camadas interiores, mantendo sob relativo controle as condições de temperatura e umidade dos materiais. b) Compostagem com reviramento mecânico: as pilhas são reviradas com equipamentos, pá-carregadeira, ou equipamentos específicos para reviramento de leiras. c) Compostagem em pilhas estáticas com aeração forçada: também conhecido como Método de Beltsville, consiste em fazer injetar ar em pilhas estáticas, com controle do tempo da aeração. A injeção de O_2 nas leiras de compostagem é realizada por meio de compressores. Com isto, supre-se a demanda de oxigênio em intervalos regulares durante todo o dia, em períodos de 30 dias. d) Compostagem em recintos fechados com aeração forçada: neste método, os resíduos a compostar ficam em recintos confinados (fechados), em *containers*, tubulões ou silos, sendo mantida a aeração. A diferença entre o método anterior está no isolamento ambiental do processo. Todos esses métodos são caracterizados pela necessidade de aeração. Como é um processo oxidativo e aeróbico, depende de oxigênio para se realizar. A demanda por oxigênio atinge o seu pico máximo durante a fase de oxidação (daí esse nome) do processo. Assim, o processo de compostagem é a aceleração, por meio do fornecimento de condições ótimas do processo de humificação, que ocorre naturalmente em sistemas naturais, como solos e sedimentos aquáticos.

A aceleração do processo de oxidação de resíduos orgânicos ricos em ligninas e formação de material húmico foi estudada por Budziak *et al.* (2004). As ligninas são um polímero derivado de grupos fenilpropanóides denominados C_6C_3 ou, simplesmente unidades C_9 , repetidas de forma regular, que têm sua origem na polimerização desidrogenativa do álcool coníferílico. A compostagem de resíduos de madeira é um modelo interessante para o estudo do processo de humificação já que uma parte considerável da matéria orgânica humificada do solo, em média cerca de 36% da estrutura

dos ácidos húmicos é devido a compostos aromáticos e parece ser constituída pela união e ressíntese de polímeros complexos de hidroxifenóis, ácidos hidroxibenzóicos e outras substâncias aromáticas, ligadas a peptídeos, compostos aminoacúcares, ácidos graxos, parede celular e fragmento protoplasmático microbiano, e possivelmente outros constituintes. Estruturas condensadas de anéis aromáticos e partes de lignina e moléculas de melanina podem também integrar com as estruturas humificadas.

As ligninas são formadas a partir de três precursores básicos, que são os álcoois *p*-cumálico, coníferílico e sinapílico. Algumas ligninas consistem de polímeros fenilpropanoides, da parede celular, altamente condensados e muito resistentes à degradação. Eles são compostos de unidades *p*-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S) (Figura 9.5), em proporções diferentes, de acordo com sua origem. Durante a degradação de lignina e celulose, simultaneamente, os grupos metoxílicos de ligninas são removidos, gerando grupos aromáticos ricos em hidroxilas, produzidos abundantemente na forma *ortho*-di-hidroxí (catecol).

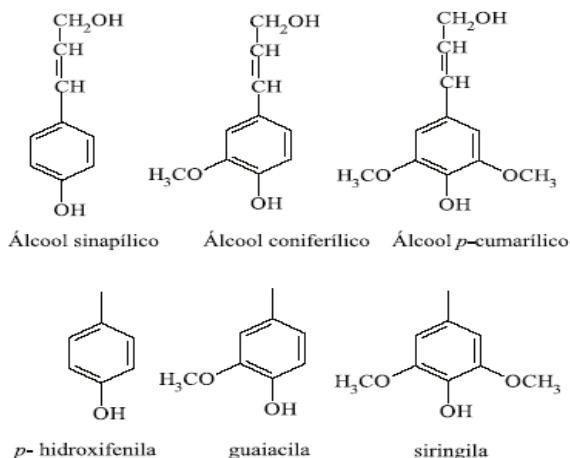


Figura 9.5. Alguns precursores e componentes da lignina

O mecanismo de “podridão parda” envolve a ação da química de Fenton ($\text{Fe}^{+2} + \text{H}_2\text{O}_2$) para a produção de ânions e radicais hidroxilas. A reatividade deste tipo de sistema foi observada em 1894 por Fenton, mas a utilidade destas reações não era reconhecida até os anos 1930, quando o mecanismo foi elucidado. O reagente de Fenton é, por si só, um agente oxidante mais forte do que H_2O_2 . Ele é capaz de oxidar di-hidrogênio e substratos orgânicos que às vezes resistem à oxidação. Ele também foi usado para iniciar reações de polimerização. A reação total é:



Esta reação, entretanto, não explica o aumento na habilidade oxidante deste sistema. Hoje se sabe que a espécie responsável pela elevada potência oxidativa é o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$), que se forma quando íons ferroso ou férrico interagem com o peróxido em solução aquosa.

Por meio dos dados obtidos com a ressonância paramagnética de elétrons (EPR), Budziak *et al.* (2004) concluíram que os radicais livres orgânicos, formados durante a compostagem da serragem de madeira, correspondem a *orto*-semiquinonas, formadas na cisão homolítica: $\text{f-O-CH}_3 \rightarrow \text{f-O}^\cdot + \cdot\text{CH}_3$. Assim, um dos processos químicos ligados à formação de ácidos húmicos, durante a compostagem, está relacionado à quebra de ligação f-O-CH_3 por cisão homolítica com formação de dois radicais livres orgânicos, $\cdot\text{O}^\cdot$ e $\cdot\text{CH}_3$. As possíveis estruturas de *orto*-semiquinonas formadas reagem entre si, produzindo aumento da cadeia orgânica aromática, ou com $\cdot\text{H}$, para formar um grupo fenólico. Os radicais livres, $\cdot\text{CH}_3$, devem formar metano, gás liberado em pequenas quantidades no processo de compostagem, por reação com o $\cdot\text{H}$. A formação de espécies reativas aromáticas estabilizadas, com capacidade de oxidação, aumentam com o grau de humificação da matéria orgânica.

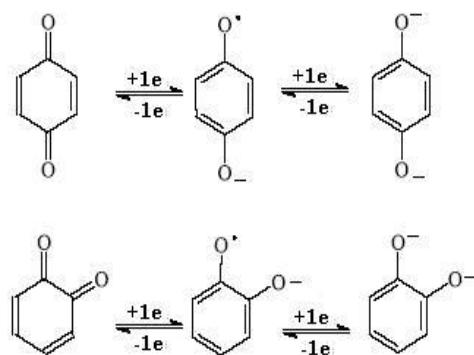


Figura 9.6. Semiquinonas produzidas pela redução de quinonas ou pela oxidação de para e *orto*-difenóis. Adaptação de Budziak *et al.* (2004).

Reduções microbiológicas de ácidos húmicos

As reações redox que, normalmente, ocorrem em todos os solos dizem respeito diretamente aos processos de acumulação e reatividade da matéria orgânica humificada e, por conseguinte, afeta toda a química a fertilidade e a biologia (mais especificamente a microbiota do solo e produção vegetal). Um exemplo do papel dos ácidos húmicos (AH), como agentes redox no sistema solo, é a redução de Fe(III) a Fe(II), que é um processo essencial para a nutrição celular, uma vez que esse elemento é predominantemente assimilado na forma reduzida. Os estudos indicam que os AH são mediadores da redução microbiológica do Fe(III), ou seja, os grupos quinona oxidados presentes nos AH são reduzidos por microrganismos e então reduzem Fe (II), oxidando-se novamente (Szilágyi, 1971, 1973, 1974; Lovley, 1996, 1997; Lovley *et al.*, 1998, 2000).

A redução microbiana de AH não só tem consequências para o ciclo do ferro, mas também no destino de poluentes orgânicos e inorgânicos no ambiente, tais como, mobilização e retenção de metais tóxicos e hidrocarbonetos (Coates *et al.*, 1998; Kappler *et al.*, 2004; Keum & Li,

2004). Os grupos funcionais quinonas, presentes em concentração elevada nas substâncias húmicas, são os principais responsáveis pela atividade redox dos AH (Lovley *et al.*, 1998; Hernandez e Newman, 2001; Saab & Martin-Neto, 2003). Sistemas aromáticos, com resíduos de quinona, também são sugeridos por Chen *et al.* (2003). Os grupos quinonas poderiam atuar como mediadores na transferência de elétrons para os contaminantes (Martin-Neto *et al.*, 1994). Há evidência de que grupos quinonas da MOS poderiam mediar a degradação de solventes clorados e nitroaromáticos em soluções aquosas (Dunnivant *et al.*, 1992) e reduzir o tetracloreto de carbono, cromato etc, por microrganismos redutores de Fe^{3+} (Fredrickson *et al.*, 1996; Lovley, 1997; Lovley *et al.*, 1998; Lovley *et al.*, 2000; Kim e Picardal, 1999; Ramos-Tejada *et al.*, 2003). Os potenciais termodinâmicos são favoráveis para a maioria dos grupos quinonas atuarem como transportadores de elétrons para contaminantes, como nitrobenzenos e tetracloreto de carbono (An *et al.*, 1996; Tratnyek & Macalady, 2000; Medien & Zahran, 2001). Utilizando uma quinona sintética, antraquinona-2,6-dissulfonato (AQDS), Scott *et al.* (1998) conseguiram estimular a redução de Fe^{3+} de maneira similar à obtida com AH. Os microrganismos podem conservar energia para seu crescimento, via transporte de elétrons para o acceptor AQDS, resultando em antrahidroquinona-2,6-dissulfonato, em estado reduzido (AHQDS), que pode, abioticamente, mediar a redução férrica, por meio da transferência de elétrons, regenerando AQDS, oxidada. Quando microrganismos são cultivados em meio contendo AQDS e Fe^{3+} , também são aptos a transferirem elétrons para AH. Devido a essa capacidade de atuar como agente oxidante e redutor continuamente (Fukushima & Tatsumi, 1999), onde os grupos quinona exercem papel fundamental, os AH poderiam estar presentes, mesmo em baixas concentrações, para mediar uma substancial quantidade de reações de redução de Fe^{3+} para Fe^{2+} nos sistemas naturais, sobretudo, nos solos. Este fato contribuiria de maneira significativa para a geoquímica deste e de outros metais, além de participar diretamente do fluxo de elétrons no ecossistema em geral (Motheo & Pinhedo, 2000; Kukkadapu *et al.*, 2001; Hernandez & Newman, 2001; Marschner & Kablutz, 2003).

Propriedades redox dos AH e grau de humificação

A concentração de radicais livres nos AH está associada à ecologia de sua formação e, obviamente, à natureza dos processos bioquímicos e químicos envolvidos na sua gênese. O conteúdo de radicais livres do tipo semiquinona pode ser obtido pela espectroscopia paramagnética eletrônica (EPR) (Rex, 1960) e utilizado para caracterizar qualitativamente a fração humificada do solo.

Uma série de estudos têm obtido alto grau de correlação entre o conteúdo de radicais livres do tipo semi-quinonas com o grau de humificação da matéria orgânica (Milori *et al.*, 2002; Saab *et al.*, 2003). A base desses trabalhos consiste na observação de uma relação direta entre o aumento do grau de humificação e o aumento da concentração de radicais livres na matéria orgânica humificada. De acordo com Zech *et al.* (1997), a humificação dos resíduos orgânicos pode ser observada por RMN ^{13}C , acompanhada pelo aumento do conteúdo de C-carboxílicos, alquílicos e aromáticos e diminuição de C ligado a polissacáideos. Com o aumento da humificação, de forma geral, ocorre o acúmulo de estruturas complexas e aromáticas que se estabilizam em radicais livres do tipo quinonas e, portanto, a sua concentração está associada ao avanço da humificação (Milori *et al.*, 2002). No entanto, acessar as características de reatividade e humificação da matéria orgânica por EPR envolve uma técnica complexa e equipamentos caros

(Milori *et al.*, 2002).

Clientes da importância do envolvimento das SH em reações redox nos sistemas naturais vistos anteriormente e da possibilidade de avaliar a qualidade da matéria orgânica utilizando as suas propriedades redox, Struyk & Sposito (2001) desenvolveram os princípios teóricos para a determinação da capacidade de oxidação das SH, por meio de um método que consiste na titulação redox das SH.

Titulação redox de ácidos húmicos

As titulações redox são realizadas pela oxidação dos AH com I_2 (iodimetria), sob atmosfera inerte (Struyk & Sposito, 2001). A solução oxidante, para cada titulação, é padronizada, utilizando-se tiosulfato de sódio, de acordo com as reações propostas por Bard *et al.* (1985):



O frasco para a titulação iodimétrica é um frasco hermético, mantido à temperatura de 25°C por meio de fluxo de água contínuo, proporcionado, pelo acoplamento ao frasco, de equipamento de “banho” que controla a pressão do fluxo e a temperatura da água. A tampa do frasco é preparada para acomodar, usando silicone para a vedação, um eletrodo combinado para pH (vidro e AgCl/Cl) e um eletrodo redox combinado AgCl/Cl e Pt, além de um tubo para entrada de gás argônio (Ar) e uma microbureta (Figura 9.7).

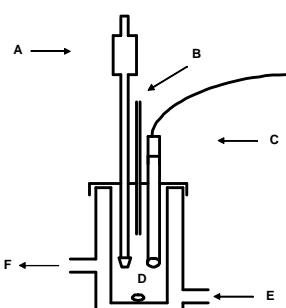


Figura 9.7. Esquema de titulação redox. A. Microbureta; B. Tubo para entrada de Ar; C. Eletrodo de Pt acoplado a eletrodo de referência AgCl, Ag; D. Agitador magnético; E e F. Respectivamente, entrada e saída de água a 25°C.

Para cada titulação o pHmetro deve ser calibrado, utilizando soluções tampões a pH 4 e pH 7. O eletrodo redox de Pt (eletrodo de referência KCl 1 mol L⁻¹, AgCl | Ag) é calibrado com tampão redox férrico-ferroso. A solução é preparada com sulfato ferroso amoniacial 0,100 mol L⁻¹ (39,21 g L⁻¹ de $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$), sulfato férrico de amônio 0,100 mol L⁻¹ 12H₂O) e H_2SO_4 1,00 mol L⁻¹ (56,2 mL L⁻¹ de H_2SO_4 concentrado). A leitura de $E_H = 439$ mV+/-2 indica o correto funcionamento do eletrodo de Pt (Light, 1972).

Em cada titulação, 125 mL de solução tampão fosfato ($NaHPO_4$ 0,05 mol L⁻¹ e $Na_2HPO_4 \cdot H_2O$ 0,05 mol L⁻¹) e KCl 0,05 mol L⁻¹ são adicionados ao frasco e, em seguida, o pH é ajustado com HCl ou NaOH para pH 5 ou 7. A solução deve ser purgada com Ar por 60 minutos para a depleção de O_2 . Acrescenta-se AH à solução, para a obtenção de uma concentração na suspensão de 50 mg L⁻¹ (6,25 mg AH suspensos em 125 mL de KCl 0,05 mol L⁻¹ e solução tampão fosfato 0,05

mol L⁻¹). A suspensão é novamente borbulhada com Ar durante 30 minutos. Em seguida, a suspensão anóxida é novamente ajustada a pH 5,00 ou 7,00 com HCl ou NaOH para o início da titulação.

De acordo com Stumm & Morgan (1996), o eletrodo de Pt não é afetado pela adsorção de AH e a titulação pode ser realizada com o eletrodo imerso na suspensão, realizando-se a leitura da f.e.m._{cela} quando a variação for igual ou menor a 2,0 mV minuto⁻¹.

Na titulação, são utilizados incrementos de 2 µL de solução 0,025 mol kg⁻¹ de I₂ (mol kg⁻¹ = molinidade) e, após cada incremento de titulante, a solução é agitada (agitador magnético) e borbulhada com Ar por mais 30 segundos, para facilitar a homogeneização do titulado. Em seguida, são obtidas as leituras da f.e.m._{cela} e de pH, quando a oscilação da leitura é inferior a 2,0 mV minuto⁻¹, usualmente após 10 a 15 minutos. O final da titulação redox de AH é atingido quando valores constantes de f.e.m._{cela} são registrados com a adição de oxidante (Figura 9.7). Cada titulação requer aproximadamente 2,5 a 5 horas.

Os valores obtidos com a titulação redox dos AH são analisados de acordo com estudo desenvolvido inicialmente por Struyk & Sposito (2001). Os valores de f.e.m._{cela}, medidos durante as titulações redox podem ser diretamente relacionados ao potencial formal do eletrodo padrão (^FE_H^o) de acordo com a equação:

$$\text{f.e.m.}_{\text{cela}} = \text{F}E_{\text{H}}^{\text{o}}(\text{HA}_{\text{ox}}, \text{HA}_{\text{red}}) - \text{F}E_{\text{H}}^{\text{o}}(\text{AgCl} \mid \text{Ag}) \quad (58)$$

onde ^FE_H^o(AgCl, Ag) = 222 mV é o potencial padrão do eletrodo de referência (AgCl | Ag a 25 °C), relativo ao eletrodo padrão de hidrogênio e ^FE_H^o(HA_{ox}, HA_{red}) é o potencial de eletrodo formal da meia-cela AH, medido sob condições onde a relação de concentrações analíticas de reagentes e produtos, conforme indicado na equação de Nernst é exatamente igual a unidade e as concentrações de outras espécies no sistema são cuidadosamente especificadas.

A transferência de elétrons associada à oxidação dos AH, é medida com o eletrodo de Pt, a partir da concomitante reação de redução no eletrodo de referência AgCl, Ag. Os dados da titulação consistem na f.e.m._{cela} como função da concentração de elétrons doados pelos AH (mol_c kg⁻¹). Sendo titulada uma suspensão de AH, é conveniente expressar o valor da capacidade de oxidação, como o número de mols de I₂ que são reduzidos por kg de AH na reação, cuja equação pode ser descrita como:

$$\text{mol}_c \text{kg}^{-1} = \frac{2\text{mol}_c}{\text{mol I}_2} \times \frac{\text{molinidade} \times \text{densidade da solução de I}_2}{\text{massa AH}} \quad (59)$$

As curvas de titulação são obtidas com o gráfico da f.e.m._{cela} (mV) em função da capacidade de oxidação de AH (mol_c kg⁻¹). O ponto de inflexão é obtido determinando-se a segunda derivada da função. O ponto de inflexão, obtido para cada curva de titulação, é utilizado para a determinação da f.e.m._{cela} (eixo das ordenadas) e a capacidade de oxidação (eixo das abscissas). A titulação de amostras em branco, sem AH, não devem apresentar capacidade de oxidação mensurável na região do ponto de inflexão em nenhum dos AH estudados.

No gráfico a seguir (Figura 9.8), encontram-se as titulações redox iodimétricas, realizadas a pH 5,0 e pH 7,0, para amostras de AH isolado de vermicomposto. As curvas de titulação foram tipicamente semelhantes às apresentadas por Struyk & Sposito (2001).

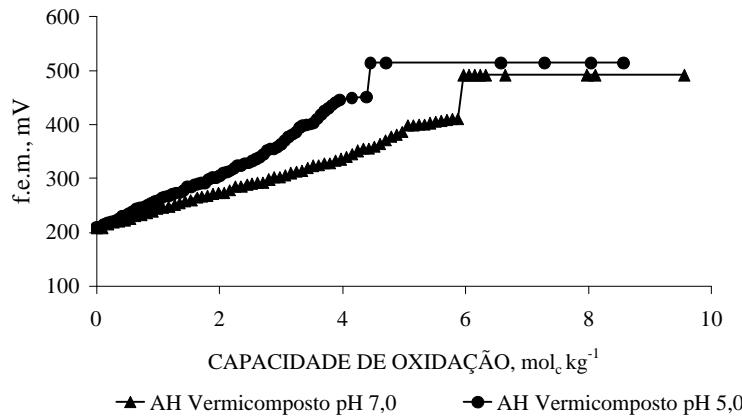


Figura 9.8. Titulação redox para ácidos húmicos (50 mg L^{-1}) obtidos de vermicomposto, suspensos em $\text{KCl } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e solução tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 5,00 e 7,00.

No ponto de inflexão, seguindo a equação de Nernst (Stumm & Morgan, 1996; Struyk & Sposito, 2001):

$$\text{f.e.m.}_{\text{cela}} = {}^{\text{f}}\text{E}_{\text{H}}^{\text{o}} (\text{AH}_{\text{ox}} \mid \text{AH}_{\text{red}}) - (q/n) 0,05916 \text{ pH} \quad (60)$$

E em relação ao eletrodo AgCl, Ag :

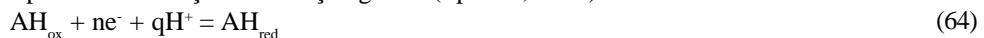
$$\text{f.e.m.}_{\text{cela}} = {}^{\text{f}}\text{E}_{\text{H}}^{\text{o}} (\text{AH}_{\text{ox}}, \text{AH}_{\text{red}}) - (q/n) 0,05916 \text{ pH} - \text{E}_{\text{H}}^{\text{o}} (\text{AgCl}, \text{Ag}) \quad (61)$$

Substituindo os dados da titulação redox do AH de vermicomposto a pH 5,0:

$$0,451 = {}^{\text{f}}\text{E}_{\text{H}}^{\text{o}} (\text{AH}_{\text{ox}}, \text{AH}_{\text{red}}) - (0,34) 0,5916 (5) - 0,222 \quad (62)$$

$${}^{\text{f}}\text{E}_{\text{H}}^{\text{o}} (\text{AH}_{\text{ox}}, \text{AH}_{\text{red}}) = 0,773 \text{ V} \quad (63)$$

correspondendo à reação de redução global (Sposito, 1989):



com AH_{ox} e AH_{red} representando as formas oxidada e reduzida de AH (que podem ser espécies iônicas), respectivamente. A relação q/n é o número de moles de prótons por moles de elétrons, transferidos durante a oxidação de 1 mol de AH, que pode ser calculada utilizando-se os valores da $\text{f.e.m.}_{\text{cela}}$, obtidos para dois valores de pH, por meio da equação:

$$\frac{-q}{n} = \frac{\Delta \text{f.e.m.}(\text{pH})}{0,05916} \quad (65)$$

$$(q/n) = \frac{\left(\frac{0,451 - 0,411}{0,05916} \right)}{2} = 0,34 \quad (66)$$

onde $\Delta \text{f.e.m.}(\text{pH})$ é a mudança na $\text{f.e.m.}_{\text{cela}}$ por unidade de pH alterado na solução de titulado no ponto de inflexão. A um determinado valor de pH, substituindo o valor da relação q/n e o valor de $\text{f.e.m.}_{\text{cela}}$ substituído na equação apresentada, é possível calcular o valor do potencial formal de eléctrodo (${}^{\text{f}}\text{E}_{\text{H}}^{\text{o}}$) para a meia cela redox de AH ($\text{AH}_{\text{Ox}}, \text{AH}_{\text{Red}}$). Este potencial de eletrodo formal pode ser convertido na constante de equilíbrio condicional, por meio da seguinte relação (Stumm & Morgan, 1996):

$$\log K_c = \frac{F E_H^0}{0,05916} \quad (67)$$

onde K_c é a constante de equilíbrio condicional a 298 K, correspondendo à reação de redução genérica para um elétron transferido (Struyk & Sposito, 2001),



No caso do AH obtido do vermicomposto (Figura 9.8),

$$\log K_c = 0,773/0,05916 = 13,1 \quad (69)$$

Usando a equação genérica apresentada anteriormente, uma comparação entre pE para pares de redox no ambiente pode ser feita para avaliar uma seqüência de redução natural, definida Stumm & Morgan (1996), como “redox ladder”:

$$pE_c = \log K_c - (q/n) pH \quad (70)$$

e, para a titulação redox do AH isolado do vermicomposto (Figura 9.8):

$$pE = 13,1 - (0,34) (7) = 10,7 \quad (71)$$

A curva de titulação redox obtida com AH isolado de vermicomposto foi similar às reportadas por Struyk & Sposito (2001), sendo, portanto, verificados um nítido ponto de inflexão e pequenos saltos ao longo da curva de titulação. Estes autores assumiram a inflexão da curva como o ponto de equivalência da titulação potenciométrica e associaram os pequenos saltos à presença de resíduos de Fe nos AH, não removidos pelo processo de purificação, recomendado pela IHSS (Tabela 9.4).

Tabela 9.4. Dados da titulação potenciométrica de ácido húmico obtido de vermicomposto.

COx.	Dados da Titulação Potenciométrica ⁽¹⁾					
	f.e.m.		q/n	$F E_H^0$ ⁽²⁾	$\log K_c$	pE_c ⁽³⁾
pH 5	pH 7	pH 5	pH 7			
----- mol _c kg ⁻¹ -----	----- mV -----			- V -		
4,39	5,88	451	411	0,34	773	13,1
						10,7

⁽¹⁾ Calculado como descrito na seção Titulação Redox de Ácidos Húmicos; ⁽²⁾ a pH 5,0; ⁽³⁾ a pH 7,0.

O aumento da COx com o pH, nas condições deste estudo, poderia ser atribuído, além da própria definição da equação de Nernst, às mudanças conformacionais indicadas por Piccolo (2001), ou seja, ocorre alteração da estrutura das SH em resposta aos aumentos de pH, resultando em maior capacidade de oxidação.

Tanto nos AH padrões da IHSS, estudados por Struyk & Sposito, quanto nos AH isolados do vermicomposto, a sua reação de oxidação transferiu ao $I_{2(aq)}$, aproximadamente um próton para cada três elétrons, ou relação q/n (sendo q prótons e n elétrons) igual a 0,34. No entanto, outros

trabalhos reportam a relação q/n mais ampla, em torno de 0,75 (Osterberg & Shirshova, 1977; Mathiessen, 1995), sugerindo que os AH diferem, não só em quantidade de elétrons transferíveis, mas também quanto à sua qualidade redutora.

O uso da COx na avaliação da qualidade das substâncias húmicas

Em um Cambissolo cultivado por longo tempo com cana-de-açúcar com 55 anos de preservação do palhço por ocasião da colheita, Canellas *et al.* (2003) observaram o acúmulo na fração AH e a melhoria nas características de fertilidade do solo. As curvas de titulação redox foram utilizadas para avaliar a qualidade dos AH (Figuras 9.9 e 9.10).

Os AH isolados do solo, sob cana crua apresentaram a capacidade de oxidação superior aos extraídos da área sob cana queimada, em ambas as profundidades do solo estudadas e para os dois valores de pH utilizados na titulação potenciométrica. Isoladamente, o aumento do pH do titulado de 5 para 7 promoveu elevação de 75%, em média, na COx dos AH isolados.

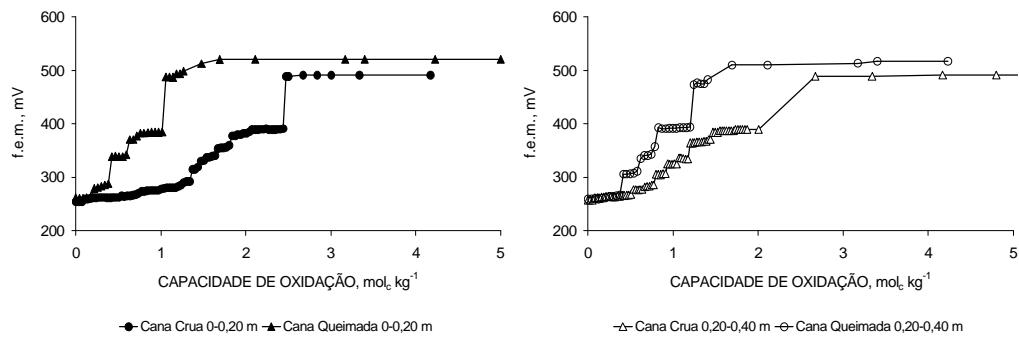


Figura 9.9. Titulações redox para ácidos húmicos (50 mg L^{-1}) obtidos de solos sob cana-de-açúcar após 55 anos utilizando ou não a queima da palha para a colheita, suspensos em $\text{KCl} 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e solução tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ a $\text{pH} 5,00$. Adaptado de Baldotto *et al.* (2003).

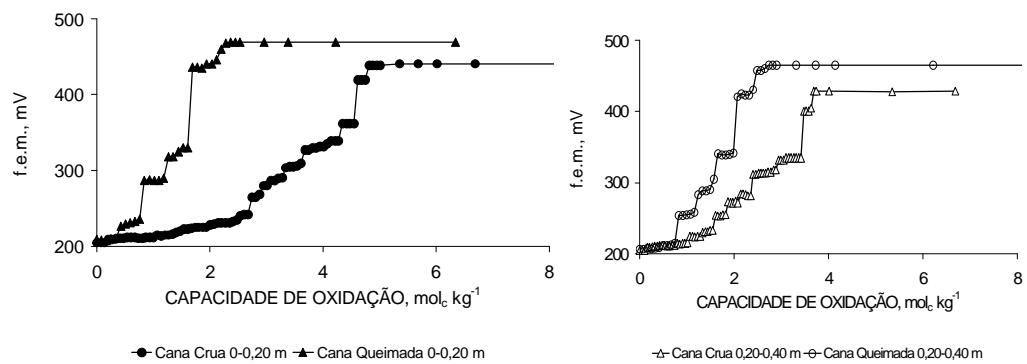


Figura 9.10. Curvas de titulação redox de ácidos húmicos (50 mg L^{-1}) obtidos de solos sob cana-de-açúcar após 55 anos utilizando ou não a queima da palha para a colheita, suspensos em $\text{KCl} 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e solução tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ a $\text{pH} 7,00$. Adaptação de Baldotto *et al.* (2003).

Tabela 9.5. Dados da titulação potenciométrica de ácidos húmicos, obtidos de solos sob cana-de-açúcar após 55 anos, utilizando (CQ) ou não (CC) a queima da palha para a colheita.

Manejo	Dados da Titulação Potenciométrica ⁽¹⁾									
	COx		f.e.m.		q/n	^F E ^o _H ⁽²⁾	log K _c	pE _c ⁽³⁾		
	pH 5	pH7	pH 5	pH 7						
	----- mol _c kg ⁻¹ -----		----- mV -----		- V -					
0 – 0,20 m										
CC	2,42 A	4,55 A	391 A	343 A	0,41 A	0,733 A	12,3 A	9,5 A		
CQ	1,01 B	1,64 B	380 B	334 B	0,39 A	0,717 B	12,2 A	9,4 A		
0,20 – 0,40 m										
CC	2,02 A	3,42 A	390 A	336 A	0,47 A	0,747 A	12,6 A	9,4 A		
CQ	1,22 B	2,02 B	394 A	342 A	0,44 A	0,746 A	12,6 A	9,5 A		

⁽¹⁾ Calculado como descrito na seção Titulação Redox de Ácidos Húmicos; ⁽²⁾ a pH 5,0; ⁽³⁾ a pH 7,0; Médias na coluna, acompanhadas de letras diferentes, em cada profundidade do solo, apresentaram contrastes significativos, para o teste de Tukey (P<0,05). Adaptado de Baldotto et al. (2003).

Em média, os incrementos na capacidade de oxidação dos AH obtidos da área de cana-de-açúcar manejada sem a queima na colheita sobre o solo cultivado com cana queimada, foram de 140 e de 170 % (0-0,20 m), e de 66 e de 69 % (0,20-0,40 m), para as titulações a pH 5 e a pH 7, respectivamente (Tabela 9.5).

Uma comparação entre os valores das propriedades redox de alguns pares comuns nos sistemas naturais constitui-se na “sequência redox” (Stumm & Morgan, 1996), como pode ser observado na Tabela 9.6.

Tabela 9.6. Propriedades redox de alguns pares comuns em sistemas naturais.

Pares Redox	E _{H^o}	log K _c	ΔG ^o	pE ^o ⁽¹⁾
$\frac{1}{4} O_2 + H^+ + e^- = \frac{1}{2} H_2O$	V		kcal mol ⁻¹	
$\frac{1}{2} MnO_2 + 2H^+ + e^- = \frac{1}{2} Mn^{2+} + H_2O$	0,35	20,8	-28,37	15,6
$H + e^- = \frac{1}{2} H_2$	0,76	12,8	-17,46	12,8
$0,00$	0,0	0,0	0,00	0,0
$1/3 AH_{ox} + 1/3 H^+ + e^- = 1/3 AH_{red} *$	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	51,1	-69,60	25,5

⁽¹⁾ Calculado a pH 5,0. * Médias dos valores obtidos por Baldotto et al., (2003).

Os valores obtidos para o par redox AH_{ox}, AH_{Red}, utilizando-se as amostras isoladas do Cambissolo sob cana-de-açúcar, indicam que o poder redutor dos AH seria suficiente para reduzir metais tóxicos como o Hg (II), além de Fe(III) e Mn (IV) da fase sólida. Assim, os resultados indicam que os AH estudados encontram-se, no ambiente, no estado reduzido (AH_{Red}), entretanto, o ambiente em que ocorre a humificação influencia o poder redutor dos AH (Figura 9.11).

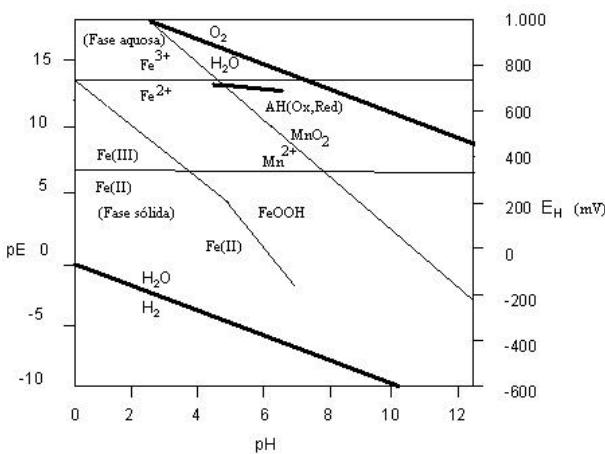


Figura 9.11. Diagrama pE-pH com pares redox de importância ambiental. Os valores para AH são médias dos AH estudados por Baldotto *et al.* (2003).

Foram obtidos coeficientes de correlação linear significativos entre a capacidade de oxidação dos AH e as principais características químicas da matéria humificada e das propriedades químicas do solo em geral (Tabela 9.6). Os AH com menor tamanho/conformação mais aberta, estimada pela maior relação E_4/E_6 , mostraram maior poder redutor. O efeito do fogo e a transformações da MOS puderam ser separados do manejo da cana-de-açúcar sem a queima e com incorporação da palha, por meio desta relação foi menor nos AH obtidos na área de cana queimada.

Tabela 9.7. Coeficientes de correlação linear de Pearson entre a capacidade de oxidação dos ácidos húmicos e as demais variáveis estudadas

COx	Variáveis							
	CTC	C	AH	COOH	OH	Q	O/C	E_4/E_6
pH 5	0.96 *	0.95 *	0.92 *	0.92 *	0.99 **	0.90 *	0.99 **	0.93 *
pH 7	0.95 *	0.95 *	0.91 *	0.90 *	0.99 **	0.93 *	0.99 **	0.90 *

** e * = significativo a 1 e 5 % de probabilidade, respectivamente.

A capacidade de transferir elétrons dos AH destes solos está relacionada à sua capacidade de reter cátions, indicando a importância desta propriedade para estudo do húmus, no que diz respeito ao entendimento do fluxo de elétrons e à previsão da dinâmica de cargas negativa dos solos tropicais.

Segundo Almendros *et al.* (2003), o efeito do fogo na MOS, além de diminuir sua CTC por meio da diminuição dos grupos funcionais oxigenados, promove transformações nas SH, menor reatividade e resistência à nova degradação microbiana, limitando reações químicas importantes na geração de cargas no solo. O manejo em cana crua também contribuiu para a diminuição do ponto de carga protônica líquida zero (PCPLZ), deslocando o equilíbrio de cargas. Seus valores se correlacionaram com o poder redutor dos AH, além dos grupos ácidos dos AH estudados na ocasião. Estas melhorias na fertilidade do solo também foram atribuídas por Canellas *et al.* (2003), que estudaram a humificação da MOS, nestas mesmas áreas, a um aumento nos teores de SH alcalino solúveis mais condensadas no manejo com cana crua.

A COx dos AH se relaciona estreitamente com os teores de grupos funcionais oxigenados e quinonas, e estas últimas vêm sendo indicadas como as principais responsáveis pelas propriedades redox das SH (Struyk & Sposito, 2001). No entanto, não está ainda bem entendido como ocorre a resultante dos valores mensurados para COx, uma vez que, em se tratando de SH, sem estrutura discreta definida (Piccolo, 2002), os resultados obtidos seriam compostos por valores de vários grupos doadores ou de rearranjos das suas moléculas para a transferência de elétrons, resultando em um valor médio de uma mistura de pares redox presentes nas SH. A COx dos AH foi correlacionada significativamente com atributos de fertilidade do solo e características da matéria orgânica. Além disso, seu baixo custo e facilidade de obtenção a credencia como um bom indicador da qualidade da matéria orgânica humificada do solo.

10

capítulo

Bioatividade de substâncias húmicas – ação sobre o desenvolvimento e metabolismo das plantas

Luciano P. Canellas

Daniel B. Zandonadi

Leonardo O. Médici

Lázaro E. P. Peres

Fábio L. Olivares

Arnoldo R. Façanha

As substâncias húmicas estão presentes nos solos, nas águas e nos sedimentos. Além de influenciar as características físicas, químicas e microbiológicas desses compartimentos, podem afetar diretamente o metabolismo e o crescimento das plantas. Os mecanismos dessa ação só agora começam a ser elucidados. Neste capítulo dá-se atenção especial à capacidade dos ácidos húmicos estimularem o crescimento e o desenvolvimento do sistema radicular das plantas. Além de indiretamente favorecer os processos de absorção de íons mediante a formação de complexos organometálicos solúveis. As substâncias húmicas ativam rotas bioquímicas específicas tal como fazem alguns hormônios vegetais. Nossos antepassados identificaram, no húmus, uma força vital capaz de condensar as propriedades de diferentes domínios da natureza (o mineral, o cósmico, o vegetal e o animal) e orientar as forças responsáveis pelas boas colheitas. Com o avanço do conhecimento, foi possível identificar uma conversa efetiva entre as plantas e a matéria orgânica humificada. Os códigos desse diálogo começam a ser decifrados e envolvem o reconhecimento de rotas específicas de sinalização celular. O estudo da bioatividade das substâncias húmicas pode fornecer uma parte importante da base científica necessária para o desenvolvimento de novas formas de cultivo, baseadas na adaptação das plantas ao ambiente e no uso e manejo da matéria orgânica.

Introdução

O processo civilizatório pode, de acordo com Ribeiro (1998), vir a ser compreendido como a história da criação das técnicas produtivas, que são a base natural de toda organização específica da sociedade. Nesse contexto, Ribeiro indica o primeiro processo civilizatório como o correspondente à Revolução Agrícola, que se desencadeou originalmente, há cerca de 10 mil anos, sobre os povos da Mesopotâmia e do Egito e se repetiu, mais tarde, por efeito da difusão ou como desenvolvimentos independentes, na Índia (6000 a.C.), na China (5000 a.C.), na Europa (4500 a.C.), na África tropical (3000 a.C.) e nas Américas (2500 a.C.) (Ribeiro, 1998, p.81).

A revolução tecnológica que proporcionou o surgimento da agricultura (e depois o pastoreio) conduziu o primeiro processo civilizatório configurando um novo modo de vida. Hordas de caçadores e coletores organizaram-se em *aldeias agrícolas indiferenciadas* (não-estratificadas em classe), e puderam se reproduzir social e economicamente com certo controle sobre o ambiente:

Antes da Revolução Agrícola, o homem vivera em pequenos bandos móveis de coletores de raízes e frutos, de caçadores e pescadores, rigidamente condicionados ao ritmo das estações, engordando nas quadras da fartura e emagrecendo nos períodos de penúria (Ribeiro, 1998, p.82). A agricultura foi, portanto, a revolução que permitiu uma ruptura com a estrutura nômade pré-histórica e o desenvolvimento de novas ordens socioculturais.

Desde suas origens, o sucesso da atividade agrícola esteve associado à utilização de materiais orgânicos como fertilizantes. Aproveitando as cheias dos rios ou utilizando o esterco de animais para adubar as colheitas, nossos antepassados manejaram a matéria orgânica, e com isso, permitiram condições para acumulação de alimentos e reprodução social. Evidências do conhecimento sobre húmus remontam às origens do Homem, há cerca de 10.000 anos! (uma pequena síntese desse debate pode ser visto na primeira parte do capítulo 2, sobre os modelos estruturais de substâncias húmicas). Aqui enfatiza-se que, muito além de fornecer nutrientes às plantas e condicionar as propriedades químicas, físicas e microbiológicas do ambiente, a matéria orgânica humificada estabelece uma inter-relação íntima e complexa com a planta e seu metabolismo. Durante milhões de anos de evolução, as plantas interagiram dinâmica e continuamente com o componente orgânico do solo desenvolvendo novas rotas de sinalização celular, mudanças genéticas e bioquímicas inicialmente importantes para a diversificação e disseminação das plantas no planeta que, posteriormente, passaria a assumir um papel fundamental na adaptação das plantas do ambiente selvagem para o domesticado que teve curso com o desenvolvimento da agricultura.

A matéria orgânica do solo é um sistema complexo integrado por diversos componentes, cujo dinamismo está ligado à incorporação de resíduos vegetais, animais e microbianos ao solo e à transformação e evolução destes, mediadas pela interação de vários processos ecológicos sucessivos (Labrador Moreno, 1996). A maior parte do carbono orgânico da superfície do planeta (entre 85 e 95%) encontra-se na matéria orgânica humificada, ou seja, nas substâncias húmicas (Hayes & Malcom, 2001). Além de fornecer nutrientes para as plantas por meio da mineralização (processo definido genericamente como a transformação das formas orgânicas dos elementos em formas iônicas através da ação das enzimas dos microrganismos), as substâncias húmicas também podem estimular diretamente o desenvolvimento e o metabolismo das plantas através de mecanismos ainda não totalmente elucidados.

O crescimento, o padrão de formação e a diferenciação dos órgãos vegetais são etapas do desenvolvimento vegetal alteradas freqüentemente pelas substâncias húmicas. Tais alterações devem, obrigatoriamente, emergir de mudanças no metabolismo vegetal, mas os alvos bioquímicos e moleculares alterados por estas substâncias somente agora começam a ser explorados.

As mudanças metabólicas que precedem cada evento relacionado ao desenvolvimento são estudadas para que seja possível entendê-las e direcioná-las de acordo com a conveniência do Homem. Essa intervenção na Natureza (com o objetivo de obter-se uma produção primária mais eficiente) é a chave para o desenvolvimento dos processos tecnológicos. Portanto, o mapeamento dessa regulação (que pode ser realizado em níveis moleculares, celulares e bioquímicos) é a base cartográfica para se percorrer um novo itinerário tecnológico.

Como se verá mais adiante no capítulo 11, ao se percorrer esse itinerário, novas práticas de produção agrícola deverão ser engendradas com fundamento numa episteme radicalmente distinta daquela que balizou os “pacotes tecnológicos” da Revolução Verde. Novas práticas, novos conhecimentos calcados numa perspectiva holística e sistêmica do processo de produção agropecuária na multidisciplinaridade, na preocupação ambiental como premissa, na otimização dos recursos disponíveis na própria unidade de produção (a matéria orgânica, por exemplo), na

participação dos agricultores e na valorização de seus saberes empíricos.

A construção de um modelo de desenvolvimento ambientalmente saudável e socialmente justo é uma alternativa histórica que passa, necessariamente, pela reafirmação de novas formas de construção do conhecimento. Esse é o desafio que se coloca aos adeptos da formas agroecológicas de produção na agricultura. Uma parte desse desafio passa pela elucidação do papel das substâncias húmicas no metabolismo das plantas.

Ação das substâncias húmicas sobre o crescimento vegetal

Nas revisões de Vaughan & Malcolm (1985), Chen & Aviad (1990) e de Nardi *et al.* (2002) sobre os efeitos fisiológicos das substâncias húmicas, grande parte dos trabalhos citados relatam estímulos de promoção do crescimento radicular de diversas plantas. A morfologia radicular é muito sensível às propriedades químicas e físicas do solo. Na germinação, a radícula é a primeira estrutura que emerge da semente, desempenhando as duas funções primárias da raiz: a fixação e a absorção. Água e íons inorgânicos absorvidos pela raiz são transportados, pelo xilema, para a parte aérea da planta. O sistema radicular possui uma atividade intensa que modifica o solo do seu entorno, pela exsudação de vários compostos que concorrem para o aumento da mobilidade de nutrientes, imobilização de íons tóxicos e selecionamento da microflora (McCully, 1999). Por sua vez, o solo da rizosfera contém substâncias orgânicas (humificadas ou não) que podem estimular a atividade radicular num diálogo, cujas implicações serão abordadas no final deste capítulo, numa hipótese para a bioatividade das substâncias húmicas. Por ora, vê-se que existe muita diferença entre os tipos de raízes. A primeira raiz da planta origina-se do embrião e é usualmente chamada de raiz primária. Nas gimnospermas, magnoliídeas e eudicotiledôneas, a raiz primária, denominada raiz pivotante, cresce diretamente para baixo, dando origem as ramificações, ou raízes laterais. Este tipo de sistema radicular, chamado de sistema radicular pivotante e caracteriza-se por uma raiz principal bem desenvolvida (Raven *et al.* 1999). As monocotiledôneas apresentam sistema radicular fasciculado, a raiz primária não se diferencia. Este sistema se divide em dois sistemas de diferentes origens e predominâncias durante o desenvolvimento da planta: o sistema seminal e o sistema nodal. O sistema seminal, composto pela raiz primária e suas ramificações, é indispesável para o estabelecimento da plântula, e o fraco desenvolvimento deste sistema resulta em efeitos adversos para o crescimento da planta ao longo do seu ciclo vital. Ainda persiste a idéia de que o sistema seminal de gramíneas é temporário e entra em senescência após o estabelecimento do sistema nodal (frequentemente denominado sistema permanente). Muitos trabalhos têm mostrado que esta idéia é incorreta. Além de indispesável para a plântula, o sistema seminal desempenha um papel contínuo no desenvolvimento da planta. O sistema seminal supre um quinto de toda a água usada pelo milho cultivado no solo (Raven *et al.* 1999). A quantidade de água suprida pelo sistema seminal diminui após o florescimento, mas aumenta novamente durante o enchimento dos grãos.

A despeito de sua aparente insignificância, as raízes finas (raízes laterais com menos de 0,8 mm de diâmetro) são os principais sítios de absorção de água do sistema radicular. As raízes finas possuem mais de 30 vezes o comprimento total dos eixos principais. Elas possuem a superfície oito vezes maior que a raiz-mãe e coletam oito vezes mais água. As substâncias húmicas atuam sobre a morfologia radicular, por exemplo, aumentando o número de raízes mais finas ou de pêlos radiculares. Tais mudanças morfológicas induzem, também, mudanças

fisiológicas. Por exemplo, uma maior eficiência de absorção de nutrientes confere maior capacidade de produção de biomassa sob condições de limitação de nutrientes do meio conferindo maior tolerância aos estresses nutricionais (Pinton *et al.*, 1999). O número e o crescimento de raízes finas são estimulados pela ação de ácidos húmicos (Canellas *et al.*, 2002).

A mudança do paradigma dominante de modificar o ambiente, para atender às necessidades dos cultivares, pode ser contraposto pela alternativa de adaptar a planta ao ambiente natural (Araújo, 2000) que, em conjunto com o conhecimento dos efeitos da matéria orgânica humificada sobre o crescimento e desenvolvimento vegetal, pode ser estratégico para o desenvolvimento de sistemas agrícolas sustentáveis.

O crescimento vegetal pode ser definido como o aumento irreversível de tamanho que ocorre nas plantas, em consequência não apenas da divisão celular, mas também do elongamento celular. Já o desenvolvimento se constitui em uma série de fenômenos que vão acontecendo enquanto a planta cresce e que culminam com a maturidade sexual. A soma de ambos os processos (crescimento e desenvolvimento) recebe o nome de ontogênese, que é o conjunto de fenômenos que levam à formação de um indivíduo adulto de uma espécie. Nas raízes, cada célula passa por uma série ordenada de fases de crescimento. A célula cúbica produzida na região meristemática ou meristema de uma planta em desenvolvimento, tem muitos pequenos pró-vacúolos que, durante o desenvolvimento, fundem-se num só grande vacúolo central. A célula aumenta de tamanho seguindo a turgescência vacuolar pela produção de mais material da parede celular, do citoplasma e dos vários tipos de organelas celulares. A diferenciação ocorre, geralmente, junto com a elongação celular mas, algumas vezes, segue-se a este. As células externas da raiz, por exemplo, adotam uma de duas formas finais: ou se achatam e funcionam como células epidérmicas, ou se diferenciam em pêlos, consistindo de uma extensão celular alongada com grande capacidade de absorção de água e sais minerais. Durante a rápida fase de crescimento dessas células, o núcleo quase sempre se situa na extremidade do pelo (região de grande atividade metabólica). Os pêlos absorventes têm vida curta, mas são produzidos em grande quantidade à medida que a ponta da raiz se aprofunda no solo. Os pêlos absorventes aumentam bastante a área da raiz em contacto com o solo, e sua membrana plasmática possui maior capacidade de absorção que as células epidérmicas não-diferenciadas. Os tecidos centrais da raiz diferenciam-se nos elementos vasculares.

A velocidade do crescimento de uma planta depende tanto do genótipo como do ambiente, cujos elementos exercem controle efetivo sobre o crescimento das plantas. Por sua vez, as substâncias húmicas atuam em várias esferas do ambiente solo. Por exemplo, o estresse hídrico, via de regra, retarda o crescimento. Quantidades reduzidas de nitrogênio, potássio, fósforo ou de qualquer elemento essencial retardam o crescimento ou podem matar a planta da mesma forma que os elementos tóxicos em quantidades elevadas, tais como, metais pesados e Al^{3+} . A formação natural ou não de camadas adensadas no solo dificultam o crescimento radicular. Esses fatores são indiretamente afetados pela presença das substâncias húmicas. O processo de mineralização libera nutrientes para as plantas; por meio de seus grupamentos funcionais, as substâncias húmicas providenciam uma grande quantidade de ligantes estáveis para a formação de complexos com cátions metálicos; um resumo dos efeitos das substâncias húmicas sobre as propriedades do solo pode ser observado na Tabela 10.1, adaptada de Rocha & Rosa (2003).

Além dos elementos do ambiente (luz, temperatura, água, nutrientes), uma planta requer outras substâncias químicas para o seu crescimento. Essas substâncias, chamadas hormônios, são produzidas numa parte do organismo e transportadas para outra, onde promoverão algum efeito especial. Geralmente, são necessárias somente em quantidades excepcionalmente pequenas. Na maioria dos casos, são produzidas pela própria planta. Foram caracterizadas várias moléculas com atividade hormonal, destacando-se: auxinas, giberelinas, citocininas, etileno, ácido abicísico, brassinoesteróides, ácidos jasmônicos. Não é recente a concepção de que as substâncias húmicas podem regular o desenvolvimento das plantas (Bottomley, 1917) como se fossem hormônios. Porém, tal versão foi contida pela concepção da estrutura macromolecular das substâncias húmicas que tornava um anacronismo uma macromolécula recalcitrante ser capaz de atuar como um hormônio, ligando-se a receptores celulares específicos (esse debate foi realizado no capítulo 2 sobre os modelos estruturais de substâncias húmicas).

Tabela 10.1. Propriedades gerais das substâncias húmicas e efeitos causados no solo

Propriedade	Substâncias húmicas	Efeitos no solo
Cor	Apresentam coloração variando de amarelo até escuro	Interferência no matiz e no croma do solo; retenção de calor
Retenção de água	Podem reter água até 20 vezes a sua massa	Proteção contra erosão; armazenamento de água no solo
União de partículas sólidas	Cimentam partículas do solo, formando agregados	Formação de estrutura no solo; porosidade do solo; densidade do solo
Complexação	formam complexos específicos (Cu^{++} , Mn^{++} , Zn^{++} , Al^{+++}) e não-específicos (Ca^{++} , Cd^{++})	Detoxificação de íons tóxicos (Al^{+++}), aumenta a mobilidade de íons
Insolubilidade em água	Devido à sua associação com argilas e sais de cátions di e trivalentes	Perde-se pouca matéria orgânica é perdida com a água de percolação
Efeito tampão	Têm função tamponante em amplos intervalos de pH	Ajuda a manter o equilíbrio da solução do solo
Troca de íons	A acidez total das frações isoladas do húmus varia de 300 a 1400 cmoles kg^{-1}	Responsáveis pela capacidade de troca de cátions e de ânions no solo
Mineralização	A decomposição da matéria orgânica libera íons e moléculas (CO_2 , NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} e SO_4^{2-})	Fornecimento de nutrientes para o crescimento das plantas

(Adaptado de Rocha & Rosa, 2003).

Os efeitos diretos das substâncias húmicas sobre o metabolismo das plantas que resultariam em maior crescimento e desenvolvimento radiculares foram resumidos por Nannipieri *et al.* (1983), como resultado da:

- Influência positiva sobre o transporte de íons facilitando a absorção;
- Aumento da respiração e da velocidade das reações enzimáticas do ciclo de Krebs, resultando na maior produção de ATP;
- Aumento no conteúdo de clorofila;
- Aumento na síntese de ácidos nucléicos;
- Efeitos sobre a síntese protéica;
- Aumento ou inibição da atividade de várias enzimas;

Vários trabalhos têm demonstrado inequivocadamente que a formação do complexo ligante-húmico com íon metálico (geralmente, nutriente essencial em quantidades-traço)

favorece a absorção de íons e, por consequência, o crescimento e o desenvolvimento das raízes. Numa série de trabalhos, o aumento da eficiência da absorção de Fe, na presença dos mais diversos tipos e concentrações de substâncias húmicas já foi obtido (Pinton *et al.*, 1998; Pinton *et al.*, 1999a; Chen & Aviad, 1990). Da mesma forma, com nitrato (Vaughan *et al.*, 1985; Piccolo *et al.*, 1992; Pinton *et al.*, 1999b; Nardi *et al.*, 1991; Quaggioti *et al.*, 2004), enxofre e outros íons. A Tabela 10.2 traz um resumo de alguns resultados com esse viés de pesquisa. As respostas observadas para o incremento de absorção de cátions, na maior parte dos casos, são positivas, enquanto as respostas referentes à redução da absorção dizem respeito aos ânions, mais precisamente, Cl^- e dois casos de PO_4^{3-} (Tabela 10.2). Por outro lado, uma visão diferente para esses fenômenos de absorção foi buscada por Visser (Visser, 1982; Samsom & Visser, 1989). As substâncias húmicas, por apresentarem superfície ativa, têm uma ação surfactante. Assim, o poder detergente das substâncias húmicas poderia aumentar a permeabilidade das membranas biológicas que são barreiras seletivas em relação à entrada e saída de íons da solução do solo. Com a membrana mais permeável, a barreira seletiva pode ser fragilizada, concorrendo, em parte, para maior entrada de íons (Samsom & Visser, 1989). Por outro lado, com a perda da seletividade, as saídas de íons também seriam facilitadas. A seletividade das membranas biológicas é uma propriedade essencial para a homeostase e o crescimento celular e, portanto, os efeitos surfactantes não devem ser responsáveis pelo aumento do crescimento *in vivo* uma vez que a função de barreira seletiva das membranas, responsável pela manutenção da estabilidade e homeostase celular, não é levada em consideração (Canellas *et al.*, 2002; Façanha *et al.*, 2002).

Além disso, cabe aqui uma pergunta: como tratar os resultados obtidos em meio axênico, sem nutrientes, com raízes expostas a um tempo curto (poucos minutos), diferentes concentrações de substâncias húmicas com baixo teor de cinzas (<1%) e a observação de um rápido crescimento radicular (Ramos *et al.*, 2005)?

Uma série de trabalhos foi conduzida a partir dos anos 1960 com o objetivo de avaliar o efeito de substâncias húmicas sobre os mais distintos tipos de enzimas e de atividade enzimática. A tônica geral desses experimentos consistia no isolamento das enzimas (a maior parte pelos métodos de extração ou por eletroforese) e na reação da enzima com o seu substrato específico na ausência (controle) e na presença de diferentes doses de substâncias húmicas. Neste capítulo, este tipo de ensaio será tratado como experimentos *in vitro*. Algumas das enzimas analisadas foram categorizadas na Tabela 10.3, segundo os respectivos eventos metabólicos em que participam. É possível perceber que a ação dos ácidos húmicos envolve estímulos relacionados à hidrólise e conversão de açúcares, proteção contra radicais livres e pelo metabolismo do fosfato. Mas é possível seguir mais adiante implementando um exercício de compilação desses dados, buscando um sentido fisiológico unificador, até chegar a uma rota metabólica (mesmo que essencialmente especulativa), para a ação destas substâncias. Um modelo que poderia adequar-se aos dados descreveria uma ação ordenada na qual os ácidos húmicos ativariam a fosforilação oxidativa, gerando assim a energia necessária (sob forma de síntese de ATP) para as modificações da arquitetura radicular e para o amento da capacidade de absorção ativa de nutrientes. Paralelamente, ocorreria uma regulação dos sistemas de proteção da célula contra radicais livres, os quais poderiam ter seus níveis celulares aumentados pela sobrecarga dos sistemas de síntese de ATP mitocondriais. Várias enzimas da via do

catabolismo de açúcares e proteínas transportadoras são reguladas por eventos de fosforilação e defosforilação, que poderiam estar relacionados à ativação tanto de fosforilases quanto de fosfatases específicas. Todavia, esses experimentos estão sujeitos a críticas: em condições naturais, os sistemas enzimáticos estão protegidos dentro da célula do contato direto com a dispersão coloidal contendo as substâncias húmicas do solo. Talvez isso explique a aparente contradição dos dados da Tabela 10.3 que mostra inibição das enzimas glicolíticas e ativação das oxidases da cadeia respiratória mitocondrial. Assim, ensaios *in vitro* não refletem a ação efetiva que ocorreria em nível celular, exceto se houvesse um livre acesso das substâncias ao citoplasma. Um modo simples de responder tal questão constitui a experimentação *in vivo*, definida aqui como tratamento das plantas ou órgãos das plantas com substâncias húmicas, seguida da análise de alterações dos eventos bioquímicos proporcionados pelo tratamento. Apesar dos ensaios *in vivo*, possuírem claras limitações em termos de simulação do fenômeno natural, incorporam alguma vantagem em relação aos experimentos *in vitro*, ao desconsiderar os efeitos de massa e de ação surfactante das concentrações elevadas de substâncias húmicas nos meios de reação. Cabe ressaltar aqui que o teor de substâncias húmicas em solução, geralmente, é muito baixo no solo (Stevenson, 1994).

Mas qual seriam os principais alvos bioquímicos envolvidos na ação de promoção do enraizamento observado pelas substâncias húmicas? Essa capacidade de estimular o crescimento e a atividade enzimática foi definida aqui como a bioatividade das substâncias húmicas. Então, seria possível obter-se um marcador bioquímico da atividade das substâncias húmicas?

Como as membranas biológicas das células epidérmicas radiculares são a primeira fronteira entre o organismo vivo (raiz) e a solução do solo, as proteínas transmembranares seriam alvos naturais para tal pesquisa. Nas membranas celulares, estão localizadas diferentes tipos de enzimas (inclusive algumas multifuncionais), diversos tipos de proteínas transportadoras e receptores de sinais. Dentre estas, inúmeras entidades protéicas, que por suas funções específicas, poderiam estar diretamente implicadas na percepção e respostas subseqüentes da célula vegetal a fatores ambientais, como as substâncias húmicas. Neste contexto, destacam-se os receptores hormonais e os sistemas primários de transporte de íons. Especula-se que existam vários receptores com diversidade de especificidade e de ação, mas, como sua abundância na membrana parece ser minoritária frente aos transportadores e dado que poucas destas moléculas foram identificados até então, não existem evidências ou estudos sobre a identificação de possíveis receptores celulares para substâncias húmicas. Por outro lado, os sistemas primários de transporte de H^+ da célula vegetal são representados por uma família multigênica de H^+ -ATPases do tipo P, caracterizadas como proteínas muito abundantes (consistindo de 1 à 10% da proteína da membrana plasmática). A atividade destas enzimas influencia não só o funcionamento dos transportadores secundários (uniportadores, simportadores e antiportadores) como também o funcionamento de canais e de receptores dependentes do potencial de membrana mantido principalmente pelo gradiente eletroquímico de H^+ , gerado por estas bombas. E talvez por isso, várias evidências têm demonstrado que a H^+ -ATPase de membrana plasmática está diretamente implicada nas respostas da planta às substâncias húmicas.

Tabela 10.2: Efeito de ácidos húmicos sobre a absorção de íons ($>$ aumento em relação ao controle; $<$ diminuição em relação ao controle; - sem resposta).

Planta	Ácidos húmicos	Ions										referência			
		Origem	Concentração (mg L ⁻¹)	Na	K	Ca	Mg	Cu	Zn	Fe	Mn	Cl	SO ₄	PO ₄	NO ₃
Cerada	Podzol	5-20													Ram & Verllo (1983)
Cerada	Solo	<12													Cacco & Civalli (1973)
Cerada	Solo	100													Dell'Agnoia <i>et al.</i> (1981)
Beterraba	solo	50-100													Wanghan & MacDonald (1971)
Pepino	Solo	100-300													Rauhan & Schnitzer (1981)
Milho	Solo	10													Lee & Bartlett (1976)
Milho	solo	<500													Fortun & Lopez-Fando (1982)
Milho	Turfa	100													Tichif (1984)
Arroz	Solo	2,5													Saathach (1986)
Tabaco	Solo	0-800													Mylunas & McCant (1980)
Tomate	Composto	1													Lisjak (1984)
Tomate	Composto	100													Gurinski <i>et al.</i> (1983)
Tomate	Solo	50													Linchian (1976)
Milho	-	-													Pinton <i>et al.</i> (1999)
Milho	-														Onagrotti <i>et al.</i> (2004)

Tabela 10.3 Efeito de AH sobre a atividade de enzimas em raízes de plantas superiores. Ensaio *in vitro* (adição ao meio de reação)

Planta	Concentração (mg AH L ⁻¹)	Enzimas Proteolíticas						referências
		Metabolismo dos carbonilatos	Anti-oxidantes	Fosforilação oxidativa	Metabolismo do fósforo	Catabolismo de proteínas		
Beterraba	> 5	+	+					Vaughan (1969)
Beterraba	Nc	-	-					Vaughan & Malcolm (1979)
Beterraba	Nc							Komissarov & Klimova (1979)
Trigo	100						+	Cimcová (1964)
Trigo	100							Sridhara (1961)
Trigo	< 250				+			Malcom & Vaughan (1979)
Tomate	Nc							Komissarov & Klimova (1979)
Trigo	< 10						+	Bulkova & Tichy (1967)
Trigo	1-100							Kristeva & Lubzarenko (1962)
Trigo	1-100				+			Starchev <i>et al.</i> (1975)
Trigo	1-500					+		Vaughan <i>et al.</i> (1974)
aveia	10-600							Vaughan & Malcolm (1971)
pepino	10-100						+	Butler & Ladd (1969)
tomate	10-100					+		De Almeida & Pospisil (1980)
Pinus	10-100							Muscolo <i>et al.</i> (2005)

Bioatividade das substâncias húmicas

Antes de serem abordados os efeitos fisiológicos promovidos pelos AH, é necessário discutir a importância e as funções das bombas de H^+ , localizadas na membrana plasmática e na membrana vacuolar (tonoplasto), responsáveis pela geração do gradiente eletroquímico que energiza os transportadores de íons e moléculas, utilizados na absorção de nutrientes pelas células. As bombas de H^+ são responsáveis, ainda, pela acidificação do apoplato e pela turgescência vacuolar, condições necessárias para a expansão celular.

O papel da H^+ -ATPase de membrana plasmática e o mecanismo do “crescimento ácido”

A H^+ -ATPase de membrana plasmática exerce um papel central no crescimento das células vegetais e em sua nutrição mineral. Essa enzima funciona como uma bomba de H^+ acionada pela hidrólise de ATP, sendo responsável pelo transporte primário de H^+ do interior da célula para o apoplato e, consequentemente, pela formação do gradiente de H^+ , gerado através da membrana plasmática. Este gradiente eletroquímico energiza o transporte secundário de íons e outros metabólitos contra um gradiente de concentração. Vários dos principais micro e macronutrientes vegetais se encontram em baixas concentrações (nano ou micromolares) na solução do solo e precisam ser transportados para o interior celular onde estão centenas de vezes mais concentrados. Para isto, existem na membrana plasmática várias proteínas transportadoras específicas capazes de acoplar a dissipação do(s) componente(s) elétrico e/ou químico do gradiente de H^+ , geradas pelas bombas ao co-transporte dos H^+ com estes íons.

De fato, o principal papel imputado à H^+ -ATPase de membrana plasmática na fisiologia das plantas, sempre foi o de ativar o transporte secundário de íons (Sondergaard *et al.*, 2004). A absorção de íons da solução do solo pode acontecer contra ou a favor de um gradiente de concentração e, em qualquer dos casos, o gradiente de H^+ pode exercer forte influência, quer seja energizando o transporte ativo pelos transportadores tipo simporte, uniporte ou antiporte, quer seja regulando a abertura e o fechamento de alguns canais responsáveis pelo transporte passivo de íons (Figura. 10.1). Além dos íons, o gradiente eletroquímico de H^+ também fornece a energia necessária para o transporte de alguns compostos orgânicos (Maathuis *et al.*, 2003). Um exemplo já bem caracterizado é o do transportador de sacarose envolvido no transporte de açúcar do apoplato para os vasos do floema (Morsomme & Boutry, 2000).

A H^+ -ATPase é a bomba de íons da membrana plasmática mais importante nas células vegetais e fúngicas (Palmgren, 1991). A característica comum das ATPases do tipo P é a formação de um intermediário fosforilado (daí a classificação “Tipo P” – PO_4^{2-}), identificável durante o ciclo catalítico da enzima, na qual o fosfato terminal do ATP é transferido a um resíduo aspartato na proteína (Figura 10.1C). O ortovanadato (HVO_4^{2-}) é um análogo do fosfato que inibe fortemente esse tipo de ATPase por competição pelo sítio de fosforilação (Sze, 1985). A H^+ -ATPase do tipo P presente na membrana plasmática de células vegetais e fúngicas, é composta por uma única cadeia polipeptídica com aproximadamente 100 kDa (Serrano, 1989). A redução do pH do apoplato é dependente da atividade das H^+ -ATPases que acoplam o transporte de H^+ , através da membrana plasmática, à hidrólise de ATP. Além de gerar o gradiente eletroquímico necessário para o transporte de íons e outros metabólitos através das membranas, esta enzima participa de outras funções essenciais ao crescimento da planta, tais como, tolerância à salinidade e regulação do pH intracelular (Palmgren, 1991; Morsomme & Boutry, 2000; Sondergaard *et al.*, 2004).

Para ocorrer o crescimento vegetal, é preciso, também, que as células se expandam fisicamente

e, ao mesmo tempo, mantenham sua integridade mecânica devido à alta pressão de turgor. Nesse sentido, a ação combinada do vacúolo com a parede celular gera o turgor, a força motriz para a tensão hidráulica e para o crescimento (Marty, 1999). A expansão celular é favorecida pela ação de algumas enzimas específicas (e.g., expansinas) que em pH menor ou igual a 4,5, promovem o aumento da plasticidade da parede celular pela liberação momentânea de pequenos segmentos da matriz de glucanos ligados às microfibrilas de celulose (Cosgrove, 1998; 2000).

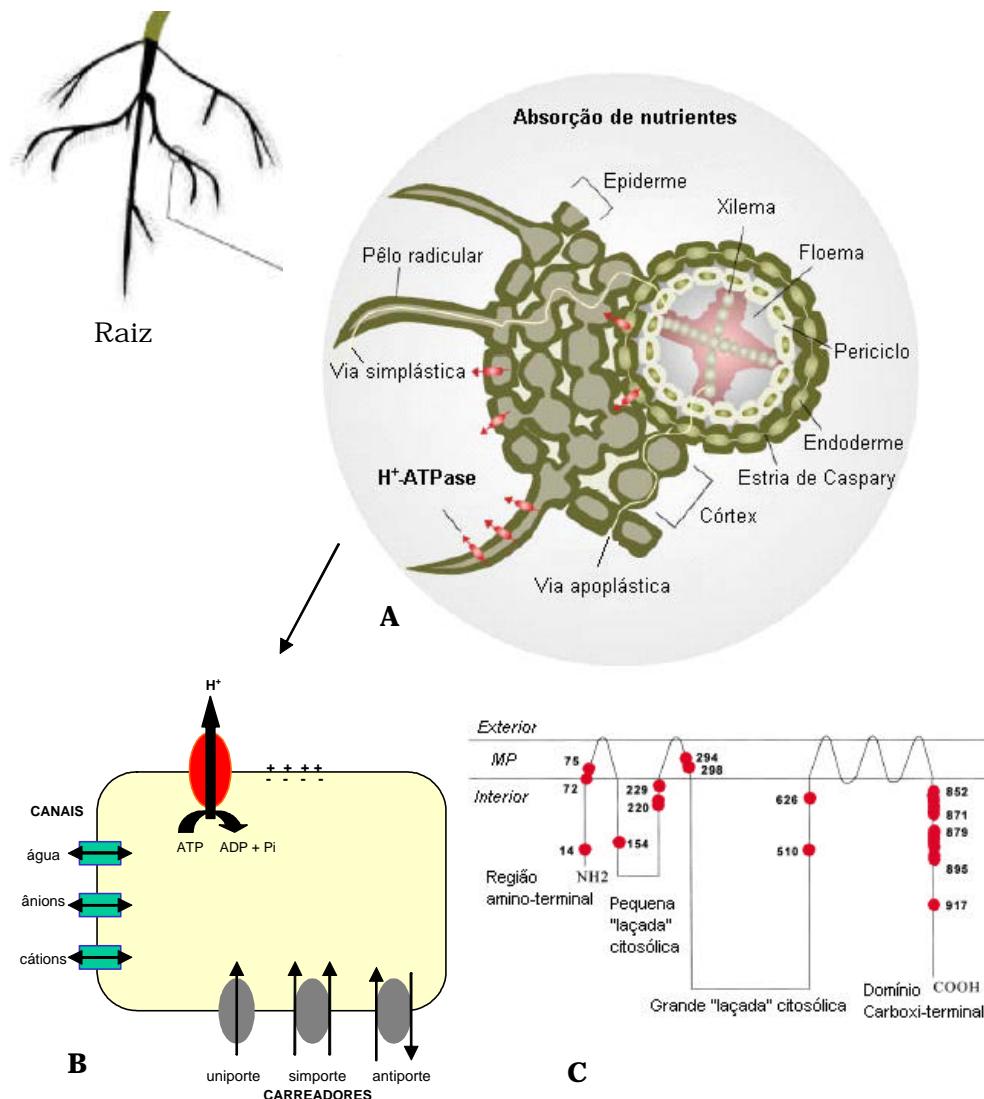


Figura 10.1. Transporte de nutrientes na raiz. A: a H^+ -ATPase está sempre ativa nas interfaces entre a rota plasmódia e apoplástica (Sondergaard et al., 2004). B: Os nutrientes podem ser transportados tanto por proteínas-canais quanto por proteínas carreadoras (transporte primário e secundário através da membrana plasmática, Morssome & Boutry, 2000). C: topologia predita para a H^+ -ATPase.

O papel das bombas de H^+ do tonoplasto

Os vacúolos das células vegetais são organelas multifuncionais que possuem um papel central no desenvolvimento celular. São compartimentos líticos que também funcionam como reservatórios de íons e metabólitos. São imprescindíveis para o processo de detoxificação e homeostase celular, pois estão envolvidos nas respostas da célula ao ambiente e fatores bióticos promotores de estresses (Marty, 1999). Provavelmente, o papel mais importante do vacúolo central é o de aumentar o tamanho da célula (Taiz, 1992). Segundo esse autor, de maneira geral, as células vegetais sofrem um aumento de volume entre 10 a 20 vezes durante a expansão celular. A maior parte deste aumento é promovida pela absorção de água. As funções que o vacúolo desempenha são dependentes das proteínas presentes na membrana vacuolar (tonoplasto) (Figura 10.2). O movimento de íons e água a favor do potencial osmótico é alcançado devido à presença de canais específicos, principalmente, aquaporinas (Maurel, 1997). O fluxo de íons, água e metabólitos, através do tonoplasto, são cruciais para a expansão da célula e o crescimento da planta, transdução de sinais, homeostase e operação das vias metabólicas (Sze *et al.*, 1992).

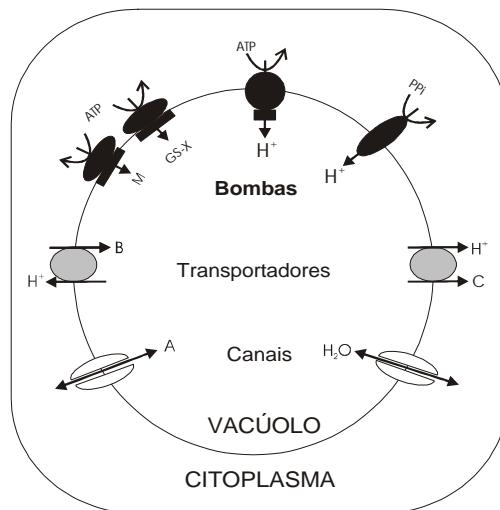


Figura 10.2. Processos de transporte no tonoplasto: modelo de transportadores A: bombas de H^+ primárias; B: transportadores secundários de H^+ ; C: canais (Adaptação de Marty, 1999).

O tonoplasto regula o trânsito de íons e metabólitos entre o citosol e o vacúolo, de maneira análoga à regulação realizada pela membrana plasmática no controle da absorção e excreção da célula. Porém, o tonoplasto possui duas enzimas que fornecem energia para os processos de transporte: a H^+ -ATPase vacuolar (V-ATPase ou ATPases do “tipo V”, Figura 10.3) e a H^+ -pirofosfatase vacuolar (H^+ -PPase ou V-PPase) (Rea & Sanders, 1987). De acordo com o modelo quimiosmótico de transporte de soluto dependente de energia, a força próton motora, gerada tanto pela H^+ -ATPase quanto pela H^+ -PPase, pode ser usada para conduzir o transporte secundário de solutos (Rea & Sanders, 1987; Taiz, 1992; Maeshima, 2000). A presença das duas bombas (V-ATPase e H^+ -PPase) na mesma membrana tem sido questão de controvérsia. Postula-se que o papel principal da V-ATPase seria o da manutenção do gradiente

eletroquímico de H^+ , enquanto a H^+ -PPase atuaria como um sistema auxiliar de bombeamento de H^+ (Taiz, 1992) (Figuras 10.4). A H^+ -PPase é a principal bomba de H^+ do vacúolo em sementes e tecidos mais jovens, enquanto a V-ATPase é a principal responsável pelo bombeamento de H^+ em tecidos mais maduros (Façanha & De Meis, 1998; Maeshima, 2000). A V-ATPase pertence a uma família de bombas de H^+ dependentes de ATP responsável pela acidificação de compartimentos intracelulares nas células eucarióticas (Wang *et al.*, 1986; Sze *et al.*, 1992; Kawasaki-Nishi *et al.*, 2003). As V-ATPases são enzimas heteromultiméricas constituídas de um complexo periférico catalítico (V_1) e de um complexo integral transmembranáceo responsável pela translocação de íons (V_0) (Sze *et al.*, 1992; Huss *et al.*, 2002). As V-ATPase são inibidas por diferentes substâncias: os íons nitrato parecem interagir com o domínio protogênico, levando-o a ser menos sensível à hidrólise de ATP no sítio catalítico (Tu *et al.*, 1987); os antibióticos bafilomicina A₁ (White, 1994) e concanamicina A - este mais efetivo - inibem de maneira específica a V-ATPase (Huss *et al.*, 2002). Ambos os inibidores se ligam no domínio V_0 da V-ATPase. A baflomicina interage com a parte hidrofóbica (V_0) da V-ATPase e a concanamicina liga-se à subunidade c, também localizada no domínio V_0 . As V-ATPases possuem outras funções, além da acidificação do vacúolo, e são consideradas as bombas de H^+ mais versáteis existentes na natureza. A H^+ -PPase também promove redução do pH e torna o potencial, no interior das vesículas, positivo (Wang *et al.*, 1987). Segundo Maeshima (2000), esta enzima possui três características peculiares: (i) Consiste em um polipeptídio com massa molecular de cerca de 80 kDa; (ii) utiliza o pirofosfato inorgânico (PP_i) como substrato de baixo custo energético; (iii) coexiste com a H^+ -ATPase numa mesma membrana vacuolar nas células vegetais (Rea & Sanders, 1987; Maeshima 2000) (Figura 10.2). A atividade da H^+ -PPase é inibida por fluoretos (Maeshima & Yoshida, 1989).

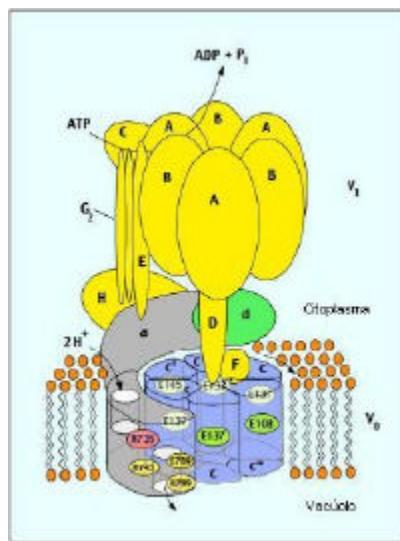


Figura 10.3. Mecanismo de rotação proposto para o transporte de prótons dependente de ATP promovido pela V-ATPase: A hidrólise de ATP no domínio V_1 parece levar a rotação do eixo central (composto pelas subunidades D e F), o qual em resposta leva a rotação do anel proteolipídico composto pelas subunidades c, c' e c'', localizados na subunidade V_0 (Adaptado de Kawasaki-Nish *et al.*, 2003).

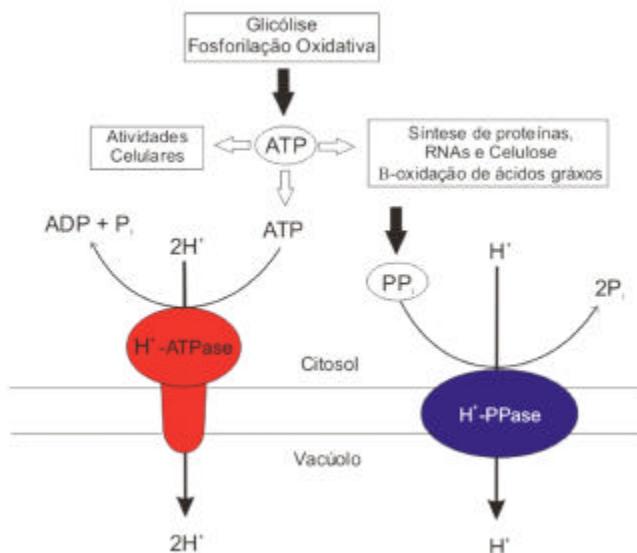


Figura 10.4. Produção de PP_i e ATP e a relação com a H^+ -ATPase e H^+ -PPase da membrana vacuolar. O PP_i é fornecido com um subproduto da biossíntese de macromoléculas, tais com RNAs, proteínas e celulose e β -oxidação de ácidos graxos (Adaptação de Maeshima, 2000).

Efeitos das substâncias húmicas sobre as bombas de H^+ e o crescimento vegetal

O estudo da ação direta das substâncias húmicas sobre o metabolismo e o crescimento das plantas tem se concentrado, principalmente, na ação dos ácidos fúlvicos, fração húmica considerada de menor massa molecular (Vaughan & Malcolm, 1985). O fato de uma substância tão grande como os ácidos húmicos (na ordem de micrômetros) (Cameron *et al.*, 1972) atravessar poros ou espaços aparentes no apoplasto (na ordem de nanômetros) não era concebido. No entanto este panorama tem mudado ultimamente com a concepção emergente do arranjo supra-estrutural de substâncias húmicas. Este modelo preconiza que compostos de reconhecida capacidade de regulação e estimulação do crescimento vegetal (hormônios vegetais, por exemplo) possam estar fracamente unidos à supra-estrutura das substâncias húmicas. Assim sendo, podem ser liberados para a solução do solo, por uma simples variação de pH na interface das raízes decorrente, por exemplo, da exsudação de ácidos orgânicos como experimentado por Façanha *et al.* (2002). Varanini *et al.* (1993) verificaram, por meio de ensaios *in vitro*, um estímulo na atividade da H^+ -ATPase de membrana plasmática (MP) por SH de baixo peso molecular. Sabe-se, no entanto, que AH podem promover o desenvolvimento vegetal na mesma proporção quando não superior aos ácidos fúlvicos (Vaughan & Malcolm, 1985). Façanha *et al.* (2002) e Canellas *et al.*, (2002) observaram alterações significativas na arquitetura radicular de plantas tratadas com ácidos húmicos. Foi observado um forte estímulo no crescimento radicular, número de sítios de mitose, número de raízes emergidas e área superficial. O crescimento radicular foi acompanhado da estimulação da atividade da H^+ -ATPase de MP e da sua síntese. Um resumo desses resultados é apresentado na Figura 10.5

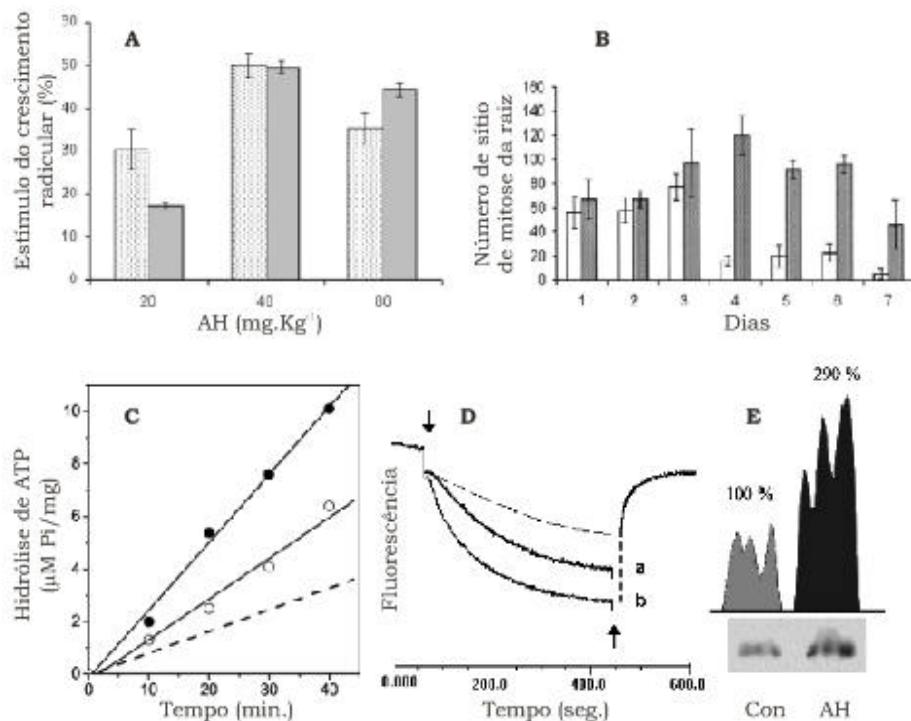


Figura 10.5 Efeito de ácidos húmicos (AH) sobre a morfologia radicular (A e B) e sobre a H^+ -ATPase de membrana plasmática de vesículas isoladas de raízes de milho (C, D e E): Efeito de concentrações diferentes de AH sobre o comprimento (barra mais clara) e sobre a área superficial da raiz (barra mais escura) (A); Efeito dos AH (barras mais escuras) sobre o padrão de crescimento radicular quantificado pelo número de sítios de raízes laterais (B); efeito estimulatório dos AH sobre a hidrólise de ATP (C) e transporte de prótons (C) sensíveis a vanadato da H^+ -ATPase de membrana plasmática. As linhas pontilhadas representam a adição de AH no meio; western blot de membranas plasmáticas isoladas de raízes de plântulas de milho tratadas (AH) ou não (Con) com AH (E). (Adaptado de Canellas *et al.*, 2002).

Zandonadi *et al.* (2006) verificaram também estímulo de ácidos húmicos sobre a atividade de bombas de H^+ localizadas no tonoplasto. Até então, a possibilidade de ácidos húmicos penetrarem no interior celular e exercer qualquer tipo de regulação de enzimas transmembranares do tonoplasto parecia limitada pela concepção de estrutura macromolecular das substâncias húmicas (discutidas no capítulo 2). Zandonadi *et al.* (2003) obtiveram diferentes frações de AH isolados de vermicomposto, pelo uso da cromatografia por exclusão de tamanho, e verificaram que o estímulo sobre a H^+ -ATPase de membrana plasmática é menor para cada uma das frações (tanto de alto como de baixa massa molecular), sugerindo que, mais do que o tamanho molecular, a conformação e a mobilização de subunidades funcionais parecem estar relacionadas com o aumento observado na atividade desta enzima, promovido pelos AH não fracionados. Pode-se estar lidando com um fenômeno complexo no qual a atividade de estimulação do enraizamento, por parte de componentes húmicos individuais mais homogêneos (como os obtidos com a cromatografia por exclusão de tamanho) parece não ter o mesmo efeito do que a mistura completa e heterogênea de todas as frações (AH não-fracionados), sugerindo que a bioatividade das SH pode emergir da interação ou da ação sinérgica destes componentes. A busca de uma relação entre estrutura-atividade de

substâncias húmicas foi levada a cabo inicialmente por Schnitzer & Poapst (1967) e, mais tarde, por Piccolo *et al.* (1992), que correlacionaram o teor de grupos ácidos (principalmente COOH) com o crescimento radicular. Apesar de matematicamente ser encontrada uma relação significativa, o conteúdo de H⁺, livres em solução *per si* explicaria pouco a ação das substâncias húmicas em eventos metabólicos associados ao crescimento radicular. Produziu-se, então, derivados acetilados (com anidrido acético em piridina) e metilados (diazometano em metanol) (detalhes dessas reações podem ser vistas no capítulo 1) de ácidos húmicos isolados de vermicomposto e não foi encontrado relação entre o conteúdo de H⁺ livres e a estimulação na H⁺-ATPase, isolada de membrana plasmática de plântulas de milho tratadas com os ácidos húmicos e seus derivados. Uma parte desse experimento é mostrada nas Tabelas 10.4. e 10.5.

Tabela 10.4 Acidez total, carboxílica e fenólica (obtida por diferença) dos ácidos húmicos isolados de vermicomposto (AHV) e de seus derivados metilados (Met) e acetilados (OAc).

Ácidos húmicos	Acidez total (cmol Kg ⁻¹)	Acidez carboxílica (cmol Kg ⁻¹)	Acidez fenólica (cmol Kg ⁻¹)
AHV	666	496	170
AHVMet	86	32	54
AHVOAc	158	87	71

Tabela 10.5. – Bioatividade dos ácidos húmicos isolados de vermicomposto (AHV) e de seus derivados metilados (Met) e acetilados (OAc), avaliada pelo efeito sobre o desenvolvimento radicular (massa, área e comprimento radicular total) e da atividade vanadato-sensível da H⁺-ATPase da fração microssomal, isoladas de raízes de plântulas de milho, crescidas por 7 dias em solução com concentração de 20 mg C de AH L⁻¹ em ClCa₂ 2 mM

Tratamentos	Desenvolvimento radicular			Atividade vanadato sensível da H ⁺ -ATPase da fração microssomal (μmol Pi mg ptn ⁻¹ min ⁻¹)
	Massa (mg)	Área (u.a)	Comprimento total (u.a)	
controle	24,2 (100%) C	33.312 (100%) C	5.364 (100%) B	0,64 (100%) B
AHV	39,6 (164%) AB	56.669 (170%) AB	10.089 (188%) A	2,72 (453%) A
AHVMet	42,2 (174%) A	58.205 (175%) A	11.244 (210%) A	2,43 (405%) A
AHVOAc	30,6 (126%) BC	45.925 (138%) AB	8.684 (163%) A	2,98 (497%) A
F	7,25 **	4,427 **	4,108 **	10,12 **
CV	15,33	18,64	22,4	6,54

Médias seguidas de letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05). A área e o comprimento radicular foram obtidos pela análise da imagem digitalizada das raízes (300 dpi, 1bite, modo preto & branco) pelo programa computacional Delta T-Scan. U.A. representam unidades arbitrárias de área e comprimento

Muscolo *et al.* (1998) verificaram que SH de baixo peso molecular apresentaram atividade típica e equivalente a do ácido 3-indol acético (AIA), podendo operar estimulando a produção endógena desse fitormônio ou inibir as oxidases responsáveis pela sua degradação (Mato *et al.*, 1972).

Façanha *et al.* (2002) verificaram estímulo na síntese da H⁺-ATPase de membrana, promovida por AH, e indicaram as bombas de H⁺ como importantes marcadores bioquímicos da bioatividade das substâncias húmicas. Esses autores acreditam que subunidades estruturais de AH poderiam acessar receptores na superfície ou no interior da membrana plasmática das células das raízes,

síntese de H^+ -ATPase de membrana plasmática isoladas de raízes de milho correlacionada à presença de auxina (AIA) em ácidos húmicos, com a alteração no padrão de desenvolvimento radicular. Confirmando essas constatações, Quaggiotti *et al.* (2004) ratificaram a presença de AIA na estrutura de SH por meio de um ensaio imunológico. Foi demonstrado que frações húmicas de baixo peso molecular estimulam a absorção de nitrato, possivelmente pelo aumento da isoforma *Mha2* da H^+ -ATPase de membrana plasmática.

Os trabalhos acima mencionados explicitam a notória estimulação que as SH, especialmente AH e AF, exercem sobre o desenvolvimento de raízes de plântulas e sua possível associação com a indução da expressão da enzima que representa o sistema primário de transporte de H^+ da membrana plasmática e, consequentemente, da hidrólise de ATP e do transporte de H^+ estudados, principalmente em vesículas microssomais. O aumento na atividade das bombas de H^+ parece favorecer a indução da emissão de pêlos radiculares, de raízes laterais finas, o que resultaria, principalmente, no aumento na área superficial do sistema radicular (Figura 10.6). A Figura 10.6 apresenta, esquematicamente, um postulado sobre a bioatividade das SH. A teoria baseia-se num processo em que grupamentos com atividade auxínica, presentes no arranjo supramolecular, ou nos agregados húmicos, poderiam ser liberados em função da exsudação de ácidos orgânicos (*e.g.*, ácido acético) que notoriamente promove o rompimento das interações entre os componentes das SH. Essa dissociação causa maior mobilidade dos componentes da complexa e heterogênea mistura de substâncias húmicas, como observado por Simpsom (2002) no seu experimento com RMN em difusão de campo. Entre esses componentes mais lábeis, estão os compostos nitrogenados, do tipo auxinas, que podem sensibilizar receptores específicos na membrana plasmática, desencadeando cascatas de sinalização que culminariam com a ativação da transcrição dos genes que codificam as isoformas específicas da H^+ -ATPase de membrana plasmática, que são superexpressas na superfície das células radiculares (observe a Figura 10.5E).

O transporte de H^+ em direção ao apoplasto é compensado pela entrada de cátions através da membrana para o interior da célula, causando, assim, os efeitos secundários da auxina (*e.g.*, aumento do turgor e crescimento celular). Ambos os processos levam a um aumento da atividade de enzimas que torna a parede celular mais plástica, facilitando o alongamento celular (Teoria do crescimento ácido - Hager *et al.*, 1971). Os AH podem estar envolvidos nessas rotas de estimulação do bombeamento de H^+ , mediado pela H^+ -ATPase de membrana plasmática. O arranjo supramolecular dos ácidos húmicos sofre mudanças estruturais induzidas pelos exsudatos radiculares, liberando subunidades bioativas com atividade auxínica que sensibilizariam receptores tanto na membrana plasmática quanto no citoplasma, desencadeando respostas típicas à dação deste fitormônio. A exsudação radicular de ácidos orgânicos bem como a entrada de IAA na célula vegetal são processos que têm sido descritos como dependentes da atividade da H^+ -ATPase de membrana plasmática. A ativação desta bomba de H^+ seria, então, um evento inicial que desencadearia processos sinérgicos de liberação de ácidos orgânicos da célula vegetal que, por sua vez, induziriam a liberação de IAA presente na macroestrutura dos AH, e então estas moléculas teriam sua entrada na célula potencializada. A ativação da ATPase levaria, em última instância, ao aumento da absorção de nutrientes, da expansão celular, e participaria ainda de eventos de sinalização, via modulação, de canais dependentes do potencial de membrana. Neste contexto, as moléculas de AH se apresentam como reservatórios interativos de moléculas com atividade auxínica, capazes de liberar tais moléculas durante um diálogo químico/bioquímico com as raízes.

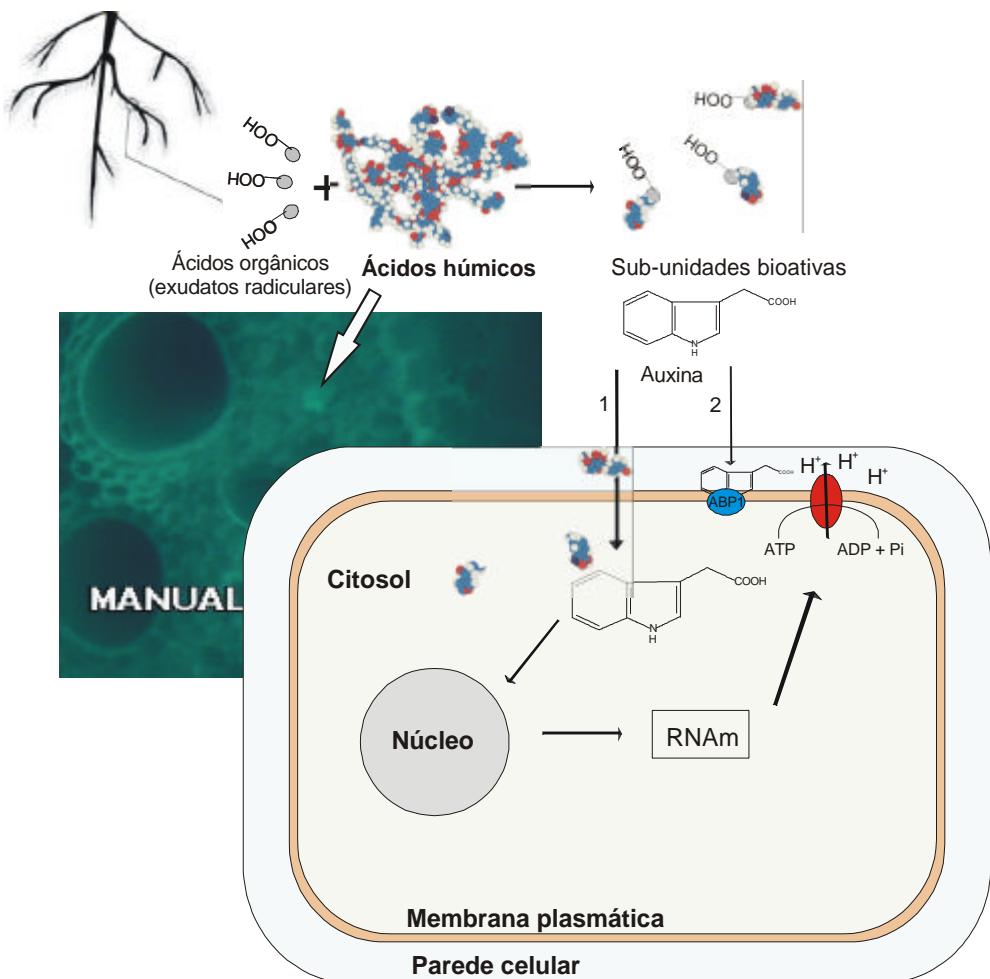


Figura 10.6. Interação de moléculas bioativas derivadas de ácidos húmicos (AH) com atividade auxínica sobre a célula vegetal: O arranjo supra-estrutural dos AH (Piccolo, 2002) pode ser rompido pelos ácidos orgânicos exsudados pelas raízes (Taiz & Ziegler, 1992). Pequenas unidades estruturais portadoras de atividade hormonal como, por exemplo, substâncias do tipo auxinas (já foi observado que uma série de compostos orgânicos apresenta atividade similar à das auxinas). Existem dois principais modelos para extrusão de H^+ induzida por auxina (AIA): (1) A hipótese de síntese, ou pré-transcripcional, que prevê a expressão de genes induzidos por auxina que codificam a síntese de H^+ -ATPases. A indução da síntese da H^+ -ATPase ocorreria mediante cascata de sinalização desencadeada pela ligação do IAA a receptores citoplasmáticos TIR1 (Dharmasiri et al., 2005; Observe à esquerda uma fotomicrografia de imunomarcação fluorescente da seção transversal de raízes de milho, com imagem de sinal amplificado, evidenciando agregados de partículas de AH no lúmen de vasos do protoxilema. Aumento de 750X.); (2) A hipótese de ativação pós-transcripcional da H^+ -ATPase que se baseia na ligação do IAA a receptores ABP1 (Ruck et al., 1993; Napier et al., 2002) (localizada na superfície celular ou na face interna da membrana plasmática), os quais interagem com a H^+ -ATPase, estimulando o bombeamento de H^+ e atuando diretamente sobre a enzima. Ambos os modelos podem ocorrer simultaneamente ou de forma alternada numa mesma célula e existem evidências que indicam a possibilidade de tanto os receptores ABP1 quanto os TIR1 poderem induzir regulações, tanto pré quanto pós-transcripcionais, nas membranas celulares.

A possibilidade de confirmar uma hipótese dessa natureza surgiu com o desenvolvimento de plantas mutantes e transgênicas. A utilização de plantas mutantes insensíveis ou supersensíveis a ação de um determinado hormônio é uma alternativa segura para a compreensão das vias de sinalização envolvidas no controle de uma determinada resposta fisiológica (Coenem *et al.*, 2002). Dessa maneira, busca-se um mutante bem caracterizado quanto à sua alteração na resposta à auxina no que concerne à dependência deste hormônio no processo chamado “crescimento ácido”. O tomateiro mutante *diageotropica* (*dgt*) foi bem caracterizado quanto à sua resistência a auxina (Kelly & Bradford, 1986; Muday *et al.*, 1995). Kelly & Bradford (1986) demonstraram a redução da síntese de etileno e do alongamento de hipocótilos de tomate *dgt*. Coenem *et al.* (2002) comprovaram que a extração de H^+ , induzida por auxina, em tomate *dgt* é reduzida. Apesar da importância deste modelo para o entendimento da maneira pela qual as substâncias húmicas poderiam agir no nível de sinalização celular, não há relato da utilização de mutantes para a determinação da bioatividade de substâncias húmicas. Em trabalho recente, mutantes de tomateiro porte micro (MT) com a mutação *dgt*, e raízes transformadas geneticamente, supersensíveis a auxinas (*eg.* MT8196), foram testados na presença de ácidos húmicos (Zandonadi, 2006). Os AH, assim como as auxinas, não induziram o alongamento de pecíolos de tomate *dgt* (Fig 10.7 A), como ocorre nos pecíolos de plantas-controle, indicando que parte da ação dos AH, neste fenômeno, está relacionada com o efeito promovido pela auxina. Além disso, o processo de diferenciação observado pela quantificação das raízes emergidas também corrobora a confirmação do efeito auxínico dos ácidos húmicos sobre o processo de enraizamento de tomateiro (Fig. 10.7 B). A atividade e o transporte de H^+ das principais bombas da membrana plasmática e do tonoplasto também foram monitorados (Fig 10.8). Um passo fundamental para o aumento da extensibilidade da parede celular, necessário ao processo de expansão, é a ativação e síntese de H^+ -ATPase de membrana plasmática e este processo pode ser desencadeado pela ação da auxina (Hager *et al.*, 1991; Frias *et al.*, 1996). A H^+ -ATPase de membrana plasmática foi estimulada nas plantas de tomate MT. Nas plantas mutantes insensíveis à auxina não foi observado qualquer estímulo significativo sobre a bomba. Por outro lado, nas raízes transgênicas supersensíveis à auxina, tratadas com ácidos húmicos, o aumento da atividade da extração de H^+ foi ainda maior do que nas raízes de plantas com genótipo MT. Os resultados obtidos permitiram afirmar que o modo de ação dos ácidos húmicos é dependente, pelo menos em parte, da via de transdução de sinal de auxina.

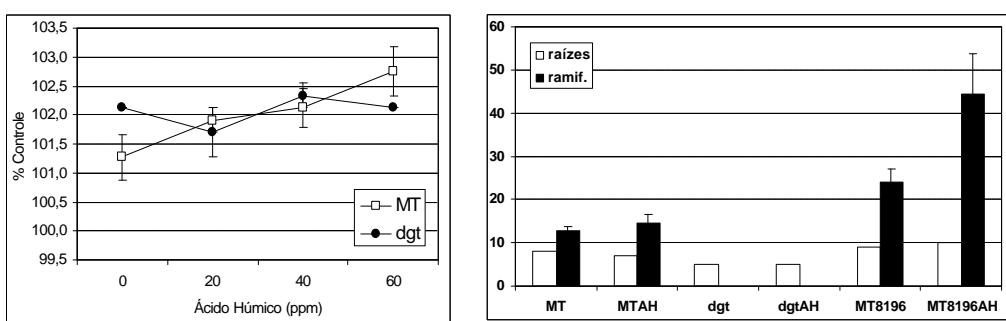


Figura 10.7. Expansão de pecíolos de MT (sensíveis à auxina) e *dgt* (pouco sensíveis à auxina) na presença de concentrações crescentes de ácidos húmicos (A). Número de raízes e ramificação das raízes laterais de tomate MT (sensível a auxina), *dgt* (pouco sensíveis à auxina) e MT8196 (supersensíveis à auxina) na presença de 20 mg $C_{AH} L^{-1}$ (B).

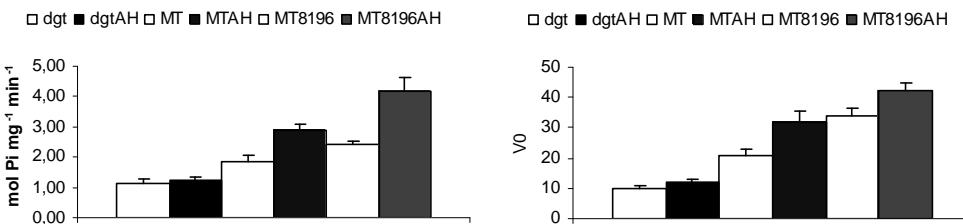


Figura 10.8. Atividade hidrolítica da H^+ -ATPase de membrana plasmática e velocidade inicial (V_0) do transporte de H^+ de vesículas isoladas de raízes MT (sensíveis à auxina), dgt (pouco sensíveis à auxina) e MT8196 (supersensíveis à auxina) cultivadas ou não na presença de ácidos húmicos ($20 \text{ mg } C_{AH} L^{-1}$).

O modelo exposto aqui para explicar a bioatividade das substâncias húmicas entra, algumas vezes, em conflito com as teorias mais comumente usadas para justificar o efeito de promoção do desenvolvimento radicular de plantas, seja devido à concepção estrutural das substâncias húmicas, seja por atribuir à planta (e à exsudação de ácidos orgânicos) um protagonismo pouco descrito. De acordo com Bachelar (1996), nosso espírito tem a tendência irresistível de considerar como mais clara a ideia utilizada com mais freqüência. Chega um momento, afirma Bachelar, em que se prefere que se confirme o saber adquirido àquilo que o contradiz. O conhecimento científico adquirido pelo esforço científico pode declinar se, conforme Ribeiro (1998), caso não se difundam surtos de inovações culturais que promovam a dinamização da vida como consequência do desenvolvimento das evoluções tecnológicas. O poder transformador das idéias, da capacidade de construção de uma nova ordem tecnológica, mediante a elaboração e disseminação de um novo ofício de agricultura, deve ser colocado junto ao esforço cultural e educacional necessários para a construção de alternativas ao processo civilizatório em curso. Como se verá mais adiante no capítulo 11, a Agroecologia pode gerar as novas bases epistemológicas necessárias a esse novo projeto de desenvolvimento. O estudo e o reconhecimento dos alvos bioquímicos da ação fisiológica das SH adquire um sentido estratégico no uso e manejo da matéria orgânica nos sistemas agroecológicos. Uma agricultura baseada no respeito ao ambiente e em relações sociais justas necessita também de uma base científica para a sua sustentação. A compreensão da bioatividade dos compostos húmicos é uma pequena parte desse mar de conhecimentos que está para ser sistematizado e construído.

c a p í t u l o

11

O uso e manejo da matéria orgânica humificada sob a perspectiva da Agroecologia

Luciano P. Canellas

Jader G. Busato

David J. Caume

A idéia central apresentada neste capítulo, que fecha o ciclo deste estudo, 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 não pode ser desvinculado de fatores e compromissos ideológicos que condicionam uma determinada ação, mesmo que isso possa soar estranho entre os profissionais da técnica agronômica. Tendo em conta a Agroecologia como uma Ciência (ou disciplina científica) e o solo como seu elemento fundamental, na qual o homem se encontra com a natureza e neste ambiente são processados os fluxos de massa e energia estudados no Capítulo 4 busca-se, agora, discutir as inter-relações entre os modos de produção (caracterizado pela dominação social e pelo conjunto de técnicas necessárias para obter um determinado produto agrícola) e os 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, como a qualidade da matéria orgânica é melhorada e quais as consequências desse processo para a emancipação dos agricultores. Para tanto, fundamenta-se, na primeira parte do texto, as bases conceituais dos sistemas Agroecológicos e, numa segunda parte, são mostrados exemplos de reflexos de práticas de manejo do solo que resultam em aumento da qualidade do mesmo. Somente as práticas de manejo isoladas do contexto mais amplo não refletem uma nova opção de produção e sim, a adaptação do modelo tradicional de Agronomia a pressões ecologistas superficiais e reducionistas. Essa crítica aparece também na primeira parte do texto. Procura-se ainda utilizar parâmetros universais para a avaliação das práticas que possam ter, depois de contextualizadas, utilidade para um determinado sistema Agroecológico. Para isso usa-se o conceito de que o aumento de conteúdo de matéria orgânica alcalino solúvel condensada representa, em termos comparativos com as outras frações humificadas solúveis, um aumento teórico do nível de entropia. Isso posto, pode-se dizer também que ao “realizar a síntese abrangente da totalidade da relação do homem com o mundo” pelo viés da Agroecologia é um indicativo que a estrutura dessa relação perpassa pela ideologia. Mesmo mediando todos os processos ecológicos que ocorrem no solo pela 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 debruçar-se sobre questões filosóficas, econômicas e políticas, mesmo que seja difícil ou pouco importante, como sugere a tecnologia agrícola convencional.

Introdução

Uma série de trabalhos anteriores já demonstrou bem as consequências do processo modernizador da agricultura brasileira levada a cabo após o golpe militar de 1964¹.

De acordo com a visão liberal (ainda hegemônica), a chave da superação do atraso e da

¹. Ver, por exemplo, MARTINE, George e GARCIA, Ronaldo Coutinho. *Os impactos sociais da modernização agrícola*. São Paulo, Caetés, 1987.

miséria no campo seria a adoção de tecnologias modernas compatíveis com o tardio avanço industrial no Brasil. Para essa concepção, só a tecnologia é capaz de promover o bem-estar social, uma vez que o aumento da tecnologia é igual à maior produção e, portanto, maior produtividade e rentabilidade. Os adeptos do chamado produtivismo tiveram a ciência e a técnica como suportes nessa empreitada. Os problemas de produção deveriam ser resolvidos com geração de novas e mais tecnologias (adubos mais eficientes, novas sementes, agrotóxicos inteligentes etc) nos laboratórios das Universidades e da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, que não por acaso foi criada em 1972 no auge do período modernizador). As consequências sociais e ambientais desse modelo são, ainda hoje, sentidas dramaticamente. O processo de modernização foi seletivo e excludente, gerando desigualdades sociais com uma envergadura pouco comparável na história moderna. Durante os anos 1960-1980, migraram, do campo para a periferia das grandes cidades, uma quantidade de brasileiros equivalente ao total da então população da Argentina. Os ganhos de produção e produtividade, porém, não foram compatíveis com os recursos investidos. A Figura 11.1 apresenta, já para a década de 1990, o crescimento do consumo de fertilizantes destinados à lavoura de grãos e a produção bruta da mesma (tanto o consumo como a produção medidos em toneladas – Mg). São evidentes as contradições da concepção produtivista que promete que, quantos maiores forem as aplicações de adubos, maiores serão as quantidades produzidas.

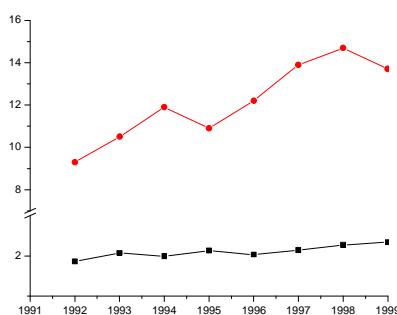


Figura 11.1. Evolução da produção média de grãos no Brasil (■ em Mg ha⁻¹) durante a década de 90 e consumo de fertilizantes (● em milhões de Mg). Fonte: IBGE — Produção Agrícola Municipal (período 1992/99) e Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (1991/99) e ANDA

Além da tragédia social representada pelos milhões de brasileiros miseráveis no campo, o “passivo ambiental” deixado pelo projeto modernizador é alarmante. As áreas de solos degradados no Brasil não representam uma mancha cartográfica, mas uma enorme sombra que paira sobre os futuros brasileiros (e que pode ser observada: Embrapa, 2001).

A crítica ao modelo modernizador da agricultura, implantado nas décadas de 1960-1970 pelos sucessivos governos militares, apoiava-se em uma análise de viés marxista que, se por um lado, apontava para as implicações sociais “dolorosas” do processo de conformação dos “complexos agroindustriais” brasileiros (Graziano da Silva, 1981²), por outro, desconsiderava sua lógica ambiental insustentável e, principalmente, ignorava e desqualificava modelos alternativos de produção agropecuária. Predominava uma abordagem, politicamente crítica, todavia fundada nos mesmos pressupostos epistêmicos do ideário da “revolução verde”: produtivismo, determinismo histórico e economicismo.

² GRAZIANO DA SILVA, José. *A modernização dolorosa: estrutura agrária, fronteira agrícola e trabalhadores rurais no Brasil*. Rio de Janeiro, Zahar, 1981.

A crítica marxista ao “modelo modernizador” questionava as relações de produção engendradas pelo modo de produção capitalista, sem, no entanto, discutir as forças produtivas (a tecnologia) colocadas em ação. Para os marxistas, as forças produtivas estão determinadas de maneira absoluta pelas relações de produção sendo que qualquer transformação nas bases técnicas de produção pressupõe a revolução social. A superação do capitalismo é considerada historicamente necessária porque, supostamente, as relações sociais de produção bloqueariam o pleno desenvolvimento das forças produtivas³.

“... o caminho não é o de negar (cegamente) o papel do progresso técnico no aumento de produtividade e sim o de questionar diretamente o modo de apropriação de seus frutos e o sistema que o sanciona.” (Kageyama & Graziano da Silva, 1983: 221-222⁴).

Não é fortuito que o capitalismo contemporâneo e a experiência do “socialismo real” tenham adotado as mesmas formas de produção agropecuária, ambos ratificaram a crença absoluta na ciência e na tecnologia como promotoras do progresso e mobilizadas como instrumentos fundamentais na edificação de uma agricultura produtivista e destruidora dos recursos naturais.

Nessa perspectiva, o pensamento liberal e sua crítica marxista estão enraizados no mesmo pressuposto histórico de que o desenvolvimento econômico e o bem-estar social dependem da capacidade da agricultura transformar sua base técnica no sentido de incorporar de forma crescente os meios de produção de origem industrial. Ratifica-se um ideário comum de primazia da indústria sobre a agricultura, do paradigma kautskiano da “industrialização da agricultura”⁵ como processo inerente ao desenvolvimento das forças produtivas e, no limite, de viabilização do próprio capitalismo na medida em que constitui a “própria reprodução da Natureza pelo capital”. O progresso tecnológico seria o mecanismo utilizado pelo capital para enfrentar a questão do monopólio da propriedade da terra e os “limites” impostos pela Natureza à racionalidade econômica capitalista: o capital “fabrica a terra” (por meio dos fertilizantes químicos), optimiza a potencialidade produtiva de plantas e animais (melhoramento genético) e visa anular os “elementos nocivos” à produção (pelos agrotóxicos ou “defensivos agrícolas”).

Ambos os enfoques, portanto, representam a tradição iluminista que interpreta a tecnologia unicamente na sua dimensão material, econômica. O pensamento liberal (especialmente em sua vertente neoclássica) encara o desenvolvimento científico-tecnológico como uma esfera totalmente independente das relações sociais, autônoma em relação ao poder, ao capital, às classes sociais. A tecnologia, nesses termos, seria uma espécie de *deus ex-machina* que paira sobre a sociedade e tem a fantástica capacidade de produzir o bem-estar de toda a sociedade. Preso ao que se poderia denominar “determinismo tecnológico”, o pensamento liberal analisa o desenvolvimento científico-tecnológico como algo que se dá num vazio de relações sociais, num território neutro. O pensamento clássico marxista (especialmente em seu viés estruturalista), por sua vez, vincula a tecnologia às relações sociais de produção vigentes em uma determinada sociedade, porém não a entende como instrumento de dominação social; nesse sentido, a tecnologia não consistiria um objeto passível

³ “Em certa fase de seu desenvolvimento, as forças produtivas da sociedade entram em contradição com as relações de produção existentes, ou, o que não é mais que sua expressão jurídica, com as relações de propriedade no seio das quais elas se haviam desenvolvido até então. De formas evolutivas que eram, essas relações convertem-se em entraves. Abre-se, então, uma era de revolução social.” MARX, Karl. *O capital: crítica da economia política (livro 1)*. Rio de Janeiro, Civilização Brasileira, 1971, p. 41.

⁴ KAGEYAMA, Ângela, GRAZIANO DA SILVA, José. Produtividade e emprego na agricultura brasileira. In: BELUZZO, Luiz Gonzaga. *Desenvolvimento capitalista no Brasil*. São Paulo, Brasiliense, 1983.

⁵ A “industrialização da agricultura” implica, do ponto de vista das relações sociais, a superação histórica do modo de produção camponês e a consagração da agricultura capitalista de grande escala como “forma superior de produção”.

de disputa – a luta se daria, exclusivamente, pela apropriação das riquezas produzidas pelo desenvolvimento das forças produtivas. Ou seja, uma perspectiva economicista e evolucionista impede de visualizar os caminhos trilhados pela Ciência e Tecnologia como espaço possível de confronto de interesses dos diferentes grupos e classes sociais.

As propostas de uma “tecnologia alternativa”, ainda que “bem intencionadas”, são consideradas, pelas análises marxistas, como historicamente superadas e supostamente conservadoras, porque advogariam não o “progresso”, mas a reprodução de um campesinato inexoravelmente fadado ao desaparecimento. Assim, para as perspectivas modernizadoras de desenvolvimento agrícola – marxista e liberal – não se justifica a luta social por outro modelo tecnológico, seja porque a tecnologia é “socialmente neutra”, seja porque, em nome do evolucionismo histórico, os agricultores familiares estão condenados a desaparecer (Caume, 1992⁶).

No entanto, no início dos anos 1980, as consequências sociais, econômicas e ecológicas da “modernização conservadora da agricultura brasileira” provocaram uma sensível reorientação da crítica a esse modelo de desenvolvimento agrícola. Os movimentos ecologistas ganharam visibilidade social e política e os chamados “custos” da modernização colocaram em questão as próprias bases técnicas do processo de produção agrícola. Expandiam-se as propostas por uma agricultura “alternativa”, “orgânica”, “ecológica”, “natural”, “biodinâmica”, “apropriada”... alicerçadas em bases técnicas radicalmente distintas daquelas orientadoras do paradigma de “industrialização da agricultura”.

Esses movimentos sociais e ambientalistas, em sua heterogeneidade, muito auxiliaram a complexificar as análises do processo de produção na agropecuária, à medida que criaram as condições de possibilidade para uma discursividade que coloca em questão não apenas os efeitos nocivos da aplicação intensiva de tecnologia (o que a própria crítica marxista já fazia), mas também o caráter multidimensional da Ciência e, consequentemente, da Tecnologia. Ainda que muitos fizessem uma análise maniqueísta e doutrinária da Ciência e da Tecnologia, negando suas potenciais contribuições para a sociedade e advogando um culto apologético e idealizado do passado camponês e de sua suposta idílica relação com a Natureza, ajudaram a construir um novo olhar sobre os processos de produção de Ciência e Tecnologia. Voluntária ou involuntariamente, promoveram a politização dos processos de produção, difusão e consumo de tecnologia agropecuária, instituindo-os como espaços de disputa e conflito entre os diferentes grupos e classes sociais que compõem o espaço agrário brasileiro.

Vertentes da crítica ecologista à “modernização conservadora” apontaram para uma crise da perspectiva determinista no avanço da Ciência e da Pesquisa Agropecuária e indicaram que não há um caminho único, inexorável e que o tipo de tecnologia e os fins que se deseja alcançar são histórica e socialmente determinados. Isto é, que a tecnologia é um produto das lutas sociais, dos diferentes interesses que se expressam no conjunto da sociedade, das diferentes capacidades de influência, do poder político. Como afirma Vilma Figueiredo (1989, p. 11⁷):

“o campo de disputa pela satisfação de necessidades variadas é um campo de conflitos, de exercício de poder. É esse o campo da produção, da difusão e do consumo de tecnologias. Não há, nele, uma direção universal e preestabelecida.”

Rompendo com o fatalismo determinista das abordagens neoclássicas e marxistas do

⁶ CAUME, David J. *A construção social de um outro ofício de agricultor: as estratégias tecnológicas de reprodução social do campesinato*. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado em Sociologia/UFRGS, 1992.

⁷ FIGUEIREDO, Vilma. *A produção social da tecnologia*. São Paulo, EPU, 1989.

desenvolvimento agrícola, seus críticos acreditam que não só há possibilidade de viabilização da agricultura familiar nas economias capitalistas contemporâneas, como também a possibilidade da luta pela redefinição do padrão tecnológico hegemônico na agricultura. Nessa perspectiva, a construção da Agroecologia como ciência é componente importante dos objetivos políticos de se combater o processo de marginalização social a que historicamente foi relegada a agricultura familiar no Brasil.

O campo tecnológico e científico é, portanto, um espaço de confrontos: o tipo de ciência e tecnologia gerado e difundido e as necessidades sociais a serem contempladas por esses meios tecnológicos dependem da correlação de forças entre os diferentes grupos e classes sociais interessados⁸. Isso, contudo, não quer dizer que as ofertas tecnológicas sejam determinadas exclusivamente pela dimensão política; o leque de alternativas tecnológicas é amplo, todavia, limitado pelas possibilidades propiciadas pela Ciência, uma vez que, em grande parte, o produto tecnológico é resultado da aplicação de conhecimentos científicos.

A legitimação da Agroecologia como disciplina científica, não apenas como movimento social de reivindicação por um outro modelo de produção agrícola (Almeida, 1998⁹), representa a afirmação de distintos interesses no campo da ciência e pesquisa agropecuária: a busca por uma agricultura ambientalmente sustentável e a reprodução da agricultura familiar como forma social de produção importante em nosso modelo de desenvolvimento agrícola.

O desafio da Agroecologia é edificar novas práticas de produção agrícola que tenham como fundamento uma episteme radicalmente distinta daquela que balizou os “pacotes tecnológicos” da Revolução Verde e do paradigma da “industrialização da agricultura”. Novas práticas, novos conhecimentos calcados numa perspectiva holística e sistêmica do processo de produção agropecuária, na multidisciplinaridade, na preocupação ambiental como premissa, na otimização dos recursos disponíveis na própria unidade de produção (a matéria orgânica, por exemplo), na participação dos agricultores e na valorização de seus saberes empíricos.

A construção de um modelo de desenvolvimento ambientalmente saudável e socialmente justo é uma alternativa histórica e passa, necessariamente, pela reafirmação de novas e outras formas de construção do conhecimento. Esse é o desafio que se coloca aos adeptos da formas agroecológicas de produção na agricultura.

A Agroecologia como ciência – uma perspectiva de geração de novos (e necessários) conhecimentos para o manejo dos solos

Aqui, longe de uma discussão de fôlego sobre a Agroecologia, remete-se a uma conceituação básica para que seja feita a contextualização necessária da importância do manejo do solo nos sistemas Agroecológicos. Assim, de acordo com a síntese de Caporal & Costabeber¹⁰:

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 o agroecossistema.

⁸ As recentes disputas no Governo Lula pela direção da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) entre pesquisadores politicamente vinculados à agricultura familiar e pesquisadores vinculados aos interesses da agricultura patronal expressam com bastante evidência esse espaço de conflitos no processo de geração de pesquisa agropecuária no Brasil.

⁹ ALMEIDA, Jalcione. Da ideologia do progresso à idéia de desenvolvimento (rural) sustentável. In: ALMEIDA, Jalcione, NAVARRO, Zander (orgs.). *Reconstruindo a agricultura*. Porto Alegre, Editora da Universidade/UFRGS, 1998.

¹⁰ Caporal, F.R. & CostaBeber, J.A. Agroecologia: enfoque científico e estratégico. EMATER-RS, Porto Alegre, 2002. 4p.

Tratada como uma Ciência, a Agroecologia deve apresentar, portanto, pressupostos universais para tratar das realidades particulares. O papel da Ciência e das disciplinas científicas não é somente catalogar e descobrir fatos e sim 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. Sua episteme provém de cinco domínios distintos, representados esquematicamente na Figura 11.2.

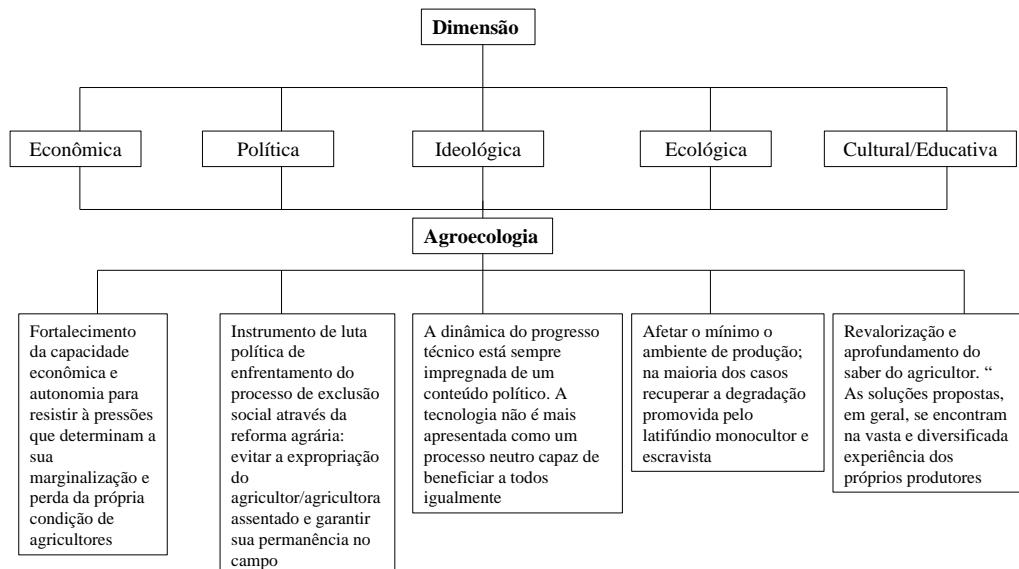


Figura 11.2 Dimensões e bases epistemológicas da Agroecologia. Adaptação de Caume (1992) (que utiliza o termo “Agricultura Alternativa”)

O conhecimento que consiste na apropriação do objeto pelo pensamento, por meio de metodologia apropriada, a obtenção de uma percepção clara, de representação completa, de definição e análise dos fenômenos naturais é o que pode ser definido como conhecimento científico. A Ciência pode, portanto, ser definida como uma representação da realidade, um quadro abstrato, codificado, mas fiel à realidade, porque obtido dentro de regras estritas. O que particulariza a Agroecologia dentro das Ciências Agrárias é que essa realidade é um produto social e não natural, gerando, portanto, uma nova episteme com uma metodologia inovadora e 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 (H_0)¹¹ ou de

¹¹ Por exemplo, para o manejo agroecológico do solo a análise de solo feita num laboratório de rotina não representa o ponto de partida para o manejo da fertilidade. Nessa perspectiva ela informa nada ou muito pouco sobre as potencialidades de seu uso, a capacidade de suportar as distintas relações ecológicas e os processos químicos e biológicos necessários para a ciclagem da matéria orgânica e dos nutrientes.

chegada, o que interessa é o processo decorrente da ação investigadora do cientista. As estratégias de pesquisa adotadas devem representar, portanto, a teoria da Agroecologia.

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 os membros da comunidade e sim do possível choque cultural entre o pesquisador e a comunidade. O produto dessa disputa deve resultar (necessariamente, por convicção teórica) no resgate e na valorização de um conhecimento que precisa evoluir. É possível, apesar de costurado em panos diferentes, um nível de conjunção entre o saber empírico e o saber científico. O saber prático decorrente da atividade de agriculturar não deve ser supervalorizado, pois por si só não garante um grau necessário de conhecimento para superação de determinado problema. Tão pouco o científico que desconsidera o modo de agricultar.

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 na estatística experimental. Os experimentos em Agroecologia expressam o resultado da participação da comunidade, das pessoas envolvidas e da interação com o ambiente de produção. A Agroecologia é uma ciência eminentemente empírica cujo conhecimento científico depende da observação e da experiência *tida com* (e não sobre) os objetos e fenômenos do mundo real. O fundamento matemático utilizado para descrever as experiências agroecológicas provém da estatística não-paramétrica: componentes principais, hierarquização, análise de grupos etc. A estratégia metodológica para tanto foi bem apresentada por Claro (2001) e constitui as Unidades Experienciais Participativas (UEP) em Agroecologia, que consiste, em outras palavras, no conceito emprestado das ciências sociais chamado estudo de caso. A UEP deve ser estudada de forma holística, de forma mais completa possível, com o objetivo de apreender e descrever a complexidade de um caso concreto. Assim, *através do mergulho profundo e exaustivo em um objeto delimitado* (a UEP no nosso caso), *o estudo de caso possibilita a penetração na realidade social, não conseguida pela análise estatística* (Goldenberg, 2001)

A dedução das propriedades que descrevem os diferentes processos nos sistemas agroecológicos é idealizada como um produto coletivo, oriundo da sistematização da experiência e não da habilidade intelectual de um único investigador. Embora, na prática, tem-se observado, pelo menos nos primeiros momentos, uma imposição do discurso acadêmico.

Os objetos de pesquisa em Agroecologia 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 (e devem) ser confrontadas. O que particulariza a Agroecologia com Ciência é a necessidade de uma maior ênfase ao conhecimento, à análise e à interpretação das complexas relações existentes entre as pessoas, os cultivos, o solo, a água e os animais. Ou seja, mais do que um híbrido entre as ciências naturais e as sociais, a Agroecologia refunda, por necessidade, uma nova metodologia de pesquisa.

Definida, então, como o manejo ecológico dos recursos naturais mediante formas de ação social coletiva que apresentam alternativas à atual crise civilizatória¹², ela se insere em uma

¹² Sevilla-Guzman, E. La agroecología como estrategia de transformación social. Texto disponível na rede mundial de computadores www.agroeco.org.br (acesso em set.2005)

cosmovisão (universalidade), e os problemas levantados por ela são gerados a partir do enfoque indissociável da *práxis*¹³ do pesquisador.

As técnicas e os conhecimentos são vinculados claramente a uma perspectiva ideológica. Nesse sentido, Sevilla-Guzmán¹⁴ aponta que o enfoque agroecológico pode se credenciar como uma resposta à lógica do neoliberalismo e à 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 articulam 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 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.

Não é à toa que o principal movimento social rural latinoamericano (o MST) adota a Agroecologia como sua base de ação técnica, uma vez que é possível inserir no pensamento Agroecológico um modo de produção agropecuária, capaz de superar o modo de produção capitalista, incorporando na sua base filosófica, conceitos relacionados à recuperação e à manutenção do ambiente de produção pela geração de novas tecnologias de produção. E essas novas e necessárias tecnologias de produção não são (e não tem porque ser) sinônimos de atraso, de baixo nível tecnológico. Genro-Filho¹⁵ (1981) fez uma crítica da negação da tecnologia por alguns movimentos verdes. A nova visão de desenvolvimento não pode ser

inspiradas na modorrenta aldeia da idade média nem na insípida comunidade rural do passado e sim no mundo moderno mesmo, através dos computadores, dos meios eletrônicos de comunicação, do aumento progressivo do tempo livre, que hoje servem para nos oprimir, controlar e imbecilizar, que devemos procurar a base objetiva para um futuro que seja melhor e possível.”

Com isso, indica-se que as opções tecnológicas oriundas da Agroecologia não se remetem a uma agricultura do binômio tacape-borduna mas sim com instrumentos tecnológicos necessários para a superação da crise capitalista de produção, quaisquer que sejam eles, eletrônicos, mecânicos, biológicos. As técnicas espectroscópicas e as modernas formas de biologia molecular podem elucidar mecanismos de interação da matéria orgânica com os genes das plantas, como visto no capítulo 10. Porém, o uso de tecnologias não irá fornecer *per si* combustível para superação do modo de produção.

Um raro (e belo) exemplo desse entendimento é a produção agrícola brasileira. A área agrícola cultivada no Brasil é de cerca 55 milhões ha, de acordo com as estimativas oficiais do Ministério da Agricultura. A evolução da área produzida (em milhões de ha) e da produção de grãos (em Mg ha⁻¹) na década de 90, para as diferentes regiões do Brasil, é mostrada na Tabela 11.1.

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, www.ibge.gov.br/indicadores sociais), o Brasil produziu, em média, 75 milhões de toneladas de grãos por ano nesse período. Esse número é quatro vezes menor do que a média da produção em países com condições climáticas e de solo iguais ou piores, como Tailândia ou Costa Rica (FAO, www.incra.gov.br/fao).

¹³ Utiliza-se aqui a *práxis* no sentido marxiano: a indissociabilidade entre a teoria e a prática.

¹⁴ Sevilla-Guzmán, E. obra cit.

¹⁵ Genro-Filho, A. Ecologismo e Marxismo: dois pesos e duas medidas. Porto Alegre, Tche, 1986. p.49-80.

A área total foi reduzida em 3,6%, com um aumento médio de 10,5% na produção de grãos. A população no período aumentou em 34%. Mas o mais impressionante é que o consumo médio de fertilizantes nesse período aumentou de 9,3 milhões de toneladas para 13,7 um acréscimo de cerca de 50% (veja a Figura 11.1). Porém, a renda média de todos os agricultores no período diminuiu 49%. Ou seja, o acréscimo significativo do consumo de fertilizantes (exemplo de “alta tecnologia”) não foi acompanhado pelo aumento de produção e, pelo contrário, foi acompanhado pela queda na renda do agricultor.

O levantamento do Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (www.ipea.gov.br\radar brasil 2005), informa que 22 milhões de pessoas passam fome no País e outros 54 milhões alimentam-se de forma precária. Desses 22 milhões que passam fome, a metade vive no meio rural. No estudo, foram consideradas pobres as famílias com renda domiciliar *per capita* inferior a meio salário-mínimo por mês, o equivalente a R\$ 120 em 2003. Na mesma linha, 21,9 milhões eram considerados indigentes por viverem com menos de um quarto de salário-mínimo por mês, R\$ 60 à época. Se alguns elos da cadeia do agronegócio andam bem das pernas, como o voltado para a comercialização de insumos e de produtos no mercado externo e exportação, a maior parte dos produtores amarga seguidos prejuízos. Há um componente ideológico na formulação *agricultura moderna = eficiência econômica, eficiência técnica, produtividade, conhecimento científico, superação da fome*. Já a *agricultura familiar* é taxada como *improdutiva, indolente, parasitária e com falta de conhecimentos*.

Tabela 11.1. Área cultivada em milhões de hectares (ha) e produção de grãos em milhões de toneladas (Mg) nas diferentes regiões do Brasil durante a década de 90.

ano	nordeste		norte		sul		sudeste		centro-oeste	
	ha	Mg	ha	Mg	ha	Mg	ha	Mg	ha	Mg
1992	7.0	3.5	0.9	1.1	15.3	35.6	6.2	12.5	6.7	14.6
1993	4.5	3.3	1.1	1.4	15.0	36.5	5.8	12.3	6.8	15.1
1994	8.2	7.1	1.2	1.6	14.7	36.0	5.9	11.9	7.7	18.3
1995	7.9	6.6	1.2	1.7	14.6	39.5	5.6	12.5	7.8	18.8
1996	7.8	6.7	1.3	1.8	14.5	34.7	5.1	11.2	7.0	18.2
1997	7.8	6.6	1.3	1.8	14.4	36.2	5.0	12.4	7.2	19.3
1998	4.4	3.8	1.4	2.0	14.3	36.7	4.7	11.3	7.9	20.5
1999	5.8	6.2	1.5	2.3	14.1	37.1	4.9	11.9	8.5	24.0

Fonte: IBGE — *Produção Agrícola Municipal* (período 1973/96) e *Levantamento Sistemático da Produção Agrícola* (1997/99).

As pequenas propriedades empregam 77% das pessoas, ocupadas na atividade agrícola, com 13 milhões de trabalhadores familiares e mais de 1 milhão de assalariados, e detêm 52% de toda a frota nacional de tratores. Em todos os produtos agrícolas, com exceção da cana-de-açúcar e da laranja, a pequena propriedade tem índices de produção superiores aos das grandes propriedades. Apenas alguns exemplos: na produção de leite, os pequenos respondem com 71,5% do total e as grandes propriedades com 1,9%; na de suínos, os trabalhadores rurais respondem por 87,1% e os latifúndios com apenas 1,7%; na produção de café, a pequena propriedade corresponde a 70% da produção.

Muito embora a produção de grãos de uma forma geral tenha aumentado consideravelmente, a produtividade caiu. Avançou sobre as novas fronteiras agrícolas. E mais, os custos de produção aumentaram. Segundo o BNDES, o custo de produção relativo aos insumos empregados na lavoura

da soja, por exemplo, na década de 1990, foi de 24% para sementes, 16% para herbicidas, 7% para inseticidas e 51% para os corretivos e fertilizantes. Ou de outra forma, mais de 50% do custo é atribuído aos insumos utilizados na nutrição mineral das plantas. E com um agravante: a soja no Brasil não utiliza adubação nitrogenada.

O entendimento do senso comum de que tecnologia agrícola avançada é representada pela monocultura- adubos químicos-agrotóxicos-mecanização agrícola precisa de uma *reformulação de ordem simbólica*. Quem sabe, passar a associar adubação orgânica com produtos naturais estimuladores do metabolismo vegetal – equilíbrio ecológico entre os organismos e convívio com pragas e doenças – automação dos processos – justiça social e renda. A argumentação, nesse ponto a favor da promoção da agricultura familiar, mostra que essa tese está longe de ser uma ideologia em defesa dos pobres do campo, cujo conteúdo seria anti-histórico e antieconômico. Por incrível que pareça, nas sociedades onde predominou o padrão de desenvolvimento baseado na agricultura familiar (Europa e Estados Unidos) enquadrada por políticas comerciais, financeiras e de fomento foram criadas condições para maior geração de riqueza¹⁶.

O fracasso das políticas públicas na Questão Agrária e nas práticas agrícolas inadequadas preconizadas pela modernização 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. A lógica da produção agrícola é a exploração ao máximo dos recursos naturais, incluindo a exploração acima da capacidade ecológica do meio. 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 vários fatores relacionados ao solo.

O saudoso Prof. Altir Corrêa, da antiga Escola Nacional de Agricultura, hoje Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, alertava, nas suas famosas colunas, que a estimativa mais conservadora indica que o Brasil perde, anualmente, por efeito da erosão hídrica, cerca de 2 a 2,5 bilhões de toneladas de solo¹⁷. Ou seja, para cada kg de grão produzido, 10 kg de terras são perdidos por erosão (Sparovek e Valques Filho, 1994).

A tendência geral do sistema convencional é produzir degradando o cerne da fertilidade do solo, a sua matéria orgânica, responsável pelo condicionamento de todas as propriedades físicas, químicas e biológicas. O aspecto chave do modelo de desenvolvimento rural sustentável é a compreensão do papel do solo e do seu uso. Não como nas décadas entre 1960-1980, quando o solo foi considerado um substrato físico para o crescimento das plantas; nem como na década de 1990, considerado um “organismo vivo”, sob a ótica biológica dos Departamentos de Solos; e sim, um elo entre as relações sociais decorrentes da produção e a emancipação dos agricultores, objeto típico da ação agroecológica.

Na dinâmica do trabalho agroecológico, três perguntas-chave devem ser realizadas, de acordo com Sevilla- Guzmán:

1. Como deve ser levado a cabo o manejo dos recursos naturais para chegarmos a agroecossistemas sustentáveis?
2. Por que 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: primeiro relacionado ao desenho tecnológico/agronômico do agroecossistema (a intervenção); o segundo num nível metodológico; e o terceiro, epistemológico.

¹⁶ Mazoyer & Roudart, 1997. *Histoire des Agricultures du Monde; du néolithique à la crise contemporaine*. Ed Seuil.

¹⁷ Uma parte das crônicas e artigos do Prof. Altir continua disponível no sítio eletrônico do Centro Nacional de Pesquisa em Solos da EMBRAPA (www.cnps.embrapa.br)

Assumindo essas premissas como necessárias, qualquer opção ou desenho agroecológico deve levar em conta o conteúdo e a qualidade da matéria orgânica do solo, uma vez que esta depende intimamente de fatores ecológicos abióticos (temperatura, pluviosidade, relevo, material geológico de origem do solo), fatores bióticos (macro e microrganismos) e, principalmente, sociais (o modo de produção).

Dessa forma, quando Altieri¹⁸ indica os processos agroecológicos que devem ser otimizados pelas novas tecnologias, todos têm reflexo direto e indireto sobre a matéria orgânica do solo (Tabela 11.2). As tecnologias desenvolvidas para o processo de produção sustentada têm, como aspecto central o fortalecimento da organização política e social das comunidades de agricultores, pela valorização de seus conhecimentos sobre a natureza e da sua cultura de modo geral. Isso implica, para o ambiente de produção, o manejo da matéria orgânica do solo. Essa relação íntima e complexa é denominada aqui esfera de influência da matéria orgânica sobre as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, bem como, o reflexo do modo de produção utilizado.

Tabela 11.2. Processos agroecológicos otimizados pelo uso de tecnologias agroecológicas

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

Simbolicamente, a terra deixa de ser um substrato físico no qual são depositados plantas e outros insumos necessários para a produção agrícola para ser, como afirma Caume (1992) *o momento primordial da natureza e do homem.*

A terra não se limita à produção de mercadorias, mas também envolve laços emocionais, transcedentais e espirituais. A terra é o lugar da vida. Um local de conexão cósmica profunda, pois à exceção do hidrogênio, todos os átomos que compõem os minerais e a matéria orgânica foram fabricados em estrelas vermelhas gigantes há milhares de anos-luz no espaço e a bilhões de anos no tempo. A matéria estelar circula entre os diversos compartimentos da terra, carregando consigo o espírito (da palavra latina que significa respirar o ar, logo, a matéria) capaz de levar a emoção diante da expressão imediata dessa conjunção entre animais, minerais, plantas, matéria cósmica e pensamento, contido nos fluxos de massa e energia da matéria orgânica ou do húmus.

Para Marx¹⁹,

“cada progresso da agricultura capitalista é um progresso não somente na arte de explorar o trabalhador, mas também na arte de depenar 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”.

¹⁸ Altieri, M. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 93: 1–24, 2002.

¹⁹ Marx, K. *O Capital*. Livro I, última seção do capítulo XV. Civilização Brasileira, 1974.

As fontes duradouras da fertilidade do solo provêm da ação da **Humosfera** que pode unificar as quatro principais dimensões da Agroecologia vistas anteriormente.

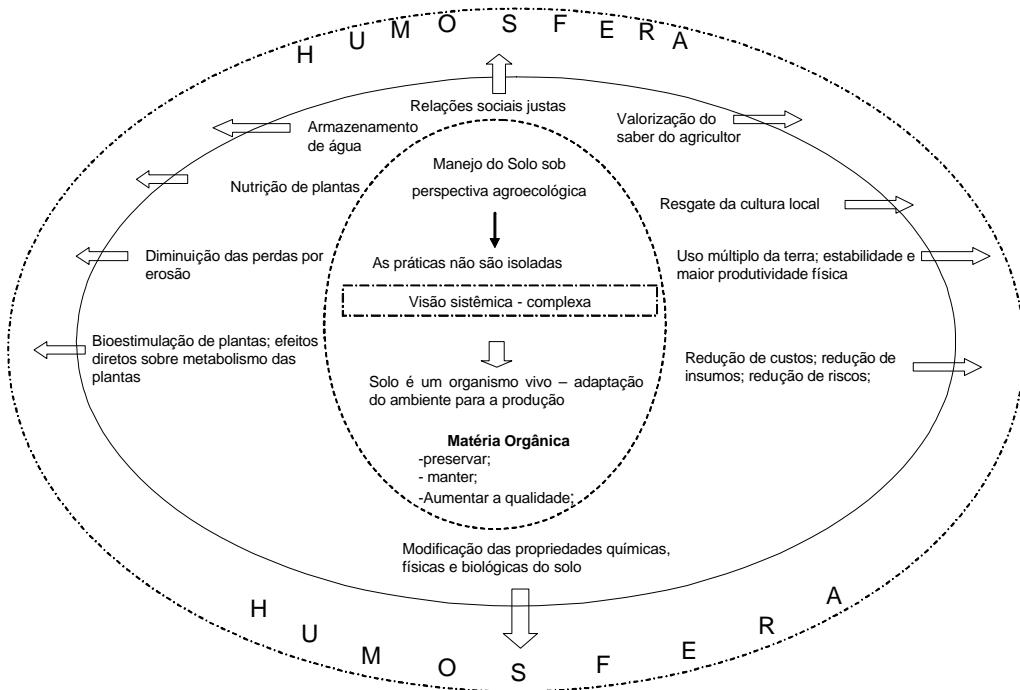


Figura 11.3. A humosfera e sua ação

A metodologia de análise de ação da esfera de influência da matéria orgânica sob essa perspectiva ainda está para ser concluída, uma vez que são misturados aspectos particulares de várias áreas do conhecimento (Figura 11.3). Isso não impede, no entanto, que se proponha hoje algo mais concreto. Utilizar somente um indicador, um parâmetro para avaliar a humosfera é a própria negação conceitual desta. Numa *Escolha de Sofia* em relação ao recurso solo e seu manejo a limitação ao uso de um indicador é difícil mas não impossível. Assumem-se os riscos dessa opção. Sob uma ótica universalista, indica-se a ubiquidade das substâncias húmidas. 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 a rápida decomposição dos resíduos orgânicos que chegam ao solo pelos micro e macrorganismos, pela síntese e ressíntese 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 microrganismos) e pela ação humana e suas práticas sociais. 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 ocorreriam naturalmente, a fim de artificializar um sistema, rompendo um equilíbrio prévio. Para sustentação dessa simplificação, são necessários aportes maciços de massa e energia, implicando a 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, oriundos 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 à diminuição da quantidade de matéria orgânica e à redução da sua qualidade. Se a dinâmica do processo de humificação é alterado devido ao modo de produção e suas frações que são, por definição, quimicamente estáveis, pode-se indicar que essa alteração corresponde a um indicador do modo de produção desenvolvido no agrossistema.

E mais, como observado no Capítulo 4, 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) representa a formação de um sistema de substâncias termodinamicamente mais estáveis do que os ácidos fúlvicos, isto significa que ocorre um aumento teórico da entropia, uma vez que as ligações de estabilização de suas unidades estruturais (agregados) do arranjo supraestrutural de Piccolo (2002), ou as micelas de Wershaw (1993) e, ainda, uma macromolécula mais heterogênea e complexa do que os ácidos fúlvicos representam um aumento do número de microssítios de interações fracas, de natureza predominantemente hidrofóbica. Em relação aos ácidos fúlvicos, os ácidos húmicos representam, então, sistemas químicos mais estáveis.

As implicações ecológicas regidas por fundamentos universais são a base da observação empírica de que os solos naturalmente mais férteis têm uma relação ácidos húmicos/ácidos fúlvicos maior do que os de menor fertilidade natural. Movimentos de agricultura que providenciem acréscimos relativos nos valores da AH/AF refletirão em melhorias na qualidade da matéria orgânica. Como a matéria orgânica é um reflexo da história social e ecológica do uso e da formação do solo, encerra-se um ciclo indicador comum.

Segue-se uma rápida análise das principais práticas de conservação e recuperação do solo e seus efeitos sobre o conteúdo e a qualidade da matéria orgânica. A contextualização dessas práticas, sob a perspectiva da Agroecologia, não só é imperativa, como também deve ser observada pelo leitor. Sem isso, obtém-se um copia/cola (copy/save) de tecnologias, sem atender às três questões-chave levantadas por Sevilla-Guzman, na adoção das opções de tecnologias geradas pela Agroecologia.

Humosfera – um aspecto-chave para a Agroecologia

O solo é a base de todo o processo produtivo do planeta. Trata-se de um componente importante e bem organizado da natureza, ajustado a múltiplas funções de um equilíbrio dinâmico (Andrade, 2001). Sua composição é variada e dependente de fatores e processos de formação (ecológicos), bem como do manejo e utilização a que é submetido (sociais).

Nas áreas de uso intenso do solo, ao contrário de sistemas naturais, a intervenção do homem ocasiona maior exportação de produtos primários que são necessários para a manutenção do sistema, novos aportes de massa e energia na forma de insumos (fertilizantes, pesticidas, etc.). Como a qualidade do solo envolve sua avaliação correlacionando-a com o seu uso específico, tornou-se imprescindível o monitoramento desse recurso para que modificações no seu manejo possam ser sugeridas com o objetivo de reduzir sua degradação. A pontualização desse monitoramento tornou-se a ferramenta da agricultura moderna para intervir no sistema. Assim, se uma planta necessita de nutrientes, analisa-se a solução do solo e, dependendo dos níveis encontrados, recomenda-se ou não a adição desse nutriente na forma de adubo químico solúvel.

As consequências dessa visão reducionista foram comentadas na primeira parte deste texto.

Embora não haja ainda um sistema de avaliação que seja aceito sem contestação, é possível eleger um conjunto de variáveis químicas, físicas e biológicas que, acompanhadas ao longo do tempo, seja capaz de detectar alterações da qualidade do solo em função do manejo. Como nas regiões tropicais a atuação dos fatores e processos de formação condicionou, de forma geral, a presença de solos em avançado estádio de intemperismo, todo o sistema é dependente e influenciado pela matéria orgânica do solo (MOS). É consenso entre os pesquisadores que este componente pode ser usado como indicador da qualidade de solo. Isso se deve ao fato da MOS ser sensível às práticas de manejo adotadas (o itinerário tecnológico de Caume, 1992), assumindo o papel de maior determinante ecológico na sustentabilidade da atividade agrícola (Stevenson, 1994). Porém, como não existe um nível crítico de MOS, nem um comportamento que possa ser utilizado isoladamente para refletir a qualidade do ambiente solo, o uso da matéria orgânica como indicador não adquire *sentido* para a “agricultura moderna”, pois seu manejo não pode ser descontextualizado da atividade do agricultor e do modo de se fazer agricultura. De outra forma, apesar de muitos trabalhos terem sido realizados correlacionando parâmetros químicos de solo, produtividade das culturas e conteúdo de matéria orgânica, ainda não foi possível “recomendar” ou estabelecer um pacote tecnológico para recomposição dos teores ou mesmo de adubação orgânica uma vez que o manejo depende basicamente do agricultor (aspectos sociais) e das condições ecológicas da sua atividade, determinando uma análise complexa, porém, bastante particular, quase caso a caso, tornando pouco fecundo qualquer tipo de generalização. Como é o agricultor que “entende” sua propriedade e é ele que diariamente entra em contato com as forças da natureza que comandam a dinâmica dos compostos orgânicos, um determinado manejo de matéria orgânica pode ou não ter resultado em função dessa estranha conjunção (para o técnico): a experiência do agricultor e a previsão científica.

Apesar dessas dificuldades, é possível estabelecer um guia para o pessoal técnico que atua no manejo dos solos sob a perspectiva Agroecológica, que sirva como referencial de qualidade da matéria orgânica. Até que se adquira experiência suficiente, uma análise de laboratório (tão valorizada pelas técnicas agronômicas) pode reforçar as decisões tomadas pelo novo “técnico” e legitimar a visão de agricultura proposta pela Agroecologia. Assim, o uso da MOS, como indicador da qualidade do solo, adquire um caráter de legitimação de uma prática discursiva baseada na premissa de que a fração humificada da matéria orgânica é um marcador químico estável da história do solo (sofre influência dos fatores de formação do solo, como: tempo, material de origem, clima e ação antrópica) (Canellas *et al.*, 2004). A predominância de uma ou outra fração indica o estádio de um processo ecológico global, mas que, com certo cuidado, pode ser particularizado. Ao percorrer-se (e acompanhar-se), o caminho das diversas frações, durante vários estádios da agricultura, pode-se obter (do itinerário das frações humificadas) um mapa dos fluxos de massa e energia no solo e, pelo menos de certo modo, relacioná-los com as opções tecnológicas adotadas num determinado modo de agricultura. O norte dessa cartografia deve ser a superação da pobreza no campo e a adoção ao ofício de agricultor baseado, nas dimensões agroecológicas (Figura 11.2).

O primeiro passo para a atividade agrícola é o de cultivar o solo. Para isso, derruba-se a vegetação original. A substituição de sistemas florestais naturais por cultivos agrícolas altera o conteúdo e a qualidade de matéria orgânica, bem como a distribuição das frações humificadas do solo (Borges & Kiehl, 1996; Bayer *et al.*, 2002; Spaccini *et al.*, 2005; Schnitzer *et al.*, 2005). A exposição do solo, provocada pela remoção da cobertura original, acelera a ação dos agentes erosivos (água, vento). O aumento da aeração do solo, promovida pelo uso de implementos, pode estimular a decomposição biológica e reduzir o conteúdo de C total. Além disso, a remoção de partes das plantas, pela colheita ou queima do resíduo vegetal, diminui a ciclagem de nutrientes,

com tendência à redução do C do solo. A intensidade dessa transformação está relacionada à forma com que os sistemas agrícolas são manejados.

A avaliação qualitativa da MOS pode ser realizada mediante a distribuição do carbono em frações separadas quimicamente (Dabin, 1981). Com base na solubilidade em soluções ácidas e alcalinas, podem ser obtidos ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e huminas. Os ácidos húmicos compõem uma mistura heterogênea de moléculas com grande variação de massa molecular, que representam, macroscopicamente, um arranjo supramolecular, unido por interações eletrostáticas, pontes de hidrogênio e, principalmente, interações hidrofóbicas fracas (Piccolo, 2002). Esse arranjo em pequenos agregados forma um aglomerado húmico, que, por sua vez, pode colapsar em função das condições da solução (e.g., pH baixo e força iônica elevada promovem a floculação da fração de ácidos húmicos). Já nos ácidos fúlvicos, as pequenas unidades moleculares são tão carregadas eletricamente que afastam a possibilidade de um arranjo supra-estrutural desenvolvido, não permitindo, portanto, a sua floculação com a alteração das condições do meio. Os ácidos fúlvicos apresentam conteúdo elevado de grupos carboxílicos e fenólicos e, com isso, uma capacidade de troca de cátions (CTC) muito maior quando comparada à dos ácidos húmicos. Essa instabilidade química provocada pela elevada relação carga/massa acentua a reatividade da fração fúlvica, tornando-a uma fração ativa nos processos de hidrólise de minerais e no transporte de íons, pela formação de complexos solúveis entre o ligante orgânico e os íons metálicos, protagonizando os processos de intemperismo e de formação dos solos altamente intemperizados. Portanto, e de acordo com a termoquímica (como visto no capítulo 4), a fração de ácidos fúlvicos é dotada, teoricamente, de um conteúdo menor de entropia (as dificuldades dos cálculos foram expostas no capítulo 4). Nos solos intemperizados, a predominância dos ácidos fúlvicos pode ser explicada pela rapidez de transformação dos resíduos orgânicos e pela complexação dessas frações pelos óxidos de Fe e Al, o que resulta em maior preservação e proteção dessas moléculas ao ataque microbiano (Mendonça & Rowell, 1994). A longo prazo, a maior prevalência dos ácidos fúlvicos pode resultar em perdas substanciais de matéria orgânica via água percolada e em ambiente de solo menos favorável à atividade microbiana, com concomitante redução da fertilidade do solo (Silva *et al.*, 2000). A quantificação das substâncias húmicas presentes no solo pode, então, ganhar importância, uma vez que o material húmico indica a direção de um processo ecológico (previsão termodinâmica) além de apresentar cargas elétricas, radicais livres e uma miríade de grupamentos funcionais que por sua vez, participam das principais reações do solo: complexação, hidrólise, redox e troca (Canellas *et al.*, 1999; Rivero *et al.*, 2004).

Essa interpretação permite utilizar as frações humificadas como indicador da qualidade da MOS. Mais especificamente, a relação entre o C na fração ácidos húmicos e o C nos ácidos fúlvicos ($C_{AH/AF}$) pode ser utilizada como um índice ou relação de humificação (Kononova, 1982; Pizauro Jr & Melo, 1995; Stevenson, 1994). Enquanto os solos naturalmente férteis de climas temperados possuem valores de $C_{AH/AF}$ maiores que a unidade (Kononova, 1982), os solos submetidos ao clima tropical, normalmente ácidos e pobres em bases apresentam valores dessa relação inferiores a 1 (Canellas *et al.*, 2000).

As mudanças no conteúdo de C das frações humificadas, além das mudanças estruturais dos ácidos húmicos, podem servir de indicadores na avaliação do impacto do manejo utilizado nas áreas de produção agrícola. Modificações provocadas pelo uso do solo sobre as características das substâncias humificadas já foram retratadas em diferentes condições. Entretanto, poucos são os trabalhos que têm abordado os efeitos de manejos Agroecológicos sobre as propriedades da MOS.

A matéria orgânica em sistemas agroecológicos

O solo é mais do que o receptáculo final dos resíduos orgânicos de origem vegetal, animal e dos produtos das transformações destes (Siqueira & Moreira, 2001). É o momento primordial do encontro do homem com a natureza, como exposto anteriormente. É o local onde se processam as trocas de matéria e energia com o meio, alcançando um equilíbrio entre ganho e perda de matéria e energia. É sobre ele e nele que se processam as relações do agricultor com a natureza.

Nos trópicos, a introdução de sistemas agrícolas em áreas com vegetação nativa resulta, geralmente, numa rápida perda do carbono orgânico (Scholes & Breemen, 1997), implicando na degradação da qualidade do solo. Algumas atividades como o revolvimento constante do solo, a retirada dos restos culturais e a utilização de uma ou de poucas espécies vegetais na área de cultivo podem afetar tanto a composição quanto a quantidade do material orgânico depositado.

Embora o estudo sobre as frações humificadas do solo tenha se intensificado nos últimos anos, poucos trabalhos buscaram avaliar o efeito da substituição de áreas florestais por cultivos agrícolas. Spaccini *et al.* (2005) observaram um decréscimo progressivo no conteúdo das frações humificadas a partir da substituição de florestas por cultivos. Esse decréscimo pode ser atribuído à oxidação biológica do material orgânico, previamente protegido nos agregados do solo e que são destruídos pelo uso de implementos. A atividade agrícola afeta principalmente o conteúdo relativo de ácidos húmicos e, em menor proporção, de ácidos fúlvicos e huminas. Como os ácidos húmicos participam da maioria das reações que ocorrem no solo, favorecendo inclusive a agregação e a estabilidade de agregados pela formação de complexos organominerais (Oades, 1984), a redução da sua concentração pode afetar de forma considerável as propriedades do solo.

Ainda que a quantificação da MOS seja um procedimento simples e rotineiramente realizado em laboratórios de fertilidade do solo, a análise de seus resultados requer uma outra racionalidade diferente da normalmente encontrada nesses recintos. Avaliar a qualidade da matéria orgânica requer equipamentos e técnicas sofisticadas e profissionais altamente especializados, o que representa, de certa forma, um limite para a Agroecologia que disputa esse espaço na produção e geração de conhecimentos.

Práticas de manejo que tendem a favorecer o compartimento orgânico do solo devem ser exaustivamente avaliadas e difundidas. Os resultados de algumas dessas práticas, de uso comum em sistemas agroecológicos, serão brevemente discutidos neste capítulo e, embora a análise de um ou outro aspecto de forma isolada possa não ser a melhor forma de avaliação poderão, de outra forma, facilitar a compreensão do sistema em sua totalidade.

Adubação orgânica

A observação de os estercos dos animais conterem o alimento da vida remete ao período aristoteliano: observando o viço das videiras crescidas em áreas estrumadas, Aristóteles formulou que as plantas tinham pequenos subintestinos que se alimentam dos produtos não utilizados dos animais. Porém, é anterior a esse período a observação empírica de que as terras escuras eram mais férteis. O processo civilizatório ocorreu sobre esses sítios. Portanto, não é surpresa encontrar, na agricultura familiar, o esterco curtido (composto) dos animais como a principal fonte de adubação da terra. O processo modernizador tratou de adubar a planta.

No sistema solo, o processo de fornecimento de nutrientes pela adubação orgânica é distinto

daqueles em que os adubos industriais são empregados. Na adubação convencional, são empregados compostos de alta solubilidade e concentração. As formulações e as quantidades de adubos a serem utilizadas são desenvolvidas, buscando fornecer somente o que as plantas necessitam para produzir. O solo é tratado simplesmente como um substrato produtivo e não como um ambiente complexo e dinâmico, onde ocorrem milhares de reações. Como os solos tropicais são, em sua maioria, altamente intemperizados e alguns eletropositivos, grande parte dos fertilizantes inorgânicos aplicados está ligado fortemente aos constituintes minerais ou se perde pela lixiviação. Isto ocorre porque, para alguns elementos, como o fósforo os solos, podem ser drenos mais fortes do que as plantas. Os nutrientes perdidos por lixiviação e pela erosão, provocada pelo constante revolvimento do solo, são potencialmente poluidores e podem provocar a eutrofização dos cursos d'água. Este fenômeno consiste no enriquecimento das águas em nutrientes, gerando o crescimento excessivo de algas e diminuindo a concentração de oxigênio. Além dos impactos ao ambiente, a adubação industrial cria um vínculo entre produtores e empresas, geralmente transnacionais, que possuem, como único e exclusivo objetivo, o lucro.

Nos modelos de adubação orgânica, a dinâmica é diferente. Se, na utilização dos adubos industriais, o objetivo é suprir as plantas, a adubação orgânica busca o equilíbrio entre os diferentes constituintes do solo. A disponibilização dos nutrientes contidos nos compostos e resíduos é lenta, o que permite a redução das perdas. Além disso, observa-se o aumento da população de minhocas, insetos, fungos e bactérias benéficas ao solo. Esses organismos vivem associados às raízes e podem ser úteis às plantas mediante processos simbióticos ou mesmo pela mineralização dos resíduos. Outro fato que merece destaque é a melhoria das propriedades físicas do solo, permitindo um melhor desenvolvimento radicular e consequentemente em melhor desenvolvimento vegetal.

Uma das formas de adubação orgânica mais empregada é a aplicação de compostos de origem animal e vegetal. A compostagem é um processo natural de decomposição dos resíduos de diferentes origens, que é mediado por uma infinidade de organismos. Tem por objetivo acelerar a estabilização da matéria orgânica, permitindo que o material resultante possa ser utilizado como condicionador de solo e fornecedor de nutrientes. Durante o processo da compostagem, os microrganismos utilizam a matéria orgânica como fonte de energia, nutrientes e carbono. A partir de então, ocorrem diversas reações bioquímicas, formando como resultado final, gás carbônico, calor e material orgânico, normalmente de alta qualidade para o uso agrícola. Restos de cultivos, lixo e lodo de estação de tratamento e dejetos da criação de animais podem ser o material a ser compostado. Os nutrientes presentes no produto final da compostagem são liberados de forma lenta e gradual, diferentemente do que ocorre com os adubos sintéticos.

A utilização de composto de lixo urbano e de lodos da estação de tratamento de esgoto, com finalidade agrícola, pode ser prejudicial se forem encontrados metais pesados e microrganismos patogênicos nas fontes de matéria orgânica ou no produto final, o composto. Como esses elementos estão presentes em pilhas, borrachas, tintas e baterias, lixo hospitalar, há necessidade de uma seleção prévia do material a ser compostado, além de um rigoroso monitoramento.

De maneira geral, o processo de compostagem envolve duas fases distintas. A primeira, denominada bioestabilização, ocorre até aproximadamente 50 dias de compostagem e é caracterizada pela redução progressiva da temperatura do material após atingir um pico aproximado de 70 °C. Organismos patogênicos encontrados nos resíduos urbanos, como salmonelas, são eliminados nesta fase pelo calor gerado pelo próprio processo biológico. A fase seguinte é denominada maturação e dura aproximadamente 30 dias.

O gradiente de estabilização de um composto pode ser avaliado com base na relação C/N na

fase sólida, nos índices de humificação e por meio de análises químicas e espectroscópicas. O entendimento das transformações da matéria orgânica, durante o processo de compostagem, e a avaliação das propriedades do composto estabilizado são essenciais para o sucesso da aplicação (Hsu & Lo, 1999). De maneira geral, o material a ser compostado apresenta menores teores de ácidos húmicos e maiores níveis de ácidos fúlvicos no início do processo. À medida que se avança no processo, são observados aumento nos teores de ácidos húmicos e decréscimo nos de ácidos fúlvicos. Com aproximadamente 30 dias de compostagem, o conteúdo de substâncias húmicas no material orgânico pode passar de 28%, no momento da instalação, para 44%. O conteúdo de ácidos húmicos também aumenta durante o processo de compostagem, passando de 4,6 para 6,0% nos primeiros 18 dias, atingindo 21% no final do processo. O aumento do nível de ácidos húmicos representa o gradiente de humificação e maturidade do composto (Hsu & Lo, 1999).

A aplicação de compostos pode aumentar a produtividade das culturas, a capacidade de troca de cátions, o teor de nutrientes disponíveis e melhorar as características da matéria orgânica humificada. Além do efeito imediato, a aplicação de compostos orgânicos possui efeito residual, podendo beneficiar culturas subseqüentes. Santos *et al.* (2001) estudaram o efeito da aplicação de composto orgânico, na presença e ausência de adubo mineral, sobre o crescimento e produção de alface. A produção de matéria fresca e de matéria seca cresceram linearmente com o incremento das doses de adubo orgânico. Observou-se aumento na produção com doses crescentes de adubo orgânico, o que foi atribuído à melhoria das características químicas e físico-químicas do solo. Houve efeito residual da adubação da hortaliça com composto orgânico, o que não foi verificado na adubação mineral.

A vermicompostagem também é uma prática muito utilizada para acelerar a estabilização da matéria orgânica dos resíduos orgânicos. As minhocas atuam como aceleradores do processo de decomposição. O povoamento das pilhas de composto com as minhocas deve ser realizado com pelo menos 45 dias após iniciado o processo, para evitar as elevadas temperaturas dos momentos iniciais da decomposição. De forma semelhante ao observado na aplicação de compostos os benefícios da aplicação de vermicomposto vão desde o fornecimento de nutrientes até as melhorias de características físicas e biológicas do solo. Yagi *et al.*, (2003) aplicaram doses equivalentes a 0, 14, 28, 56 e 70 ton ha⁻¹ de vermicomposto de esterco bovino e observaram correlação direta entre a dose do fertilizante orgânico e os teores de P, Mg, K, Ca e o aumento linear no conteúdo da MOS. Aumentos significativos no conteúdo de C nas frações humificadas também foram relatados a partir da aplicação de vermicomposto.

Embora a aplicação de resíduos de origem animal diretamente no solo seja uma prática comum dos agricultores localizados próximos das granjas de criação a utilização contínua desses dejetos necessita de uma avaliação constante. A análise do perfil do solo e das águas subterrâneas deve ser feita rotineiramente nessas situações visando evitar níveis que possam comprometer a qualidade desses compartimentos.

Em áreas de produção de suínos, o grande volume produzido de rejeitos necessita de destino adequado. Muitos agricultores utilizam esse material diretamente nas lavouras com a finalidade de fornecimentos de nutrientes. As características químicas de um Argissolo Vermelho-Amarelo, cultivado com diferentes espécies forrageiras, foram modificadas com a adição de esterco líquido de suínos na taxa média equivalente a 800 Kg ha⁻¹ d⁻¹. O uso de doses elevadas desse dejeito *in natura* (entre 20 e 40 m³ ha⁻¹) promove a eutrofização do solo, principalmente em relação ao P, que teve seu conteúdo aumentado em até 6710% (Ceretta *et al.*, 2003).

Durigon *et al.* (2002) avaliaram a aplicação de esterco líquido de suínos em doses que variaram de 0, 20 e 40 m³ ha⁻¹, na produção de matéria seca de pastagem. A aplicação de 20 m³ ha⁻¹, em

intervalos de 45 a 60 dias, foi mais eficiente para o suprimento de nutrientes às plantas. Aos 8,3 meses de experimento, o incremento da produção acumulada de matéria seca foi de 44 e 70% com o uso das doses 20 e 40 m³ ha⁻¹, respectivamente. Com o passar do tempo, o efeito residual foi assumindo maior contribuição, tendo os acréscimos atingido 109 e 155% ao final de 48 meses de experimento.

O esterco bovino talvez seja o material mais costumeiramente utilizado como adubo orgânico. A partir da aplicação de diferentes doses de esterco bovino, Silva *et al.* (2004) observaram a influência desse material sobre o teor de água disponível e sobre a retenção de umidade do solo, com aumentos lineares de tais características. A aplicação do esterco também alterou, de forma linear, o teor de P no solo, aumentou o número de espigas empalhadas comercializáveis e o rendimento de grãos.

Embora o uso de fertilizantes orgânicos tenha respaldo, em grande parte, nos experimentos, o período de condução desses trabalhos, de forma geral, é curto. Isso certamente influencia os resultados obtidos. Como já dito, o solo é um sistema aberto, com troca de energia com o meio. Muitas reações que ocorrem nesse sistema demandam tempo para que possam ser estabelecidas. Mesmo que associar equilíbrio num sistema aberto possa parecer equivocado, o estabelecimento de experimentos de longa duração pode permitir a obtenção de resultados de maior confiabilidade.

Alguns centros de pesquisa conseguiram, entretanto, preservar o manejo orgânico em áreas experimentais a longo prazo. Nardi *et al.* (2004), por exemplo, avaliaram o efeito de 40 anos de aplicação de fertilizantes orgânicos, mineral e mistura de orgânico com mineral sobre as propriedades da MOS. Neste trabalho, o comportamento de algumas propriedades do solo foi acompanhado após receber, durante 12 anos, um tratamento específico. A aplicação de estrume líquido e sólido, de fertilizantes minerais e da associação de fertilizantes orgânico e mineral foi avaliada. Todos os tratamentos alteraram o conteúdo de C orgânico total do solo. O maior conteúdo de carbono orgânico total, entretanto, foi observado no tratamento com aplicação esterco (37654 Kg C ha⁻¹), inferior somente ao tratamento-controle que consistiu em uma área de vegetação sem cultivo comercial. Já nos tratamentos sem a aplicação de material orgânico, o conteúdo foi bastante inferior, na ordem de 21795 Kg C ha⁻¹.

Além dos resíduos de origem animal, a aplicação de matéria orgânica de origem industrial e urbana pode ser também de interesse para a agricultura. A utilização desses materiais é justificada pela necessidade de encontrar um destino apropriado para sua reciclagem (Canellas *et al.*, 2001), evitando-se o risco do armazenamento de grandes quantidades de lixos e dejetos e impacto ocasionado pela emissão desse material nos cursos de água.

A indústria sucro-alcooleira proporciona grande impacto sobre o ambiente, seja pela monocultura de áreas extensas, uso intensivo de agroquímicos, seja pela produção de dejetos. Por exemplo, para cada litro de álcool produzido, são gerados entre 10 a 15 litros de vinhaça. A pressão ambiental condicionou o uso agrícola dos dejetos dessa indústria e uma série de trabalhos foram conduzidos para a sua avaliação. A aplicação de vinhaça durante 35 anos em áreas de cultivo de cana-de-açúcar, na região Norte Fluminense, foi avaliada por Canellas *et al.* (2003) e Busato (2004). Como resultado, observou-se aumento nos teores de macro e micronutrientes, com melhora nos atributos químicos do solo, favorecendo a formação de substâncias alcalino-solúveis mais polimerizadas (Canellas *et al.*, 2003). Nas camadas subsuperficiais (0,20-0,40 m), o valor da relação C_{AH/AF} aumentou de 0,21 na área sem aplicação de vinhaça, para 0,49, na área que recebeu o resíduo (Canellas *et al.*, 2003). A aplicação de vinhaça aumentou em 48% o conteúdo total de P na amostra de 0-0,20 m de profundidade, com aumento do conteúdo de P na fração lável (Busato, 2004). Quando os ácidos húmicos foram avaliados pela espectroscopia de ressonância magnética nuclear

(RMN ^{31}P) observou-se que a adição de vinhaça alterou a participação e a distribuição das formas orgânicas de P, com acúmulo de formas mineralizadas com facilidade.

Outra forma de adubação com resíduos ocorre aplicando composto de lixo urbano. Grande parte dos resíduos domiciliares é composta de matéria orgânica, e quando não tratadas de maneira adequada, torna-se poluidores em potencial, principalmente dos corpos hídricos. O tratamento e a posterior destinação adequada desses materiais são, portanto, uma necessidade da sociedade.

Nos solos ácidos, o composto de lixo urbano promoveu aumentos nos teores de potássio, cálcio e magnésio, em média, de 195%, 200% e 86%, respectivamente; e elevação da CTC em 42% (Abreu Jr *et al.*, 2001). A aplicação anual de cinco doses (0, 37, 74, 148 e 444 Mg ha $^{-1}$) de composto orgânico obtido em uma estação de tratamento de água de Porto Rico, durante um período de três anos, aumentou显著mente a relação $C_{\text{AH}}/C_{\text{AF}}$ das frações humificadas, indicando um aumento no C associado com a fração ácido húmico (Rivero *et al.*, 2004) e, consequentemente, melhoria na qualidade da MOS. Entretanto, Canellas *et al.* (2001) observaram que a aplicação equivalente a 80 ton ha $^{-1}$ de lodo da estação de tratamento de esgoto e composto de lixo urbano no solo promoveu aumento no conteúdo de ácidos fúlvicos. Isto implica na diminuição da relação $C_{\text{AH/AF}}$ na qualidade do húmus do solo. A baixa qualidade do material aplicado foi responsável pelo decréscimo na qualidade da matéria orgânica humificada. A qualidade do material incorporado ao solo limita, portanto, sua utilização em larga escala. O uso agrícola do composto de lixo só pode ser viável do ponto de vista técnico, social e ambiental se suas características químicas não possibilitarem alterações que comprometam a qualidade do solo, das águas e dos produtos resultantes.

Os resultados de pesquisa com adubação orgânica no Brasil, apesar de promissores, são, ainda, escassos e normalmente constituídos por experimentos de curta duração. Além disso, normalmente o ganho social obtido nos processos que utilizam alternativas ecológicas não são contabilizados. A interferência, de maneira menos agressiva, no ambiente, o progresso construtivo e participativo de aprendizagem e a fortificação das associações e cooperativas são créditos de uma ideologia que inclui o homem como parte do sistema de produção. O uso intensivo de estercos, compostos, vermicompostos encontra um obstáculo na quantidade e no volume que deve ser transportado até as lavouras. É um trabalho penoso com gasto elevado de energia e que, dependendo da distância entre a fonte dos estercos e a lavoura a ser adubada, muitas vezes, pode não estar em conformidade com a racionalidade do agricultor familiar (uma autoexploração adicional de sua força de trabalho pode não compensar a adoção de determinada prática), mesmo sabendo-se dos benefícios ou dos prejuízos ao não adotá-la. Parte, portanto, para adoção de outra racionalidade, a produção de matéria orgânica *in situ*, ou seja, no mesmo local da lavoura. A adubação verde é o carro chefe dessa proposta.

Adubação verde

Diferente da agricultura convencional, a Agroecologia preconiza o cultivo de diversas espécies ao mesmo tempo na unidade física de produção. A prática da adubação verde consiste na utilização de plantas estabelecidas em rotação, sucessão ou consórcio com cultivos, sendo os resíduos depositados mantidos em superfície ou incorporados ao solo (Calegari & Vieira, 1999). Esta é uma forma de fornecer elementos essenciais por meio da reciclagem de material orgânico verde, pela utilização de determinadas plantas cultivadas especificamente para essa finalidade. O uso de leguminosas e de plantas de outras famílias, consideradas adubos verde, pode melhorar a

produtividade das culturas, a fertilidade do solo e a qualidade da matéria orgânica (Pizauro Jr & Melo, 1995; Espíndola, 2001; Brito, 2003; Canellas *et al.*, 2004). Muitas espécies de leguminosas possuem a capacidade de formar relações simbióticas com bactérias dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*. Como resultado desta associação ocorre a fixação do N₂ atmosférico. O N atmosférico pode também ser fixado, ou seja, transformado para NH₃, por meio de processos industriais como o de Harber-Bosch. Parte significativa dos fertilizantes nitrogenados usados nos sistemas agrícolas é obtida por estes mecanismos (Siqueira & Moreira, 2001). Entretanto, para que isso ocorra, é necessário que grande quantidade de energia, para romper a ligação tripla que une os átomos de N, seja utilizada, o que encarece sobremaneira o processo. Além disso, a fonte de energia utilizada é de origem fóssil, portanto, limitada.

A dinâmica de decomposição e a liberação dos nutrientes dos resíduos podem variar de acordo com a qualidade da fitomassa produzida pelas espécies de adubos verdes (Brito, 2003). Espécies leguminosas como feijão-de-porco (*Canavalia eusiformes*), amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*), cudzu tropical (*Pueraria phaseoloides*) e siratro (*Macroptilium atropurpureum*) apresentam grande potencial de produção de matéria seca e podem alterar as características químicas do solo, tais como, pH e os teores de alumínio (Espíndola, 2001). Os teores de C e N microbianos, C orgânico e N total e frações de C orgânico do solo podem ser aumentados quando essas plantas são introduzidas nas áreas de cultivo (Duda *et al.*, 2003).

A qualidade da matéria orgânica de um Argissolo Vermelho Amarelo, localizado em Seropédica, RJ, cultivado com diferentes espécies de leguminosas herbáceas perenes: amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*), cudzu tropical (*Pueraria phaseoloides*) e siratro (*Macroptilium atropurpureum*), foi avaliada por Canellas *et al.* (2004). O uso das leguminosas não alterou o conteúdo de C orgânico total do solo, mas promoveu o acúmulo de ácidos húmicos na camada superficial. Apesar do pouco tempo de implementação do experimento (28 meses), os autores verificaram a incorporação significativa de C e N dos resíduos orgânicos das leguminosas na fração ácidos húmicos, conferindo maior grau de condensação quando avaliados pelas análises da composição elementar, espectroscopia de infravermelho e fluorescência.

A incorporação da parte aérea de plantas de sorgo ou lab labe reduziu significativamente os teores de C na fração huminas (Pizauro Jr *et al.*, 1995). Esta fração se caracteriza por ser a menos reativa e que normalmente compõe o maior conteúdo do material humificado dos solos tropicais, independentemente da cobertura e do manejo do solo. Participações superiores a 50% na composição da matéria orgânica humificada são freqüentemente observadas (Borges & Kiehl, 1996; Yagi *et al.*, 2003). A íntima relação entre essa fração e os minerais do solo pode explicar tal fenômeno, tornando exata mais persistente no solo.

Além dos benefícios nas propriedades químicas do solo, diversos autores citam a melhoria das condições físicas e biológicas e proteção do solo contra processos erosivos, quando plantas utilizadas como adubação verde são introduzidas nas áreas de cultura (Primavesi, 1987; Espíndola 2001; Brito, 2003). O melhor aproveitamento espacial, principalmente para aqueles proprietários de pequenas unidades de produção, e a possibilidade da obtenção de mais de um produto na mesma área diminuem a dependência que se cria com os monocultivos. Isso torna a propriedade mais eficiente do ponto de vista econômico e auxilia a diminuição de problemas agronômicos.

Preservação dos restos culturais

A utilização intensa de máquinas e equipamentos agrícolas, como arados e grades, nos solos tropicais tornou-se uma atividade obrigatória após a revolução verde. Para manter os níveis elevados de produtividade, os produtores efetuavam o revolvimento do solo para incorporar corretivos e adubos solúveis. Entretanto, o estoque de matéria orgânica decresce rapidamente após esse revolvimento. A oxidação da matéria orgânica e as perdas ocorridas em função da exposição do solo aos agentes erosivos conduzem ao empobrecimento do mesmo, tanto no aspecto de fertilidade (CTC), quanto nas propriedades físicas e biológicas diretamente correlacionadas à matéria orgânica. A utilização de arados e grades pesadas também favorece o aumento da concentração de ácidos fúlvicos e huminas e a diminuição do conteúdo de ácidos húmicos, o que caracteriza a diminuição da qualidade da matéria orgânica do solo (Cunha *et al.*, 2001).

A manutenção ou recuperação dos teores de matéria orgânica e da capacidade produtiva podem ser alcançadas pela utilização de métodos de preparo com pequeno ou nenhum revolvimento e por sistemas de cultura com alta adição de resíduos vegetais. Isto propicia menores taxas de perda e maiores taxas de adição de matéria orgânica ao sistema solo, aumento da infiltração e do armazenamento de água no solo, acúmulo de nutrientes e aumento da atividade biológica (Bayer & Mielniczuk, 1999).

Ainda que tal procedimento não se enquadre nos moldes dos sistemas agroecológicos, pois utiliza herbicidas como dessecantes foliares para a formação da palha e toda a base da agricultura convencional, como inseticidas, fungicidas, organismos geneticamente modificados, o sistema de plantio direto tradicional é um exemplo de manejo que permite o acúmulo e a manutenção da MOS. Essa prática agrícola se caracteriza pela manutenção da cobertura do solo durante todo o ano, mantendo-se os resíduos vegetais na superfície e o seu revolvimento é realizado somente na linha de semeadura (Vargas *et al.*, 2004). É uma forma de cultivo em que se utiliza o menor revolvimento possível do solo, uma vez que o plantio é feito em pequenos sulcos sob a palhada, utilizando-se maquinário especialmente desenvolvido. A maior conservação do solo, o menor desgaste de equipamentos, a economia de combustível e a melhoria das condições para o desenvolvimento das plantas são benefícios obtidos com essa prática. Associados ao plantio direto, muitos produtores utilizam outros manejos conservacionistas, como a rotação de culturas. Neste caso, há a alternância de cultivos de plantas de famílias diferentes em uma mesma área, de acordo com uma seqüência estabelecida anteriormente. Os diferentes sistemas radiculares de cada cultura, ora fasciculado, ora pivotante, e os níveis diferenciados de exigência para cada planta, contribuem para um melhor ambiente no solo.

Dependendo do sistema de cultura utilizado, o plantio direto pode promover aumento do C total do solo nas camadas superficiais, mesmo em um pequeno período de condução (Bayer *et al.*, 2004). Principalmente nas camadas superficiais, é possível obter-se maior estabilidade estrutural, o que, aliada à manutenção dos resíduos culturais na superfície do solo, têm proporcionado maior proteção contra o impacto direto das gotas de chuva, permitindo reduzir a perda de água por escoamento superficial (Roth & Vieira, 1983).

Os estoques de C na matéria orgânica, associados aos minerais e nas substâncias húmicas aumentaram na ordem de 34% e 38%, respectivamente, no sistema de plantio direto em comparação ao plantio convencional, em um Latossolo Bruno do estado de Santa Catarina (Bayer *et al.*, 2002). O ambiente menos oxidativo formado a partir da deposição da palha favoreceu à preservação das frações lábeis e humificadas da matéria orgânica, contribuindo para a recuperação

da qualidade do solo e do ambiente.

Mesmo que, em algumas situações, o conteúdo de C orgânico total do solo não seja alterado pelo plantio direto, as frações que a compõem podem sofrer mudanças consideráveis. O C solúvel em água (C AS) reflete o estádio inicial de degradação dos resíduos orgânicos incorporados ao solo, nos quais os materiais insolúveis sofrem hidrólise, dando origem a intermediários solúveis em água, como aminoácidos, mono e dissacarídeos. O baixo teor de C SA pode significar dificuldade no ataque inicial de enzimas advindas dos microrganismos ou que o estádio inicial de síntese de enzimas já se encontra avançado (Souza & Melo, 2003). Na avaliação de diferentes sistemas de cultivo, esses autores verificaram que o plantio convencional de milho no verão (aração e gradagem), com pousio no inverno, foi o que apresentou menor valor de C solúvel em água (C SA) na camada de 0,0,5-0,10 m. Já quando o plantio direto de milho foi associado ao cultivo de crotalária (*Crotalaria juncea*) no inverno, houve aumento significante de C SA na mesma camada. O efeito desse sistema sobre C SA pode estar associado ao efeito das raízes e seus exsudados, aumentando o C SA, além da presença dos resíduos da cultura. Somente 10% das substâncias húmicas se encontravam na forma de ácidos fúlvicos, indicando um estádio mais avançado de estabilização do material pela humificação. Os valores de ácidos húmicos foram mais elevados no sistema de plantio direto de milho com pousio no inverno, na camada de 0-0,05 m. Neste tratamento, o efeito observado para ácidos fúlvicos e ácidos húmicos parece indicar maior mineralização da matéria orgânica. A maior relação C/N dos ácidos fúlvicos em relação aos ácidos húmicos mostra maior incorporação de N nas frações mais estáveis da SH do solo.

A concentração de radicais livres semiquinona (RLS) tem sido correlacionada ao grau de humificação da MOS (Schnitzer & Levesque, 1979). Bayer *et al.* (2002b), utilizaram a ressonância paramagnética eletrônica (EPR) para avaliar a concentração de RLS em ácidos húmicos extraídos de um Argissolo Vermelho, sob diferentes sistemas de preparo de solo e de culturas. O sistema que utilizou rotação de culturas associado ao plantio direto, durante nove anos, apresentou menor grau de humificação dos ácidos húmicos quando comparado ao do plantio convencional. O sistema de preparo do solo teve efeito preponderante na diminuição do grau de humificação dos ácidos húmicos.

Avaliação semelhante foi realizada em frações granulométricas da camada superficial (0-25 mm) de um Cambissolo húmico, em Lages (SC), cujos sistemas de preparo do solo foram: preparo convencional, preparo reduzido e plantio direto (Bayer *et al.*, 2003). O plantio direto promoveu diminuição no grau de humificação da matéria orgânica, em comparação aos solos manejados sob preparo reduzido e preparo convencional. A fração granulométrica 20-2 mm apresentou a concentração mais alta de RLS e a menor largura de linha do sinal de EPR, o que confirma o maior grau de humificação da matéria orgânica e/ou a maior interação da matéria orgânica com a fração mineral, comparativamente aos demais tamanhos de partículas.

Outro exemplo de manutenção e preservação da MOS, em cultivos que preservam o material vegetal, é o das lavouras de cana-de-açúcar que não utilizam a queima da palha em pré-colheita. Nas áreas canavieiras, a prática da queima da palhada tem o objetivo de facilitar as operações de corte e carregamento da produção e diminuir a incidência de acidentes de trabalho (Oliveira *et al.*, 1999; Timm, 2002). O impacto do fogo, nas áreas de cultivo de cana, é implacável e resulta em diferentes prejuízos ambientais. A depauperação dos solos, a emissão de C para a atmosfera, a destruição da fauna e os riscos de acidentes em rodovias próximas às áreas de queimadas são exemplos desses prejuízos. Uma grande quantidade de material particulado sólido também é emitida para a atmosfera, ocasionando doenças respiratórias nas comunidades que residem em regiões canavieiras. Além disso, o fogo destrói um ciclo biológico e impede que o material orgânico que

seria depositado no solo seja, transformado, pela ação microbiana em material humificado. É imprescindível que a agricultura atual não utilize o fogo como recurso de rotina. Pesquisadores e agricultores devem desenvolver, em conjunto, modelos apropriados para evitar as queimadas.

O maior aporte de nutrientes obtidos pela preservação da palhada pode contribuir para a diminuição do uso de fertilizantes industriais, beneficiar a atividade microbiana, elevar a capacidade de troca de cátions e permitir maior agregação das partículas do solo (Ripoli & Villanova, 1992; Sparoveck, 1997). Gama (2002), estudando manejo de cultura canavieira com e sem a queima da palha no nordeste do Estado do Paraná, concluiu que o procedimento sem a destruição do material vegetal apresenta vantagens como a redução da capacidade de adsorção de P e o aumento da quantidade de P orgânico total. Resultados semelhantes foram observados por Canellas *et al.* (2003), que estudaram a preservação da palha por longo tempo (55 anos) na região de Campos dos Goytacazes – RJ. Nessa região, os pequenos fornecedores de cana-de-açúcar são responsáveis por quase 60% da cana processada pelas usinas. Uma estratégia de reprodução desses pequenos agricultores que se encontram fortemente subordinados à lógica das Usinas é a preservação da fertilidade natural do solo (com a manutenção da palhada) e a diminuição dos custos de produção, não utilizando agrotóxicos (principalmente herbicidas e inseticidas). Tanto a concentração, quanto as características físicas e químicas dos ácidos húmicos são modificadas quando a palha é deixada no campo. Em amostras coletadas na camada de 0-0,20 m, a relação $C_{AH/AF}$ passou de 0,42, na área onde a cana foi queimada, para 0,94 onde houve a preservação da palha, provando que essa prática melhora a qualidade da MOS pelo aumento do conteúdo de substâncias húmicas alcalino-solúveis (Canellas *et al.*, 2003). As características espectroscópicas dos ácidos húmicos também são alteradas de maneira drástica quando há preservação da palha por longo período, com acúmulo de formas de P orgânico facilmente mineralizável (Busato, 2004).

O sistema de colheita de cana-de-açúcar sem a queima também pode provocar alterações nas propriedades físicas dos solos. Em um experimento com cinco anos de cultivo sem a queima foi verificado que a preservação da palha da cana favoreceu a conservação dos agregados do solo (Ceddia *et al.*, 1998). No sistema de cana queimada, foram observados maiores valores de densidade do solo, redução do diâmetro médio ponderado dos agregados estáveis, diminuição da porosidade total na camada superficial e menor velocidade instantânea de infiltração de água. Ficou evidenciado que a queima dos restos da cultura proporcionou maior compactação superficial do solo, relacionada à diminuição do tamanho e à quantidade de agregados.

Utilizar os recursos naturais de forma adequada, mais do que uma tendência, é uma necessidade humana. O desenvolvimento de modelos agrícolas sustentáveis passa necessariamente pela adoção de alternativas que preservam a matéria orgânica do solo. Há ainda muitas dúvidas sobre a melhor forma de utilização dos solos dos trópicos, por isso, a avaliação da MOS é imprescindível para que práticas mais adequadas sejam incentivadas e difundidas.

capítulo 12

Fundamentos da química orgânica

Maria Raquel Garcia Vega

O objetivo deste capítulo é apresentar de forma simplificada os fundamentos da química orgânica para facilitar o reconhecimento dos grupos funcionais que, por sua vez, podem interagir intra e/ou intermolecularmente (sinergicamente ou não) para produzir as reações químicas da matéria orgânica no solo. Devido à importância dos grupos funcionais na reatividade da matéria orgânica, os tópicos foram organizados por funcionalidade, começando pelos compostos mais simples (alcanos) até chegar aos compostos mais complexos. Antes, porém, é necessária uma noção sobre estrutura, hibridização, eletronegatividade, polaridade, tipos de ligações e de possíveis reações em química orgânica, para o melhor entendimento das interações intra e intermoleculares. Não é feita a abordagem mecanística das reações apresentadas. Optou-se por mostrar o quê da química destes compostos e não o porquê. Entretanto, no final do capítulo, é fornecida a bibliografia necessária para o aprofundamento dos temas tratados

Introdução

Os fundamentos da química orgânica datam da metade do século XVIII, com a evolução da arte dos alquimistas para uma ciência moderna. O início se deu pela observação de diferenças (então inexplicáveis) entre substâncias obtidas de organismos vivos e aquelas derivadas dos minerais. Os compostos extraídos das plantas e dos animais eram muito difíceis de isolar e purificar e, mesmo quando puros, eram difíceis de manusear e apresentavam, ainda, maior tendência à decomposição que a dos compostos extraídos dos minerais.

Em 1770, o químico sueco T. Bergman foi o primeiro a expressar a diferença entre substâncias *orgânicas* e *inorgânicas*. O termo *química orgânica* logo passou a denominar a química dos compostos encontrados em organismos vivos. Surgiu, na época, a *Teoria da Força Vital* como explicação para as diferenças de comportamento entre os compostos orgânicos e os inorgânicos. Atribuía-se uma “força vital” contida nestes compostos por se originarem de organismos vivos. Conseqüentemente, os químicos, daquela época, acreditavam que os compostos orgânicos não podiam ser preparados nem manipulados no laboratório (como no caso dos compostos inorgânicos). Esta concepção foi abandonada quando, em 1828, Friedrich Wohler descobriu que era possível converter o sal “inorgânico” cianato de amônio na substância “orgânica” já conhecida como uréia, que havia sido previamente encontrada na urina humana.

Hoje a química é unificada. Os mesmos princípios que explicam os compostos inorgânicos mais simples também explicam os compostos orgânicos mais complexos. A única característica que distingue os compostos orgânicos é que todos contêm o elemento carbono. Entretanto, a divisão entre química orgânica e inorgânica, que começou por razões históricas

foi mantida devido à “conveniência prática para favorecer a compreensão dos estudantes”.

A química orgânica é, então, o estudo dos compostos de carbono. Outros elementos comumente presentes em compostos orgânicos são hidrogênio, nitrogênio, oxigênio, fósforo, enxofre e cloro.

Todo organismo vivo é constituído por compostos orgânicos que por meio de uma complexa linguagem, possibilitam o funcionamento da natureza. Buscando uma analogia, pode-se utilizar a comunicação oral dos seres humanos em que há os fonemas que, unidos de forma específica, formam os sons das palavras e estas juntas formam um vocabulário capaz de expressar uma idéia, toda uma cultura e suas regras de convivência. Assim, a linguagem química é formada por cerca de 90 elementos que dão origem a TODOS os materiais conhecidos desde rochas até seres vivos. São os átomos que, unidos de acordo com suas características, principalmente eletrônicas, formam moléculas e estas, por sua vez, todo o mundo material

Átomos, moléculas e ligações químicas

Como os átomos se unem? Como os elétrons estão distribuídos em um átomo? De acordo com o modelo da *mecânica quântica* de um átomo, o comportamento de um elétron específico em um átomo pode ser descrito pela expressão matemática denominada *equação de onda* (a mesma usada para descrever o movimento das ondas em fluidos). A solução de uma equação de onda é denominada função de onda, ou *orbital*, e é descrita pela letra grega psi, ψ . Quando o quadrado da função de onda ψ^2 é expresso num espaço tridimensional, o orbital descreve o volume do espaço em volta do núcleo onde os elétrons têm maior probabilidade de serem encontrados.

Quais as formas de um orbital? Existem quatro tipos diferentes de orbitais, denominados *s*, *p*, *d* e *f*. Na química orgânica, os orbitais mais importantes são *s* e *p*. Os orbitais *s* são esféricos, com o núcleo em seu centro; orbitais *p* têm forma de halteres (Figura 12.1)

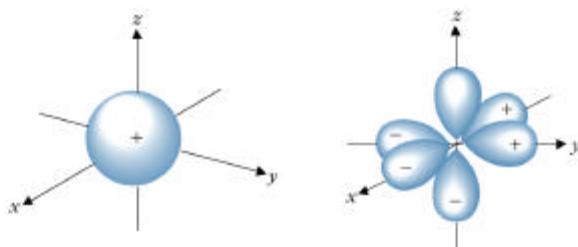
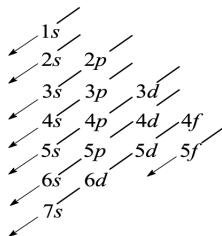


Figura 12.1. Orbitais eletrônicos: 1 Orbital *s* e 3 Orbitais *p* (p_x, p_y, p_z)

Os orbitais atômicos localizam-se em vários níveis de energia ou camadas, designados pelos números 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7. À medida que o número da camada aumenta, significa que esta se encontra mais afastada do núcleo e, portanto, há menor probabilidade de se encontrar um elétron. A primeira camada tem um orbital *s* denominado $1s$; a segunda um orbital *s* ($2s$) e três orbitais *p* ($2p_x, 2p_y, 2p_z$); e a terceira, um orbital *s* ($3s$), três orbitais *p* ($3p_x, 3p_y, 3p_z$), e cinco orbitais *d*. A configuração eletrônica no *estado fundamental* de um átomo é uma lista dos orbitais ocupados por seus elétrons. Podemos prever esse arranjo seguindo estas três regras:

Regra 1: Os orbitais de menor energia são preenchidos seguindo as setas do diagrama a seguir (*Princípio de Aufbau*)



Observe que o orbital 4s está situado entre os orbitais 3p e 3d com relação à energia.

Regra 2: os elétrons agem de forma como se estivessem girando em torno de um eixo da mesma maneira que a terra. Esse movimento denominado *spin* (que significa girar), tem duas orientações denominadas para acima \uparrow (positivo) e para abaixo \downarrow (negativo). Somente dois elétrons podem ocupar um orbital e eles devem ter *spins* opostos (Princípio de Pauli).

Regra 3: se dois ou mais orbitais vazios de mesma energia estão disponíveis, todo elétron ocupa cada um dos orbitais com seus *spins* paralelos até que todos os orbitais estejam ocupados pela metade.

Por que os átomos se ligam e como as ligações podem ser descritas eletronicamente? Os átomos se ligam uns aos outros porque os compostos resultantes são muito mais estáveis (possuem menor energia) do que os átomos separados. A energia sempre flui para *fora* de um sistema químico quando uma ligação se forma. De modo inverso, a energia deve ser colocada no sistema para quebrar uma ligação química. Dessa maneira, fazer ligações *libera* energia e quebrar ligações *absorve* energia. A pergunta de *como* as ligações podem ser descritas eletronicamente é mais difícil. Para tanto, é preciso estudar mais sobre as propriedades dos átomos.

Quando os átomos reagem para formar ligações, somente atuam os elétrons do nível mais externo, denominado *nível de valência*. Para representar os elétrons do nível de valência, usa-se a *notação de Lewis*, assim chamada em honra ao químico norte americano *Lewis* (1875-1946), que consiste em escrever os símbolos atômicos rodeados de tantos pontos quantos elétrons possui o átomo no nível de valência.

Em condições normais (25°C, 1 atm) apenas os gases nobres existem como *átomos isolados* (muito estáveis e pouco reativos). Os demais elementos se atraem entre si ou em relação a outros elementos.

G. Lewis e W. Kossel explicam a teoria eletrônica de valência como: *os átomos ao se unirem procuram perder ou ganhar elétrons na última camada até adquirirem a configuração eletrônica de um gás nobre*. Esta hipótese é conhecida também como *regra do octeto*. O átomo adquire estabilidade quando possui oito elétrons na camada eletrônica mais externa. Dito de outra maneira: quando dois átomos vão unir-se, estes “trocaram elétrons entre si” ou “usam elétrons em parceria” procurando adquirir a configuração de um gás nobre. As forças que mantêm os átomos unidos são de natureza fundamentalmente elétrica e são denominadas *ligações químicas*.

Ligações químicas

São encontrados dois tipos mais comuns de ligações químicas: iônicas (ou eletrovalentes) e covalentes.

Ligação iônica: resulta da atração eletrostática de íons de cargas opostas. Geralmente é formada entre dois átomos cujos valores de eletronegatividade são bastante distintos. O átomo menos eletronegativo perde um elétron (ou mais de um), tornando-se um íon positivo (*cátion*). Já o

átomo mais eletronegativo ganha um ou mais elétrons, tornando-se um íon carregado negativamente (*ânion*). A atração eletrostática entre os íons resulta na liberação de energia, com a consequente estabilização do sistema.

Quando os elementos ganham ou perdem elétrons, a configuração eletrônica da sua camada de valência tende a ficar com oito elétrons, como a maioria dos gases nobres. A ligação iônica pode também ocorrer em sais orgânicos.

Ligação covalente: uma ligação é denominada covalente quando os átomos compartilham um ou mais pares de elétrons. Normalmente a diferença de eletronegatividade entre os átomos que formam uma ligação covalente é pequena ou nula. Considere-se por exemplo, uma molécula de hidrogênio (H_2). A ligação covalente $H - H$ resulta do compartilhamento de elétrons dos dois átomos de hidrogênio, representados aqui por pontos (estrutura de Lewis).

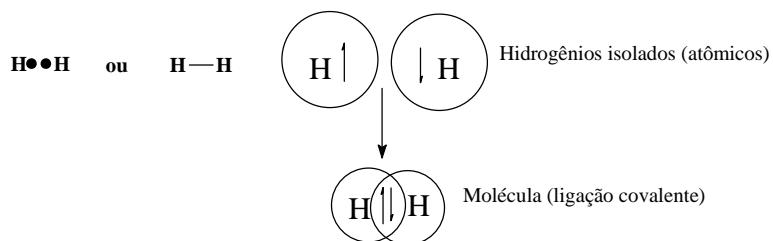
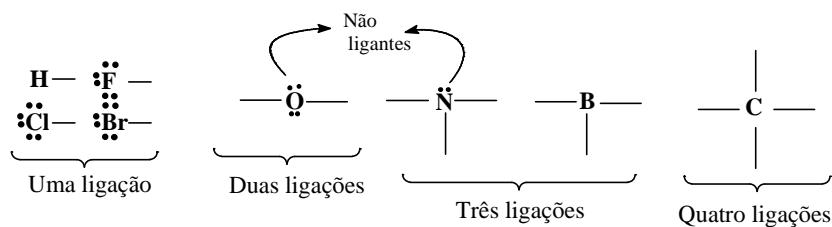


Figura 12.2. Ligação covalente na molécula de H_2 , representação de Lewis (pontos); traço e a representação da sobreposição de spins para formar a ligação

O número de ligações covalentes que um átomo forma depende tanto do número de elétrons de valência quanto do número adicional de elétrons que ele necessita para atingir a configuração de gás nobre. Átomos com um, dois ou três elétrons de valência formam uma, duas ou três ligações; átomos com quatro ou mais elétrons de valência formam tantas ligações quantas forem necessárias para que os níveis *s* e *p* da camada de valência sejam preenchidos com elétrons, de forma a atingir um octeto estável. O boro, por exemplo, têm somente três elétrons de valência e forma apenas três ligações covalentes numa molécula como BF_3 . O carbono tem quatro elétrons de valência e preenche sua camada de valência formando quatro ligações, como no metano (CH_4). O nitrogênio tem cinco elétrons de valência e forma somente três ligações como na amônia (NH_3); e o oxigênio tem seis elétrons de valência e forma duas ligações na água (H_2O). A valência de cada elemento pode ser encontrada na tabela periódica em números romanos I, II, III, IV etc., que corresponde ao grupo a que pertence um átomo. O carbono, por exemplo, pertence ao Grupo IVA da tabela periódica; o nitrogênio ao Grupo VA; e o oxigênio ao Grupo VIA.

Os pares de elétrons compartilhados são representados, geralmente, por traços. enquanto que os não-compartilhados (ou não-ligantes) são representados por pontos.



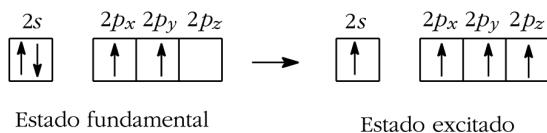
O carbono

Por que o carbono é especial? O que distingue o carbono dos outros elementos? Respostas para essas perguntas podem ser obtidas com a análise da posição do carbono na tabela periódica. Como um elemento do grupo IVA, o carbono compartilha quatro elétrons de valência e forma quatro ligações covalentes fortes. Além do mais, os átomos de carbono podem se ligar uns aos outros formando cadeias e anéis. O carbono sozinho é capaz de formar uma diversidade imensa de compostos que pode ir desde o mais simples até os mais surpreendentes complexos – do metano com um único átomo de carbono ao DNA que pode conter alguns bilhões de átomos.

Vê-se agora como esses átomos se arranjam no espaço. Para compreender isto, é necessário considerar, inicialmente, a hibridização dos orbitais atômicos. É a teoria da hibridização que fornece explicações para a geometria observada nas moléculas.

Orbitais híbridos sp^3

O composto orgânico mais simples é o gás metano CH_4 . Para satisfazer a valência de todos os cinco átomos, os hidrogênios devem unir-se ao carbono por meio de ligações simples denominadas ligações sigma (σ). No estado fundamental, a configuração eletrônica do átomo de carbono é $1s^2 2s^2 2p^2$. Com essa distribuição eletrônica, o carbono não é capaz de se ligar a quatro átomos de hidrogênio, mas apenas a dois. Para melhor compreensão desse fato, basta representar os orbitais em forma de “caixas” como mostrado a seguir:



Se um elétron do orbital $2s$ for transferido para o orbital $2p$ vazio, o carbono passará a ter quatro elétrons desemparelhados (estado excitado), capaz de fazer, portanto, quatro ligações. Pode ser explicado desse modo a tetravalência do átomo de carbono. Porém, se os átomos de hidrogênio se ligassem aos orbitais $2s$, $2p_x$, $2p_y$ e $2p_z$ os ângulos entre as ligações H-C-H não corresponderiam ao valor experimental de $109,47^\circ$, pois o ângulo entre orbitais p é de 90° . Também não seriam iguais todos os comprimentos das ligações C-H, pois o orbital $2s$ possui raio diferente do dos orbitais $2p$. O que acontece, na verdade, é uma *hibridização* dos orbitais s e p , dando origem a quatro novos orbitais denominados sp^3 .

O ângulo entre os orbitais sp^3 é de $109,47^\circ$. Dessa forma, a distância entre eles é máxima, minimizando, assim, a repulsão entre os elétrons. Na Figura 12.3, pode ser observada uma representação simplificada da combinação dos orbitais s e p do carbono para formar os orbitais híbridos. Também é mostrada a combinação destes com quatro átomos de hidrogênio, resultando na formação do CH_4 .

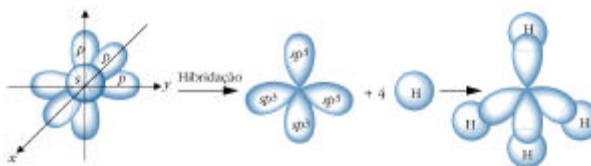


Figura 12.3. Hibridização de orbitais s e p e formação do metano (sp^3)

A geometria da molécula do metano é dependente da dos orbitais sp^3 , sendo representada a seguir:

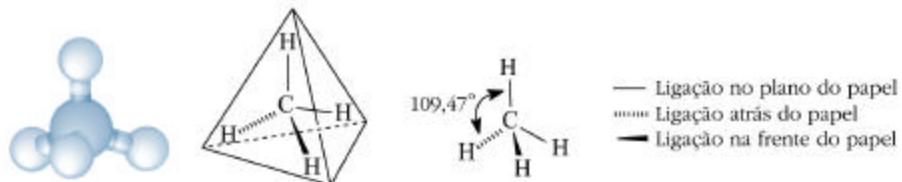


Figura 12.4: Geometria tetraédrica do metano

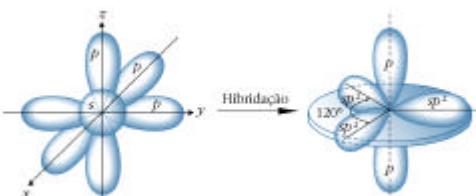
O átomo de carbono ocupa o centro de um tetraedro e os átomos de hidrogênio ocupam seus vértices. O ângulo entre as ligações é de $109,47^\circ$. Esta geometria é denominada *tetraédrica*. Todo carbono que se encontrar ligado a quatro outros átomos ou grupo de átomos apenas por meio de ligações sigma σ terá hibridação sp^3 , ou seja, geometria tetraédrica.

Além do carbono, outros elementos, tais como o oxigênio e o nitrogênio também podem ter hibridação sp^3 . Como o oxigênio contém dois elétrons desemparelhados poderá fazer duas ligações sigma σ . O ângulo observado entre as ligações H – O – H é de $104,5^\circ$, em razão da maior repulsão entre os elétrons não-ligantes quando comparada com a repulsão entre os elétrons que participam das ligações O – H. Levando-se em conta apenas os átomos de hidrogênio e oxigênio, a geometria da molécula de água é denominada *angular*.

No caso da molécula de amônia NH_3 , os ângulos entre as ligações H – N – H são de 107° , ou seja, também menores que $109,47^\circ$. Esse desvio pode ser explicado pela maior repulsão entre o par de elétrons não-ligantes e os pares de elétrons da ligação N-H, quando comparada às interações dos elétrons ligantes entre si. A geometria da molécula de amônia é denominada *piramidal*.

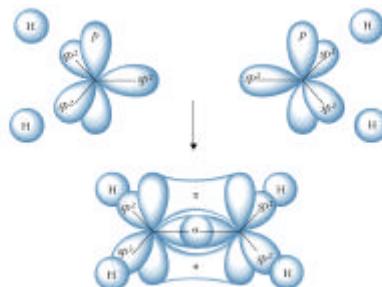
Orbitais híbridos sp^2

O hidrocarboneto mais simples, representativo de moléculas com átomos de carbono com hibridação do tipo sp^2 , é o eteno ($\text{CH}_2=\text{CH}_2$). Nesse caso, os átomos de carbono encontram-se ligados por meio de duas ligações, sendo uma delas do tipo sigma σ e a outra do tipo pi (π). O ângulo entre uma ligação e outra é de aproximadamente 120° . Para explicar a geometria dessa molécula e a existência de uma ligação dupla entre os átomos de carbono, um outro tipo de hibridação deve ser considerado. O orbital $2s$ e dois orbitais $2p$ de carbono são combinados para formar três orbitais híbridos sp^2 . Esses orbitais são direcionados para os vértices de um triângulo equilátero e, consequentemente, a repulsão entre os elétrons que ocuparem o orbital híbrido será a mínima possível. O orbital $2p$ que não participou da hibridação permanece perpendicular ao plano ocupado pelos orbitais híbridos



A aproximação entre dois átomos de carbono sp^2 leva à formação da ligação σsp^2-sp^2 , por meio da superposição frontal entre um orbital sp^2 de cada átomo, enquanto a interpenetração lateral entre

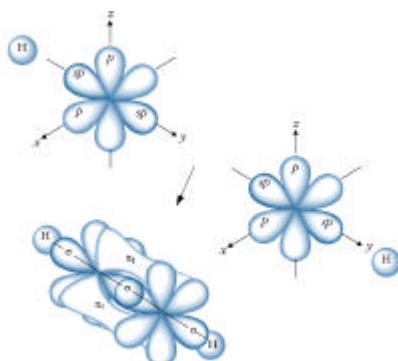
os orbitais $2p$ resulta na formação da ligação π . Os orbitais $2sp^2$ restantes combinam-se com os orbitais $1s$ dos átomos de hidrogênio (quatro no total) completando as valências dos átomos de carbono na molécula do eteno, como mostrado a seguir:



O oxigênio e o nitrogênio também podem apresentar ligação dupla e, portanto, hibridização sp^2 .

Orbitais híbridos sp

O átomo de carbono que se liga a outros átomos por meio de duas ligações σ e duas ligações π apresentam hibridização sp . Nesse caso, um orbital $2s$ combina-se com um orbital $2p$ para formar dois orbitais híbridos sp , sendo o ângulo entre eles de 180° (planar). Os outros dois orbitais $2p$ que não participam da hibridação encontram-se perpendiculares ao plano dos orbitais sp .



A hibridação sp , para os átomos de carbono não se restringe à formação da ligação tríplice carbono-carbono. O átomo central do aleno ($\text{CH}_2=\text{C}=\text{CH}_2$), e os átomos de carbono e nitrogênio na molécula HCN, por exemplo, também apresentam hibridação sp .

Moléculas polares e eletronegatividade

Se cada elemento possui uma carga nuclear e uma configuração eletrônica diferente, não fica difícil esperar que os átomos de elementos diferentes tenham capacidades distintas de atrair elétrons quando participam de uma ligação química. A *eletronegatividade* mede a habilidade de um átomo *em atrair elétrons numa ligação*. Na tabela periódica, pode-se observar um aumento da eletronegatividade dos elementos na linha horizontal da esquerda para a direita e, na vertical, de cima para baixo, como mostrado na Figura 12.5

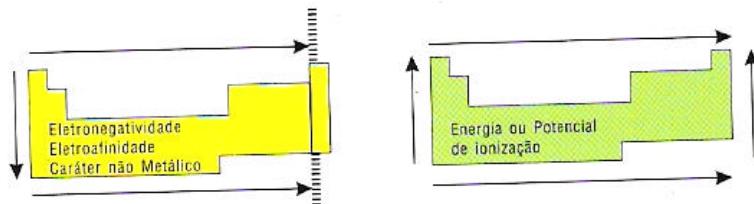
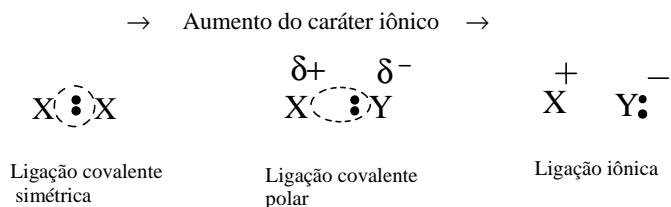


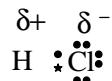
Figura 12.5. Representação de ordem crescente dos valores de eletronegatividade (segundo as setas) na tabela periódica.

Em moléculas como H_2 ou Cl_2 formadas por átomos de um mesmo elemento, o compartilhamento pelo par de elétrons da ligação covalente ocorre de modo igual, visto que não há diferença de eletronegatividade entre as espécies envolvidas. O resultado é uma distribuição simétrica dos elétrons na ligação química. Nesse caso, a ligação é denominada covalente apolar. Porém, a maioria das ligações não é nem completamente iônica, nem completamente covalente, mas situa-se num lugar entre os dois extremos. Tais ligações são chamadas ligações *covalentes polares*, em que os elétrons envolvidos na ligação são atraídos mais fortemente por um átomo de tal modo que a distribuição eletrônica entre os átomos não é simétrica.



Nesse contexto, o símbolo δ (letra grega minúscula, delta) significa carga parcial, tanto carga parcial positiva ($\delta+$) para o átomo pobre em elétrons, quanto carga parcial negativa ($\delta-$) para o átomo rico em elétrons. No caso de ligações formadas por átomos que possuem eletronegatividades diferentes, o compartilhamento pelo par de elétrons da ligação covalente ocorrerá de modo desigual. O átomo de maior eletronegatividade exercerá maior atração sobre o par de elétrons, desenvolvendo, portanto, uma carga parcial negativa. Conseqüentemente, o átomo menos eletronegativo sustentará uma carga parcial positiva. De forma geral, ligações entre átomos cujos valores de eletronegatividade diferem em menos de duas unidades, são ligações covalentes polares e ligações entre átomos, cujos valores de eletronegatividade diferem de duas ou mais unidades são iônicas.

Considere-se, por exemplo, o caso da molécula ácido clorídrico (HCl). A eletronegatividade do átomo de cloro é 3 e a do hidrogênio, 2,1. O par de elétrons da ligação será mais atraído pelo cloro fazendo com que se apresente uma carga parcial positiva sobre o hidrogênio, ao passo que o cloro terá uma carga parcial negativa.



esta molécula apresenta, portanto, caráter dipolar. A polaridade da ligação H-Cl é, conseqüentemente, da molécula HCl , é medida pelo momento de dipolo (μ) que é dada pela fórmula: $\mu = e \times d$

onde :

e = carga parcial em Coulomb

d = distância (que separa as cargas)

μ = momento dipolo

No caso de moléculas poliatômicas, o momento dipolo será resultante da soma vetorial dos momentos dipolo de todas as ligações.

Propriedades físicas e forças intermoleculares

A natureza e a intensidade das forças intermoleculares têm grande influência sobre várias propriedades dos compostos orgânicos, tais como, temperatura de ebulação, temperatura de fusão e solubilidade em determinado solvente.

Na Tabela 12.1, são representados alguns tipos de interações intermoleculares e as espécies envolvidas.

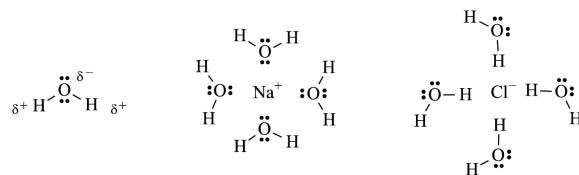
Tabela 12.1 Principais interações intermoleculares

Tipo de interação	Força relativa	Especies envolvidas
Íon-dipolo	Forte	Íons e moléculas polares
Dipolo-dipolo	Moderadamente forte	Moléculas polares
Dipolo-dipolo induzido	Muito fraca	Molécula polar e outra apolar
Dipolo instantâneo-dipolo induzido	Muito fraca*	Qualquer tipo de molécula incluindo as apolares
Ligaçao de hidrogênio	Forte	Moléculas que possuem H ligado a elemento bastante eletronegativo

Em geral essas forças são fracas, mas, uma vez que aumentam com a superfície de contato entre as moléculas podem se tornar intensas

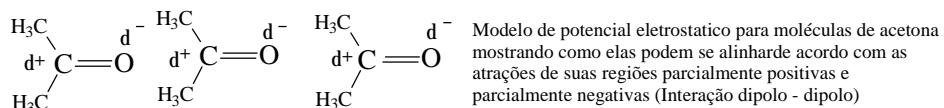
A seguir, é feita uma breve discussão sobre cada tipo de interação listada na Tabela 12.1.

Interação íon – dipolo: este tipo de interação ocorre quando os compostos iônicos são dissolvidos em solventes polares, como água ou álcool. A interação é devida a atração eletrostática entre os íons positivos (cátions) e a parte negativa da molécula do solvente, e entre os íons negativos e a parte positiva da molécula do solvente, como no exemplo do sal NaCl em H₂O. Quando o solvente utilizado é água, diz-se que os íons estão *hidratados* e, quando é diferente de água, diz-se que eles são *solvatados*.

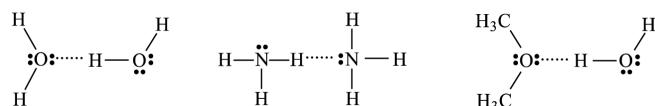


Interação dipolo – dipolo: A maioria das moléculas orgânicas não é plenamente iônica, mas possui um momento dipolar permanente, resultante da distribuição não uniforme dos elétrons de ligação. Acetona e acetaldeído são exemplos de moléculas com dipolos permanentes, pois o grupo carbonila que contém é altamente polarizado. Nesses compostos, a força atrativa entre as moléculas

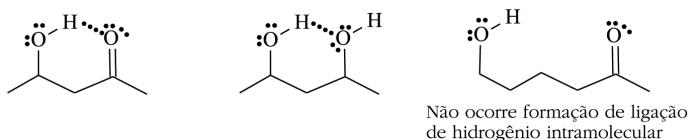
é muito mais fácil de visualizar. Estas atrações chamadas *dipolo – dipolo* forçam as moléculas a se orientarem de modo que a extremidade positiva de uma molécula é direcionada para a extremidade negativa da outra



Ligaçāo hidrogēnio: atrações dipolo – dipolo muito fortes ocorrem entre átomos de hidrogēnios ligados a átomos pequenos e fortemente eletronegativos (O, N ou F) e pares de elétrons não-ligantes de outros átomos. Esse tipo de força intermolecular é chamado ligação hidrogēnio. A ligação hidrogēnio é mais fraca que uma ligação covalente comum, porém muito mais forte do que, por exemplo, as interações dipolo – dipolo que ocorrem na acetona. A ligação hidrogēnio é normalmente representada por uma linha pontilhada. O grupo que possui o átomo de hidrogēnio covalentemente ligado é denominado *doador* de ligação hidrogēnio, enquanto o que participa com o par de elétrons livre é denominado *aceptor* de hidrogēnio.



Quando uma ligação hidrogēnio pode ser formada, devido à sua força, ela normalmente predomina sobre outros tipos de interações intermoleculares. Em algumas moléculas pode ocorrer a ligação hidrogēnio intramolecular, ou seja, a ligação ocorre não entre duas moléculas, mas entre o *doador* e o *aceptor* de ligação de hidrogēnio, pertencentes a uma mesma molécula, como mostrado a seguir:



Nos dois primeiros exemplos anteriores, o grupo OH doador está próximo do acceptor, o que facilita a formação de ligação de hidrogēnio. Observe que, em ambos os casos, é formada uma estrutura com anel de seis membros. Se os grupos estão muito afastados, não ocorre formação dessa ligação intramolecular, como no caso do terceiro composto mostrado no esquema anterior.

As ligações hidrogēnio têm influência enorme sobre a forma de muitas moléculas como, por exemplo, no arranjo supramolecular das substâncias húmidas em meio ácido.

Interação dipolo instantâneo – dipolo induzido (Forças de Van der Waals): considerando uma substância como o metano CH₄, cujas partículas são moléculas apolares, veremos que o ponto de fusão e ponto de ebulição são muito baixos: -182,6°C e -162°C, respectivamente. Em vez da pergunta “por que o metano ferve ou funde a temperaturas tão baixas? A pergunta mais apropriada seria “por que o metano, uma substância não-iônica e apolar, pode tornar-se um líquido ou um sólido? A resposta para esta questão pode ser dada em termos de forças intermoleculares atrativas, chamadas forças de *Van der Waals* (ou Forças de London, ou ainda, forças de dispersão). A

distribuição média de carga em uma molécula de metano é simétrica e o momento dipolo resultante é, portanto, nulo. Os elétrons, todavia, movem-se e, em determinado instante, a distribuição de carga se apresenta deformada em relação à distribuição média simétrica. Conseqüentemente, é produzido nesse instante um pequeno dipolo. Este dipolo, de existência momentânea, deverá afetar a distribuição eletrônica em outra molécula do composto que se encontra na sua vizinhança. O pólo negativo do dipolo tende a repelir elétrons, enquanto o pólo positivo tende a atraí-los; o dipolo da primeira molécula *induz*, portanto, um dipolo de orientação oposta à segunda.

Embora os dipolos momentâneos e os induzidos variem constantemente, o resultado final é a existência de uma certa atração mútua entre as duas moléculas.

Solubilidade de compostos orgânicos

As forças intermoleculares são imprescindíveis para explicar a *solubilidade* das substâncias. A baixa solubilidade em água das substâncias húmicas dá uma idéia da quantidade de forças intermoleculares envolvidas. A dissolução de um sólido em um líquido pode, em muitos aspectos, ser tratada do mesmo modo como a fusão do sólido. A estrutura cristalina organizada do sólido é destruída e o resultado é um arranjo mais desordenado das moléculas ou íons na solução. No processo de dissolução, as moléculas ou íons precisam, ainda, ser separados uns dos outros. Essas duas alterações exigem suprimento de energia. A energia necessária para compensar as energias de rede e as atrações intermoleculares (ou interiônicas) é proveniente da formação de novas forças atrativas entre o *soluto* e o *solvente*.

Para compostos não-iônicos, as características de solubilidade estão relacionadas, sobretudo com a sua polaridade. Os compostos apolares ou fracamente polares são solúveis em solventes apolares ou fracamente polares; os compostos altamente polares são solúveis em solventes altamente polares. Daí a regra empírica: “polar dissolve polar, apolar dissolve apolar”. O metano é solúvel em tetracloreto de carbono, porque as forças que agregam as moléculas (forças de Van der Waals) de cada uma dessas substâncias são, com a dissolução, substituídas por forças atrativas muito semelhantes; já o metano não é solúvel em água. Por outro lado, compostos polares como, por exemplo, o metanol (que é muito solúvel em água), possuem interações fortes dipolo – dipolo (ligações de hidrogênio). As ligações de hidrogênio que se estabelecem entre as moléculas de água e as de metanol podem substituir facilmente as ligações hidrogênio existentes, quer entre as moléculas de metanol, quer entre as moléculas de água. Mas quase todas as moléculas orgânicas são maiores que as do metano e do metanol; a maioria delas contém partes polares e partes apolares e isso se reflete no seu comportamento quanto à solubilidade. Embora o ácido acético e outros ácidos carboxílicos, contendo menos de cinco átomos de carbono, sejam solúveis em água, muitos outros ácidos carboxílicos, de maior massa molecular são pouco solúveis em água. Devido à sua elevada acidez, os *ácidos carboxílicos insolúveis* em água se *dissolvem* em solução aquosa de base forte (como o hidróxido de sódio, por exemplo). A *ionização do grupo funcional e a conseqüente formação dos sais de sódio* tornam esses compostos solúveis em água.

Dada a posição muito especial da água como solvente (principalmente em sistemas biológicos), os termos *hidrofílico* (que gosta de água) e *hidrofóbico* (que odeia água) são utilizados para designar a solubilidade ou insolubilidade em água. O termo *lipofílico* (que gosta de gorduras) é usado, muitas vezes, no lugar de hidrofóbico, para indicar a solubilidade em solventes apolares.

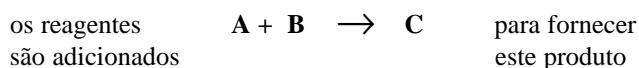
Introdução às reações orgânicas

À primeira vista, a química orgânica pode parecer uma confusão: coleção de milhões de compostos, grupos funcionais e, ainda por cima, um número enorme de reações. Ao estudá-las, no entanto, fica evidente que algumas poucas idéias fundamentais constituem a base de todas as reações orgânicas. Uma vez entendidas essas idéias, o aprendizado da química orgânica torna-se bem mais fácil

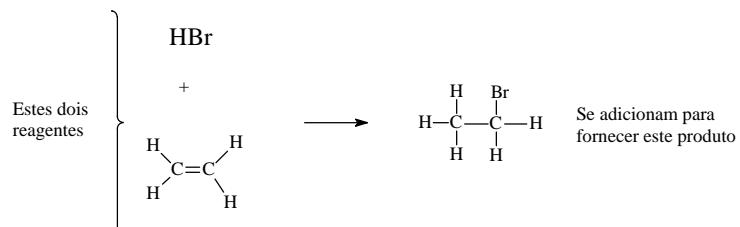
Reações orgânicas

As reações orgânicas podem ser organizadas de duas maneiras: pelo *tipo* de reação e pela *forma* como ocorre. Em primeiro lugar, serão vistos os tipos de reações. Existem quatro tipos gerais de reações orgânicas: adições, eliminações, substituições e rearranjos. Virtualmente, todas as reações orgânicas se enquadram em uma das quatro categorias.

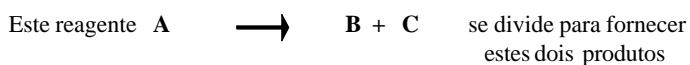
As *reações de adição* ocorrem quando dois reagentes se unem para formar um único produto e todas as partes do reagente adicionado aparecem no produto como, por exemplo, na hidrogenação de alcenos ou alcinos e em alguns tipos de condensação (por exemplo, aldólica, de Claisen). As reações de adição são características de compostos com ligações múltiplas. O processo pode ser representado genericamente por:



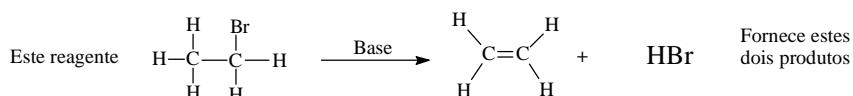
Exemplo: a reação de um alqueno HX para formar um halogeneto de alquila



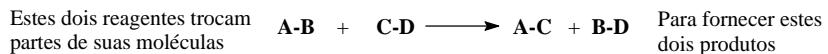
As *reações de eliminação* são de certa forma, o oposto das reações de adição. Reações de eliminação nos fornecem um método de preparação de compostos com ligações duplas e triplas como na desidroalogenação (perda de hidrogênio e halogênio) de haleto de alquila para fornecer alcenos. Uma eliminação ocorre quando um reagente se divide em dois produtos



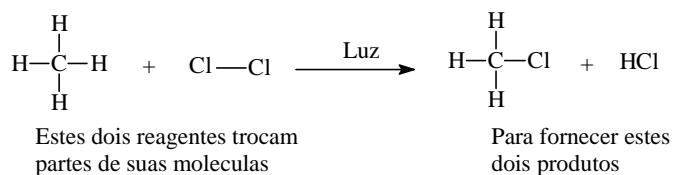
Exemplo: Um halogeneto de alquila em meio básico para formar um ácido e um alqueno (Desidrohalogenação):



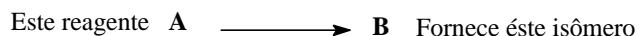
As *reações de substituição* são reações características de compostos saturados, tais como, alcanos e haletos de alquila e de compostos aromáticos (ainda que estes sejam insaturados). Ocorrem quando dois reagentes trocam partes de suas moléculas para formar dois produtos:



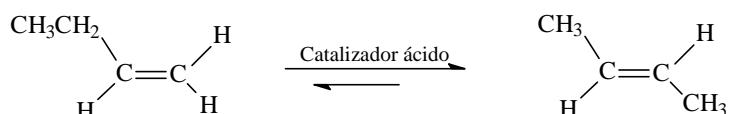
Exemplo: a reação de um alcano com o gás cloro na presença de luz ultravioleta para formar um cloreto de alquila



As *reações de rearranjo* acontecem quando um único reagente passa por uma reorganização de suas ligações e dos seus átomos e forma um produto isômero



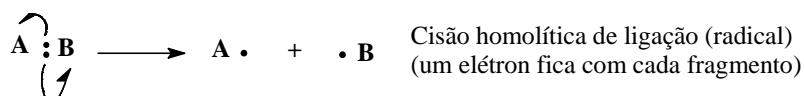
Exemplo de reação de rearranjo é a conversão do alqueno 1-buteno no isômero de constituição 2-buteno com um catalisador ácido



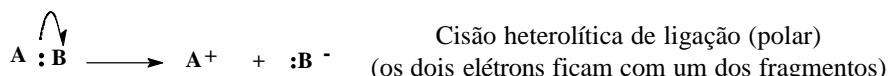
Como as reações orgânicas ocorrem

Uma descrição completa de como uma reação ocorre é chamada mecanismo da reação (ligações que quebram, que se formam, as seqüências e as velocidades relativas a cada etapa). A quebra e formação de ligações levam à formação de produtos. Existem, fundamentalmente, dois meios pelos quais uma ligação covalente pode-se quebrar:

Cisão homolítica



Cisão heterolítica



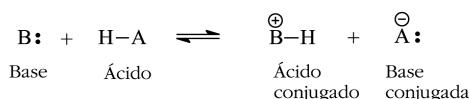
Existem, igualmente, dois meios pelos quais uma ligação covalente pode-se formar: eletronicamente simétrica (homogênea): quando cada reagente doa um elétron para a nova ligação; ou eletronicamente assimétrica (heterogênea): quando um único reagente doa ambos os elétrons para uma nova ligação. Os processos que envolvem a quebra e a formação de uma ligação simétrica

são chamados reações radicalares. Os processos que abrangem a quebra e a formação de uma ligação assimétrica são chamados reações polares.

Reações ácido - base

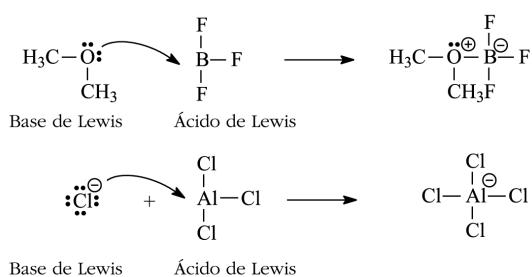
Uma boa parte das reações que ocorrem na química orgânica são reações ácido – base, ou envolvem este tipo de reação em algum estágio para a formação do produto. Reações ácido - base também permitem examinar idéias importantes sobre a relação entre as estruturas das moléculas e suas reatividades, fornecendo também uma ilustração do papel importante que os solventes exercem nas reações químicas. Teorias sobre essas substâncias passaram por diversas reformulações ao longo dos anos. A primeira definição surgiu em 1887, proposta pelo químico sueco S. Arrhenius, que postulava que os ácidos seriam substâncias cujas soluções aquosas contivessem excesso de íons H^+ (em relação ao OH^-), enquanto bases seriam substâncias cujas soluções aquosas contivessem excesso de íons OH^- (em relação a íons H^+). Por limitar-se às soluções aquosas, não tardaram surgir novas definições. Os dois conceitos mais freqüentemente utilizados hoje são os de Brönsted – Lowry e o de Lewis.

Ácidos e bases de Brønsted – Lowry: de acordo com esta teoria, “um ácido é uma substância que pode doar (ou perder) um próton, e uma base é uma substância que pode aceitar (ou remover) um próton”.



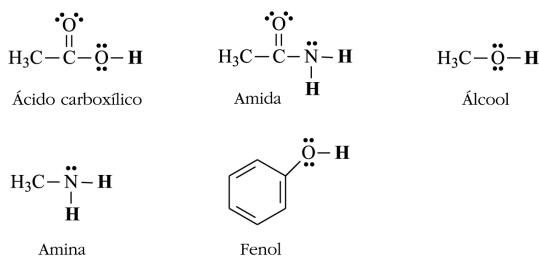
Assim, a base, ao receber um próton é convertida na espécie $H-B^+$, enquanto que o ácido $H-A$, ao ceder um próton, é convertido em A^- . Pode-se observar, na equação acima, que foram utilizadas duas setas para representar que a equação está em equilíbrio. Isso significa que a espécie $H-B^+$ pode fornecer um próton para o ânion A^- , revertendo o processo. Nesse caso, $H-B^+$ funciona como ácido, sendo denominado *ácido conjugado de B*, enquanto A^- funciona como base, sendo denominada *base conjugada de H-A*. Portanto, de acordo com o conceito de Brönsted – Lowry, uma base conjugada é a espécie resultante quando um ácido doa um próton, enquanto ácido conjugado é a espécie formada quando uma base recebe um próton.

Ácidos e bases de Lewis: apesar de bastante amplos, os conceitos de ácido e base de Brønsted – Lowry são limitados no que se diz respeito à palavra próton. Em função disso, Lewis propôs outra definição mais abrangente para ácidos e bases. Segundo Lewis, “*uma base é uma espécie que possui pelo menos um par de elétrons não-ligantes disponíveis para compartilhar com outra espécie durante uma reação química e um ácido é uma espécie capaz de aceitar um par de elétrons em uma reação química*”. De acordo com esse conceito, ácidos são fons positivos ou espécies neutras deficientes em elétrons como H^+ , Mg^{2+} , BF_3 , $AlCl_3$, $FeCl_3$ etc. Em todos os exemplos apresentados anteriormente, os ácidos e base de Brønsted – Lowry são também considerados ácidos e bases de Lewis.

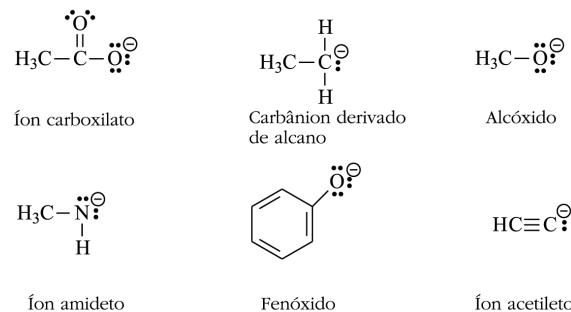


Acidez em compostos orgânicos

Genericamente, pode-se apontar alguns fatores que influenciam a acidez de compostos orgânicos, tais como, a força da ligação H-A; a eletronegatividade de A e os fatores eletrônicos (efeito indutivo e de ressonância), que estabilizam a base conjugada em relação a H-A e, por último, a natureza do solvente utilizado. Em moléculas orgânicas, os hidrogênios mais ácidos são os ligados aos átomos mais eletronegativos do que o carbono como, por exemplo, oxigênio ou nitrogênio, conforme ilustrado em negrito nos exemplos apresentados a seguir:



Basicidade em compostos orgânicos: um aspecto importante do conceito de ácido e base de Brönsted – Lowry é a força relativa do ácido e da base conjugada. Assim, quanto mais forte for o ácido, mais fraca será sua base conjugada e quanto mais fraco for o ácido, mais forte, sua base conjugada. A amônia (NH_3), por exemplo, é um ácido muito mais fraco que a água, portanto, sua base conjugada NH_2^- é muito mais forte que a da água OH^- . Como os ácidos halogenídricos são muito fortes (HCl , HBr e HI), suas bases conjugadas (Cl^- , Br^- , I^-) são bastante fracas. Alguns exemplos de bases orgânicas são dados a seguir:



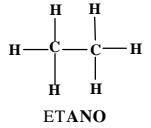
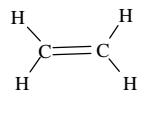
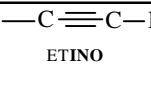
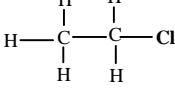
Como visto até aqui, um composto orgânico pode atuar tanto como ácido ou como base, dependendo do composto com o qual ele reage. Apesar disso, dos vários grupos de compostos orgânicos existentes, alguns apresentam caráter tipicamente ácido, como os fenóis ou ácidos carboxílicos, enquanto as aminas são tipicamente básicas.

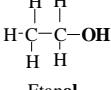
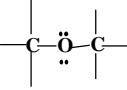
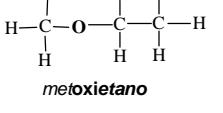
Grupos funcionais

Uma grande vantagem da teoria estrutural é a possibilidade de classificar uma enorme variedade de compostos orgânicos dentro de um número relativamente pequeno de famílias, baseado em suas estruturas. As moléculas de compostos de uma família em particular são caracterizadas pela presença de certos arranjos de átomos chamados grupo funcional.

Um grupo funcional é a parte da molécula em que ocorre a maioria das suas reações químicas. É a parte que efetivamente determina as propriedades químicas do composto (e muitas das suas propriedades físicas também). Os principais grupos funcionais encontram-se a seguir:

Famílias importantes dos compostos orgânicos

GRUPO FUNCIONAL	FÓRMULA GERAL	NOME IUPAC	EXEMPLO
ALCANO C—C C—H	C_nH_{2n+2}	<i>Prefixo correspondente ao número de carbonos + ANO</i>	 ETANO
ALCENO	C_nH_{2n}	<i>Prefixo correspondente ao número de carbonos + ENO</i>	 ETENO
ALCINO	C_nH_{2n-2}	<i>Prefixo correspondente ao número de carbonos + INO</i>	 ETINO
HALETOS DE ALQUILA 	C_nH_{2n-1}	Nome do haleto+ Nome alcano Ou Nome do halogênio com terminação ETO + Nome do radical alquila	 <i>Cloroetano ou Cloreto de etila</i>

FAMÍLIA	GRUPO FUNCIONAL	NOME IUPAC	EXEMPLO
AROMÁTICO		benzeno ou fenil	 metilbenzeno
ÁLCOOL		Nome do radical + terminação ol	 Etanol
ÉTER		Nome do R_1-O com a terminação oxi seguido do nome de R_2	 metoxietano

FAMÍLIA	GRUPO FUNCIONAL	NOME IUPAC	EXEMPLO
ÉSTER		Nome de R₁-COO- + <u>ato</u> + nome de R₂	 propanoato de metila
ALDEÍDO		Nome de R-CO seguida da terminação <u>al</u>	 propanal
CETONA		Nome do R₁ + nome do R₂ seguido da palavra <u>cetona</u>	 metil etil cetona
ÁCIDO CARBOXÍLICO		Palavra <u>ácida</u> seguida do nome de R com a terminação <u>oico</u>	 ácido propanoico
AMIDA		Nome do R-CON seguida da palavra <u>amida</u>	 propanoamida
AMINA		Nome do R-N + a palavra <u>amina</u>	 propilamina
NITRILA		Nome do R-CN + <u>nitrila</u>	 propanonitrila

Reatividade e características estruturais

A seguir, é feito um sumário das principais características de cada um dos grupos funcionais, considerando a sua reatividade. Também são apresentadas, resumidamente, as principais regiões espectroscópicas de absorções características de cada grupo funcional no ultravioleta (UV) e infravermelho (IV) bem como absorções características de freqüência dos deslocamentos químicos para os núcleos de hidrogênio ¹H e de ¹³C no espectro de ressonância magnética nuclear (RMN).

GRUPO FUNCIONAL & REATIVIDADE	UV nm	IV cm ⁻¹	RMN ¹ H ppm	RMN ¹³ C ppm
ALCANOS Principais reações acontecem via radical em altas temperaturas ou radiação UV: <i>halogenação; pirólise; oxidação</i> .	Não absorve	2850 - 2960 e 1350 - 1470	0 - 2,0	0 - 50

GRUPO FUNCIONAL & REATIVIDADE	UV nm	IV cm ⁻¹	RMN ¹ H ppm	RMN ¹³ C ppm
ALCENOS As reações principais são as de adição: de haletos de hidrogênio (H-X, onde X= Cl, Br, I); de ácido sulfúrico; hidrogenação; halogenação; hidratação; haloidrinas; polimerização; hidroxilação, oximercuriação, hidroboração. Reações de substituição alílica e reações de cisão como a ozonólise.	165 e 193	675 – 1000 e 3020 – 3080 (conjugados)	4 - 7	80 -170
ALCINOS Principalmente reações de adição: de haletos de alquila, hidrogenação, halogenação, hidratação. Reações ácido-base	173	2100 - 2260	2 -3	20 - 90
AROMÁTICOS As reações características são as substituições aromáticas eletrofílicas: halogenação, nitração, sulfonação, alquilação e acilação de Friedel-Graffts. Reações de derivados de compostos aromáticos como os alquilbenzenos são a oxidação e reações de substituição na cadeia lateral como a halogenação.	184, 204 e 256	C=C 1500 -1600	6 -9	100 - 165
HALETOS DE ALQUILA As reações características deste tipo de compostos são substituição nucleofílica, eliminação e óxi-redução.	173 (Cl) 208 (Br) 259 (I)	C-X 730 - 1400	Não se observam acoplamentos de H com halogênios	C-X 10 - 96
ÁLCOOIS São dois tipos principais de reações que quebram a ligação O-H: as reações ácido-base e de oxidação. As reações que quebram a ligação C-OH são a halogenação e a desidratação.	177 e 200	O-H: 3200 -3600 C-O: 1260 -1000	2 - 5	50 -85
ÉTERES Reações de substituição nucleofílica como halogenação. Éteres cílicos podem sofrer óxi-redução.	171 e 188	C-O-C 1150 -1085	Não acopla diretamente com H	55 -85
ACIDOS CARBOXÍLICOS Reações de substituição nucleofílica no carbono acilo (carbonila) são características desta classe de compostos a preparação de cloreto de acila é a principal, pois a partir dele podem se obter outros derivados de ac. carboxílicos como anidridos, ésteres e amidas. Reações de ácido-base são também típicas desta classe.	Carboxila: 204	C=O: 1700 - 1800 O-H: 2500- 3300 (banda larga)	10 – 13,2	160 -175
ÉSTERES Substituição nucleofílica é a reação típica dos derivados de ácido carboxílico: hidrólise, aminólise, transesterificação, saponificação. Pode ocorrer também oxidação, redução e condensação.	207	C=O: 1700 - 1750	Não acopla diretamente com H	155 -175
ALDEÍDOS e CETONAS Reações características: adições nucleofílicas de oxidação, redução e	C=O de cetona:	Cetona C=O:		Cetona 190 -220

GRUPO FUNCIONAL & REATIVIDADE	UV nm	IV cm ⁻¹	RMN ¹ H ppm	RMN ¹³ C ppm
ALDEÍDOS e CETONAS Reações características: adições nucleofílicas de oxidação, redução e as condensações: aldólica, de Claisen, de Perkin, de Dieckmann; além de outros tipos específicos de	C=O de cetona: 188 e 279 de aldeído:	Cetona C=O: 1690 – 1870 Aldeído		Cetona 190 -220 Aldeído

A reatividade de um composto orgânico depende também do arranjo espacial dos átomos na molécula *i.e.*, a estereoquímica. No entanto, o estudo detalhado deste assunto, bem como o dos tópicos tratados neste capítulo, pode ser realizado com a leitura das obras recomendadas:

- MORRINSON, R.T.; BOYD, R. *Química Orgânica*, Lisboa, Editora Fundação Calouste Gulbenkian, 1995. 1639 p.
- MCMURRY, J. *Química Orgânica*, Vol 1, São Paulo, Editora Pioneira Thonsom Learning, 2005. 495 p.
- SOLOMONS, G.T.W.; FRYHLE, C. B. *Química Orgânica 1*, Rio de Janeiro, Editora LTC; 2001. 645 p.
- CAREY, F.A.; SUNDBERG, R.J.; *Advanced Organic chemistry – Part a: Struture and Mechanisms*; New York, Editora Plenum Press, 1990. 802 p..
- BARBOSA, L. C. DE ALMEIDA, *Introdução à Química Orgânica*, São Paulo, Editora Prentice Hall, 2004. 300 p.
- RODRIGUES, J. de ANCHIETA, *Introdução às ligações químicas*, São Carlos; Editora EdUFSCar, 2004. 77 p.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, C. G.; MORRIL, C. T.; *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*, Rio de Janeiro, Editora Guanabara, 1994. 387 p.

Referências bibliográficas 13

- ABREU JR, C.H.; MURAOKA, T.; OLIVEIRA, F.C. Cátions trocáveis, capacidade de troca de cátions e saturação por bases em solos brasileiros adubados com composto de lixo urbano. *Sci. Agric.*, 58: 813-824, 2001
- ABREU, H. dos SANTOS. *Biossíntese da Lignificação*. Itaguaí, Edur, 1994. 64p.
- ACHARD, F.K. *Crell's Chem. Ann.* 2, 391-403, 1786.
- ALBERTINI, P.E.G. Efeito da adição de resíduos das culturas de Sorghum bicolor (L) Moench. e Dolichos lablab L. sobre o carbono e o nitrogênio das frações da matéria orgânica de um Latossolo roxo. Jaboticabal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 1983. 86p. (Dissertação de Mestrado).
- ALEXANDROVA, L.V. Gumisovie veschestvo pochvi. Zapiski Leningradskogo selschogospodstvennogo institutu. T.142. Leningrado-Puschkin. 1970.
- ALIEV, S.A. Ecologia gumusoabrasovania v pochvah Azerbaidzhana, Isvestia A.N. Azerbaidzhana, 5-6: 78-82, 1970.
- ALLEN, H.L. Dissolved organic matter in lake water: Characteristics of molecular weight size fractions and ecological implications. *Oikos*, 27: 64-74, 1976.
- ALMEIDA, J. Da ideologia do progresso à idéia de desenvolvimento (rural) sustentável. In: ALMEIDA, J., NAVARRO, Z. (orgs.). *Reconstruindo a agricultura*. Porto Alegre, Editora da Universidade/UFRGS, 1998.
- ALMENDROS, G.; FRÜND, R.; GONZÁLEZ-VILA, F.J.; HAIDER, K.M.; KNICKER, H.; LÜDEMANN, H.-D. Analysis of ¹³C and ¹⁵N CP-MASNMR-spectra of soil organic matter and composts. *FEBS Lett.*, 282: 119-121, 1991.
- ALMENDROS, G.; KNICKER, H.; GONZÁLEZ-VILA, F.J. Rearrangement of carbon and nitrogen forms in peat after progressive isothermal heating as determined by solid-state ¹³C- and ¹⁵N-NMR spectroscopies. *Org. Geochem.*, 34:1559-1568, 2003.
- ALTIERI, M. Agroecology: the science of natural resource management for poor farmers in marginal environments. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 93: 1-24, 2002.
- ALTIERI, M. *Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável*. Guaíba, Editora Agropecuária, 2002. 592p.
- ALVAREZ, I.A.; CASTRO, P.R. de C.; NOGUEIRA, M.C.S. Crescimento de raízes de cana crua e queimada em dois ciclos. *Sci Agric.*, 57: 653-659, 2000.
- ALVAREZ-PUEBLA, R.A.; GARRIDO, J.J. Effect of pH on the aggregation of a gray humic acid in colloidal and solid states. *Chemosphere*, 59: 659-667, 2005.
- ALVEY, S.; BAGAYOKO, M.; NEUMANN, G.; BUERKERT, A. Cereal/legume rotations affect chemical properties and biological activities in two West African soils. *Plant Soil*, 231: 45-54, 2001.
- AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, J.; FERNANDES, S.B.V.; BAYER, C. Culturas de cobertura, acúmulo de nitrogênio total no solo e produtividade do milho. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 23: 679-686, 1999.
- AMALFITANO, C.; PIGNALOSA, V.; AURIEMMA, L.; RAMUNNI, A. The contribution of lignin to the composition of humic acids from a wheat-straw amended soil during 3 years of incubation in pots. *J. Soil Sci.*, 43: 495-504, 1992.
- AN, J.; HU, Y.; JIANG, L. Reactivity of semiquinone radical anions of hydroxyperylenequinone with oxygen. *J. Photochem. Photobiol. B.*, 33: 261-266, 1996.
- ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. Quantities of plant nutrients in microbiological biomass of selected soils. *Soil Sci.*, 130: 211-216, 1980.
- ANDRADE, H. *Solos: Origem, componentes e organização*. Lavras, UFLA/FAEPE, 2001. 134p.
- ANDREUX, F.; BECERRA, S.P. Fraccionamiento y caracterización del material húmico en algunos suelos de sabana de la Orinoquia colombiana. *Turrialba*, 25: 191-198, 1975.

- ANDREUX, F.; CERRI, C.C. Current trends in the research on soil changes due to deforestation, burning and cultivation in the Brazilian tropics. *Toxicol. Environ. Chem.*, 20: 275-283, 1989.
- AOAC. Association of official Agricultural Chemists. Methods of analysis, Banta, Menasha, Wisconsin, 1955.
- ARATO, H.D.; MARTINS, S.V.; FERRARI, S.H.S. Produção e decomposição de serrapilheira em um sistema agroflorestal implantado para recuperação de área degradada em Viçosa-MG. *Árvore*, 27: 715-721, 2003.
- ARAÚJO, A.P. Eficiência vegetal de absorção e utilização do fósforo, com especial referência ao feijoeiro. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Tópicos em Ciência do Solo, vol 1., 2000. p.163-212.
- ARAUJO, Q.R.; FIGUEIREDO, M.S.; COSTA, L.M.; LOURES, E.G.; REGAZZI, A.J.; FONTES, L.E.F.; CASALI, V.W.D. Atividade microbiana e fracionamento da matéria orgânica em um Latossolo Vermelho-Amarelo variação Uma submetido à queima e à percolação. *Ceres*, 42: 393-404, 1995.
- BACHELAR, G. Formação do espírito científico. Rio de Janeiro, Contraponto, 1996. 316p.
- BALDOCK J.A.; SKJEMSTAD, J.O. Role of the Soil Matrix and Minerals in Protecting Natural Organic Materials Against Biological Attack. *Org. Geochem.*, 31: 697-710, 2000.
- BALDOTTO, M.A.; CANELA, M.C.; CANELLAS, L.P.; VELLOSO, A.C.X. Propriedades redox de ácidos húmicos isolados de um Cambissolo sob cana-de-açúcar submetida ou não a queima na colheita. Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, Curitiba-PR, 2003. CD-ROM.
- BARD, J. Photoelectrochemistry and solar energy: progress, promise and problems. *J. Elect. Chem.*, 168: 5-20., 1984.
- BARNERJEE, S.K.; MUKHERJEE, S.K. Studies on the infrared of some divalent transitional metal humates. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 20: 91-94, 1972.
- BARROS, M.C.P.; PAULA, J.R.P. de.; REZENDE, M.O. de. Caracterização físico-química do ácido húmico de solo da ilha de Cananéia e sua interação com Fe(II), Cu (II) e Cd (II). *Química Nova*, 17: 376-380, 1994.
- BARTON, D.H.R; SCHNITZER, M. A New Experimental approach to humic acid problem. *Nature*, 198: 217, 1963.
- BASS BECKING, L.GN.; KAPLAN, I.R.; MOORE, D. Limits of the natural environment in terms of pH and oxidation-reduction potentials. *J. Geol.*, 68: 243-284, 1960.
- BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK, J.; SAAB, S.C.; MILORI, D.M.P.; BAGNATO, V.S. Tillage and cropping system effects on soil humic acid characteristics as determined by ESR and fluorescence spectroscopy. *Geoderma*, 105: 81-92, 2002.
- BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; SAAB, S.C. Diminuição da humificação da matéria orgânica de um Cambissolo em plantio direto. *Rev. Bras. Ci. Solo.*, 27:537-544, 2003.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: Santos, G. de A.; Camargo, F. A. O. (Eds) *Fundamentos da matéria orgânica: ecossistemas tropicais e subtropicais*. Porto Alegre, Gênesis, 1999. p.09-23.
- BELLAMY, L.J. The infrared spectra of complex molecules. London, Chapman and Hall, 1975. p.385-388.
- BENE, J.G.; BEALL, H.W.; CÔTÉ, A. *Trees, food and people: land management in the tropics*. Ottawa, International Development Research Centre, 1977. 52p.
- BENITES, V.M.; KER, J.C.; MENDONÇA, E.S. Fracionamento quantitativo de substâncias húmicas como auxiliar na identificação de diferentes solos da região sul do Brasil. 185-192p. In: VI Reunião de correlação, classificação e aplicação de levantamentos de solos, EMBRAPA/iac, 2000. 222p.
- BENITES, V.M.; MADARI, B.; MACHADO, P.L.O. de A. Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo: um procedimento simplificado de baixo custo. Comunicado Técnico nº 16, EMBRAPA SOLOS, 2003. 7p.
- BENITES, V.M.; SCHAEFER, C.E.G.R.; MENDONÇA, E.S.; MARTIN-NETO, L. Caracterização da matéria orgânica e micromorfologia de solos sob campos de altitude no parque estadual da Serra do Brigadeiro-MG. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 25: 661-674, 2001.
- BERTOL, I.; COGO, N.P.; LEVIEN, R. Relações de erosão hídrica com métodos de preparo do solo, na ausência e presença de cobertura por resíduo cultural do trigo. *Rev. Bras. Ci Solo*, 11: 187-192, 1987.
- BEYER, L.; CORSEN, E.; BLUME, H.P.; SCHLEUSS, U.; VOGT, B.; WU, Q. Soil organic matter composition in

- urbic anthrosols in the city of Kiel, NW Germany, as revealed by wet chemistry and CPMAS ^{13}C NMR spectroscopy of whole soil samples. *Soil Technol.*, 9: 121-132, 1996.
- BLOOM, P.R.; LETENHEER, J.A. Vibrational, electronic and high energy spectroscopy methods for characterizing humic substances. In: HAYES, M.H.B.; McCARTHY, P.; MALCOLM, R. et al., (eds). *Humic substances II: In search of structure*. New York, Wiley, 1989. P.410-446.
- BORGES, A.L. Alteração das propriedades de um Latossolo Amarelo de Cruz da Alma, Bahia, pelo cultivo com frutíferas perenes e mandioca. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP, 1993. 161p. (Tese de Doutoramento).
- BOTTOMLEY, W.B. Some effects of organic-promotion substances (auximones) on the growth of *Lema minor* in mineral cultural solutions. *Proc. Royal Soc. London Ser. B – Biol. Sci.*, 89: 481-505, 1917.
- BOYD, S.A.; SOMMERS, L.E.; NELSON, D.W. Infrared spectra of sewage sludge fraction: evidence for a amide binding site. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 43: 893-898, 1979.
- BRACDWELL, J.M.; HAIDER, K.; LARTER, S.R. Thermal degradation relevant to structural studies of humic substances. In: HAYES, M.H.B. et al. (Eds). *Humic substances II: in search of structure*, New York, Wiley, 1989. p.181-222.
- BRASIL Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 7, de 17 de maio de 1999. Dispõe sobre normas para a produção de produtos orgânicos vegetais e animais. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 19 de maio 1999. Seção 1.
- BRAVARD, S.; RIGHI, D. Characterization of fulvic and humic acids from an Oxisol-Spodosol toposequence of Amazonia, Brazil. *Geoderma*, 48: 151-162, 1991.
- BRINKMANN, W.L.F.; NASCIMENTO, J.C. de. The effect of slash and burn agriculture on plant nutrients on the Tertiary region of Central Amazonia. *Turrialba*, 23: 289-290, 1973.
- BRITO, E.C. de. *Adubação verde e sua influência em alguns atributos microbiológicos e químicos de um Argissolo Vermelho-Amarelo sob cultivo de maracujá*. Tese (Mestrado) – Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 2003. 116p.
- BROWN, L.R. *Building a sustainable society*. New York, Norton, 1981. 232p.
- BUDZIAK, C.R.; MAIA, C.M.B.F.; MANGRICH, A.S. Transformações químicas da matéria orgânica durante a compostagem de resíduos da indústria madeireira. *Quím. Nova*, 27: 399-403, 2004.
- BUKVOVA, M.; TICHY, V. The effect of humus fractions on the phosphorylase activity of wheat (*Triticum aestivum L.*). *Biol. Plant.*, 9: 401-406, 1967.
- BUSATO, J.G. *Formas de fósforo de um Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhço e adição de vinhaça por longo tempo*. Tese (Mestrado) – Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 2004. 66p.
- BUTLER, J.H. A; LADD, J.N. The effect of methylation of humic acids on their influence on proteolytic enzyme activity. *Aust. J. Soil Res.*, 7: 263-268, 1969.
- CABANISS, S.E. Synchronous fluorescence spectra of metal-fulvic acid complexes. *Environ. Sci. Technol.*, 26: 1133-1139, 1992.
- CACCO, G.; CIVELLI, G. Azione de sostanze umiche sul trasporto degli ioni nelle radici. *Riv. Agron.* 7: 127-131, 1973.
- CADE-MENUN, B.J. Characterizing phosphorus in environmental and agricultural samples by ^{31}P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Talanta*, 66: 359-371, 2005b.
- CADE-MENUN, B.J. Using phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy to characterize organic phosphorus in environmental samples em *Organic Phosphorus in the Environment*, Turner, B.L, Frossard, E. e Baldwin, O.S. editores, CAB International, Cambridge MA, EUA, 2005a. p.21-44.
- CADE-MENUN, B.J.; LIU, C.W.; NUNLIST, R.; MCCOLL, J.G. Soil and litter phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy: Extracts, metals and phosphorus relaxation times. *J. Environ. Qual.*, 31: 457-465, 2002.
- CADE-MENUN, B.J.; PRESTON, C.M. A comparison of soil extraction procedures for ^{31}P NMR spectroscopy. *Soil Sci.*, 161: 770-785, 1996.
- CALEGARI, A.; VIEIRA, M.J. Técnicas de controle de erosão. In: Castro Filho, C. de, Muzilli. *O uso e manejo dos solos de baixa aptidão agrícola*. Londrina, PR: LAPAR, 1999. p.76-87.

- CAMARGO, F.O., SANTOS, G. DE A., GUERRA, J. G. M. (1999) Macromoléculas e substâncias húmicas. In: Santos, G. de A.; Camargo, F. A. O. (Eds) *Fundamentos da matéria orgânica: ecossistemas tropicais e subtropicais*. Porto Alegre, Gênesis, p. 27-39.
- CAMERON, R. S.; THORNTON, B. K.; SWIFT, R. S.; POSNER, A. M. Molecular weight and shape of humic acid from sedimentation and diffusion measurements on fraction extracts. *J. Soil Sci.*, 23: 394-408, 1972a.
- CAMPBELL, C.A. Soil organic carbon, nitrogen and fertility. In: SCHNTTZER, M. & KHAN, S.U., Eds. *Soil Organic Matter*, Amsterdam, Elsevier, 1978. p.173-271.
- CANELLAS, L.P. *Avaliação de características físico-químicas de ácidos húmicos*. Seropédica. Tese (Doutorado em Ciências do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1999.164p.
- CANELLAS, L.P. ; SANTOS, G.A. ; GURIDI, F. ; RUMJANEK, V.; FREIRE, R.B. Compostos heterocíclicos nitrogenados em ácidos húmicos extraídos de composto de resíduo sólido urbano. *Floresta e Ambiente*, 6: 1-7, 1999.
- CANELLAS, L.P.; MORAES, A.; RUMJANEK, V.; SANTOS, G.A. Métodos Complementares. In: CAMARGO, F.A.O.; SANTOS, G.A. Fundamentos da matéria orgânica. Porto Alegre, Gênesis, 1999. p.413-435.
- CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.A.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B. Reações da matéria orgânica. In: SANTOS & CAMARGO. Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais. Gênesis. 1999. 491p.
- CANELLAS, L.P.; BERNER, P.G.; SILVA, S.G. da; SILVA, M.B.; SANTOS, G.A. Frações da matéria orgânica em seis solos de uma toposequência no Estado do Rio de Janeiro. *Pesq. Agropec. Bras.*, 35: 133-143, 2000.
- CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.; MORAES, A.A.; RUMJANEK, V. Avaliação de características de ácidos húmicos de resíduos sólidos urbanos II. métodos termodegradativos (pirólise acoplada à cromatografia gasosa -spectrometria de massas). *Rev. Bras. Ci. do Solo*, 24: 751-757, 2000.
- CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.A.; RUMJANEK, V.M.; MORAES, A.A.; GURIDI, F. Distribuição da matéria orgânica e características de ácidos húmicos em solos com adição de resíduos de origem urbana. *Pesq. Agropec. Bras.*, 36: 1529-1538, 2001a.
- CANELLAS, L.P.; GURIDI, F.; SANTOS, G. A.; RUMJANEK, V.M.; BRAZ-FILHO, R. – Aumento da resolução de espectros de ácidos húmicos em solução através do tratamento prévio com KCl 0,03 M. *Química Nova*, 24: 131-132, 2001b.
- CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L.; OKOROKOVA-FAÇANHA, A.L.; 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, 2002a.
- CANELLAS, L.P.; VELLOSO, A.C.X.; RUMJANEK, V.M.; GURIDI, F.; OLIVARES, F.L.; SANTOS, G.A. E BRAZ-FILHO, R. Distribution of the humified fractions and characteristics of the humic acids of na ultisol under cultivation of eucalyptus and sugar cane. *Terra*, 20: 371-381, 2002b.
- CANELLAS, L.P.; MORAES, A.A.; RUMJANEK, V.M.; GARCIA, M.R.; GURIDI, F.; SANTOS, G de A.; BRAZ-FILHO, R. Structural features of humic acids isolated from soils amended with urban organic residues: na elemental composition, ¹³C NMR and Py-GC/MS analysis. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 26: 333-341, 2002c.
- CANELLAS, L.P., VELLOSO, A.C.X., MARCIANO, C.R., RAMALHO, J.F.G.P., RUMJANEK, V.M., REZENDE, C. E., SANTOS, G.A. Propriedades químicas de um Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhço e adição de vinhaça por longo tempo. *Rev. Bras. Ci. do Solo*, 27: 935-944, 2003.
- CANELLAS, L.P.; ESPINDOLA, J.A.; REZENDE, C.E.; CAMARGO, P.B.; ZANDONADI, J.A.A.; RUMJANEK, V.M.; GUERRA, J.G.M.; TEIXEIRA, M.G; BRAZ-FILHO, R. Organic matter quality in a soil cultivated with perennial herbaceous legumes. *Sci. Agric.*, 61: 53-61, 2004a.
- CANELLAS, L.P.; ESPÍNDOLA, J.A.A.; GUERRA, J.G.M.; TEIXEIRA, M.G; VELLOSO, A.C.X.; RUMJANEK, V.M. Phosphorus analysis in soil under herbaceous perennial leguminous cover by nuclear magnetic resonance. *Pesq. Agropec. Bras.*, 39: 589-596, 2004b.
- CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.R. Chemical nature of soil humifiel fractions and their bioactivity. *Pesq. Agropec. Bras.*, 39: 233-240, 2004c.
- CAPORAL, F.R., COSTABEBER, A.J. Por uma nova Extensão Rural: fugindo da obsolescência. 2001, texto na internet www.agroeco.org acesso em setembro 2005

- CAPORAL, F.R.; COSTA-BEBER, J.A. Agroecologia: enfoque científico e estratégico. EMATER-RS, Porto Alegre, 2002. 4p.
- CAPRA, F. *O ponto de mutação: a ciência, a sociedade e a cultura emergente*. São Paulo, Cutrix, 1989.
- CAPRIEL, P.; HARTER, P. STEOHENSON, D. Influence of management on the organic matter of mineral soil. *Soil Sci.*, 153: 122-128, 1992.
- CARO, I. Propiedades químico-físicas de las sustancias húmicas obtenidas de vermicompost de estiércol vacuno. Tesis de maestría, La Habana. 2004. 50p.
- CARTER, C.W.; SUFFET, I.H. Binding of DDT to dissolved humic material. *Environ. Sci. Technol.*, 16: 735-740, 1982.
- CASTILHOS, R.M.V.; SANTOS, V.B.; DICK, D.P.; CATILHOS, D.D.; PAULETTO, E.A.; GOMES, A. da S.; ROSA, C.M. da. Substâncias húmicas de Planossolos hidromórfico sob diferentes sistemas de manejo. V Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, Curitiba-PR, 2003. p.124-126.
- CASTRO, C.M. de, ALMEIDA, D.L. de; RIBEIRO, R.L.; CARVALHO, J.F. Plantio direto, adubação verde e suplementação com esterco de aves na produção orgânica de berinjela. *Pesq. Agropec. Bras.*, 40: 495-502, 2005.
- CAUME, D.J. *A construção social de um outro ofício de agricultor: as estratégias tecnológicas de reprodução social do campesinato*. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado em Sociologia/UFRGS, 1992.
- CAUME, D.J. Segurança Alimentar, Reforma Agrária e Agricultura Familiar. Revista da UFG v.5, 2003. On line www.proec.ufg.br
- CEDDIA, M.B.; ANJOS, L.H.C.; LIMA, E.; RAVELLI NETO, A.; SILVA, L.A. Sistemas de colheita da cana-de-açúcar nas propriedades físicas de um Podzólico Amarelo no estado do Espírito Santo. *Pesq. Agropec. Bras.*, 34: 1467-1473, 1998.
- CELI, L.; SCHNITZER, M.; NÈGRE, M. Analysis of carboxyl group in soil humic acids by a wet chemical method. Fourier-transform Infrared Spectrophotometry, and solution-state carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance. A comparative study. *Soil Sci.*, 162: 189-197, 1997.
- CERETTA, C.A. Fracionamento de N orgânico, substâncias húmicas e caracterização de ácidos húmicos de solo em sistemas de cultura sob plantio direto. Porto Alegre, UFRGS 1995. 127 f. Tese (doutorado em Agronomia-Ciência do Solo).
- CERETTA, C.A.; MARCOLAN, A.L.; DURIGON, R.; TISOTT, A.R. Acumulo de carbono em humina, ácidos fulvicos e húmicos em três profundidades de solo com sistemas de cultura, sob plantio direto, durante seis anos. In: II ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, São Carlos-SP, Anais..., p.136, 1997.
- CERETTA, C. A.; DURIGON, R.; BASSO, C.J.; BARCELLOS, L.A.R.; VIEIRA, F.C.B. Características químicas de solo sob aplicação de esterco líquido de suínos em pastagem natural. *Pesq. Agropec. Bras.*, 38: 729-735, 2003.
- CERRI, C.C.; VOLKOFF, B. Matéria orgânica de três solos dos campos inundáveis da ilha do Marajó-PA. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 12: 93-100, 1988.
- CERRI, C.C.; VOLKOFF, B.; EDUARDO, B. Efeito do desmatamento sobre a biomassa microbiana em Latossolo Amarelo da Amazônia. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 9: 1-4, 1985.
- CHEN, J., GU, B., ROYER, R.A., BURGOS, W.D. The roles of natural organic matter in chemical and microbial reduction of ferric ion. *Sci. Total Environment*, 307: 167-178, 2003.
- 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*, Madison, Soil Science Society of America, 1990, pp.161-1186.
- CHEN, Y.; SENESI, N.: SCHNITZER, M. Information provided on humic substances by E_4/E_6 ratios. *J. Soil Sci. Soc. Am.*, 41: 352-358, 1977.
- CHERNIKOV, V.A.; KASATIROV, K.A. Derivatographic study of humic acids in soils of solonetz complex. *Pochvovedeniye*, 3: 35-40, 1977.
- CHERNIKOV, V.H.; KONCHITS, V.A. Parámetros cinéticos de la pirólisis de los ácidos húmicos aislados por diferentes técnicas. *Timiriazev Sel's Akad.*, 3: 131-141, 1978.
- CHICZ, R.M.; REGNIER, F.E. High-performance liquid chromatography: Effective protein purification by various chromatographic modes. In *Guide to Protein Purification*. M.P. Deutscher (ed.). *Methods of Enzymology*, Vol. 182. Academic Press, San Diego, 1990. pp. 392-421.

- CHUKOV, S.N. Study by ^{13}C NMR spectroscopy of humic acids and molecular parameters in anthropogenically disturbed soil. In: *International Meeting of the International Substances Society 10*, 2000. Toulouse. Proc..International Humic Substances Society, v. 2, p. 81-84, 2000.
- CIVIDANES, F.J. Efeitos do sistema de plantio e da consorciação soja-milho sobre artrópodes capturados no solo. *Pesq. Agropec. Bras.*, 37: 15-23, 2002.
- CIVIDANES, F.J., YAMAMOTO, F.T. Pragas e inimigos naturais na soja e no milho cultivados em sistemas diversificados. *Sci. Agric.* 59: 683-687, 2002.
- CLARO, S.A. Referenciais tecnológicos para a agricultura familiar ecológica – a experiência da região centro-serra do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, EMATER-RS-ASCAR, 2001. 250p.
- CLAUS, H. Laccases: Structure, Reactions, Distribution. *Micron.*, 35: 93-96, 2004.
- COATES, J.D., COUNCELL, T., ELLIS, D.J., LOVLEY, D.R. Carbohydrate oxidation coupled to Fe(III) reduction, a novel form of anaerobic metabolism. *Anaerobe*, 4: 277-282, 1998.
- COELHO, R.M. Inflúencia da vinhaça, da fertilização mineral e do cultivo em características químicas da matéria orgânica e da fração mineral de um Latossolo Vermelho-Escuro. Tese de Mestrado, UFV, 1991. 84p.
- COENEN, C.; BIERFREUND, N.; LÜTHEN, H.; NEUHAUS, G. Developmental regulation of H⁺-ATPase-dependent auxin responses in the *diageotropica* mutant of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Physiol. Plant.*, 114: 461-471, 2002.
- COLTHUP, N. B.; DALY, L. H.; WIBERLEY, S. E. *Introduction to infrared and raman spectroscopy*. New York, Academic, 1964. 511p.
- CONCEIÇÃO, M. Natureza do húmus e características de solos com elevado teor de matéria orgânica da região de Itaguaí-Santa Cruz, RJ. Tese de Mestrado. UFRRJ, 1989. 171p.
- CONSTANTIN, E.; SCHNELL, A. *Mass Spectrometry*. New York, Ellis Horwood, 1990. 184p.
- CONTE, P.; PICCOLO, A. Conformational arrangement of dissolved humic substances. Influence of solution composition on association of humic molecules. *Environ. Sci. Technol.*, 33: 1682-1690, 1999.
- CONTE, P.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A. State of the art of CPMAS ^{13}C -NMR spectroscopy applied to natural organic matter. *Progr. in Nuclear Mag. Res. Spectr.*, 44: 215-223, 2004.
- COOK, R.L. Coupling NMR to NOM. *Anal. Bioanal. Chem.*, 378: 1484-1503, 2004.
- COOK, R.L.; MC INTYRE, D.D.; LANGFORD, C.H.; VOGEL, H.J. A Comprehensive Liquid-State Heteronuclear and Multidimensional NMR Study of Laurentian Fulvic Acid. *Environ. Sci. Technol.*, 37: 3935-3944, 2003.
- COSGROVE, D.J. Cell Wall Loosening by expansins, *Plant Physiol.*, 118: 333-339, 1998.
- COSGROVE, D.J. Expansive growth of plant cell walls. *Plant Physiol. Biochem.*, 38: 109-124, 2000.
- COUTO, E.G.; RESENDE, M. Caracterização da matéria orgânica de alguns solos orgânicos e gleizados do sudoeste da Bahia. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 9: 185-191, 1985.
- COZZOLINO, A.; CONTE, P.; PICCOLO, A. Conformatinal changes of humic substances induced by some hydroxy, keto, and sulfonic acids. *Soil Biol. Biochem.*, 33:563-571, 2001.
- CUNHA, T.J.F. Ácidos húmicos de solos escuros da Amazônia. Seropédica,UFRRJ, 2005. 140p. (Tese de doutorado).
- CUNHA, T.J.F.; MOUTTA, R. de O.; BENITES, V. M.; CANELLAS, L.P.; MADARI, B. & SANTOS, G.A. Algumas características da matéria orgânica de solos antropogênicos na Amazônia Brasileira. In: V Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, Curitiba-PR, 2003a (138 - 140) Grupo Brasileiro da IHSS.
- CUNHA, T.J.F.; RIBEIRO, L.P. PALMIERI, F. SILVA, E.F. da & CONCEIÇÃO, M. Caracterização e natureza do húmus de latossolos amarelos coesos de tabuleiro na região do recôncavo baiano. *Magistra*, 15: 147-154, 2003.
- CUNHA, T.J.F.; RIBEIRO, L.P. Qualidade e relações pedogenéticas da matéria orgânica de alguns solos da região de Irecê-Ba. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 22: 693-704, 1998.
- CUNHA, T.J.F.; MACEDO, J.R., Ribeiro, L.P., Palmieri, F., Freitas, P.L., Aguiar, A.C. Impacto do manejo convencional sobre propriedades físicas e substâncias húmicas de solos sob Cerrado. *Ciência Rural*, 1:27-36, 2001.
- DABIN, B. Les matières organiques dans les sols tropicaux normalement drainés. *Cah. ORSTOM*, Ser. Pedol., 28: 197-215, 1981.
- DABIN, B. Matéria orgânica dos solos. Salvador, UFBA, 1982, p. 104 (mimeografado).

- DABIN, B. Méthode d'extraction et de fractionnement des matières humiques du sol. Application à quelques études pédologiques et agronomiques dans les sols tropicaux. *Cah. ORSTON*, Ser. Pedol., 14: 279-287, 1976.
- DANTAS, J.P. Matéria orgânica do solo. In: *Curso de atualização em fertilidade do solo*. 2. UFPB/CCA/DSER. Areia, 1986 (mimeografado).
- DAROUB, S.H.; ELLIS, B.G.; ROBERTSON, G.P. Effect of cropping and low-chemical input systems on soil phosphorus fractions. *Soil Sci.*, 166: 281-291, 2001.
- DE ALMEIDA, R. M.; POSPÍSIL, F.; VACKOVA, K.; KUTACEK, M. Effect of humic acid on the inhibition of pea choline esterase and choline α -cyltransferase with malation. *Physiol. Plant.*, 22: 167-175, 1980.
- DE HAAN, H.; JONES, R. I.; SALONEN, K. Does ionic strength affect the configuration of aquatic humic substances, as indicated by gel filtration? *Freshwater Biol.*, 17:453-459, 1987.
- DE NOBILI, M.; GJESSING E.; SEQUI, P. Sizes and shapes of humic substances by gel chromatography. In *Humic Substances II. In Search of Structure*. M.H.B. Hayes, P. McCarthy, R. L. Malcolm and R.S. Swift (eds.). New York, Wiley, 1989. pp. 562-587.
- DE SAUSSURE, T. *Recherches chimiques sur la vegetation* (Paris, France) (1804).
- DELGADO, A.A. Os efeitos da queima do canavial. *STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos*, 3:42-45, 1985.
- DELL'AGNOLA, G.; FERRARI, G.; NARDI, S. Antidote action of humic substances on atrazine inhibition of sulfate uptake in barley roots. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 15: 101-104, 1981.
- DEMÉTRIO, R.; GUERRA, J.G.M.; SANTOS, G.A.; ALMEIDA, D.L.; DE-POLLI, H.; CAMARGO, F.A.O. Absorção de nitrogênio do solo pelo milho influenciada pela adição de diferentes resíduos de culturas. *Pesq. Agrop. Bras.*, 33: 481-486, 1998.
- DETWILLER, R.P. Land use changes and the global carbon cycle: the role of tropical soils. *Biogeochem.*, 2: 67-93, 1986.
- DHARMASIRI N, DHARMASIRI S, ESTELLE M The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature*, 435: 441-443, 2005.
- DIALLO, M. S.; SIMPSON, A.; GASSMAN, P.; FAULON, J. L.; JOHNSON, J. H., JR.; GODDARD, W. A., III; HATCHER, P. G.; 3-D Structural Modeling of Humic Acids through Experimental Characterization, Computer Assisted Structure Elucidation and Atomistic Simulations. 1. Chelsea Soil Humic Acid. *Environ. Sci. Technol.*, 37: 1783-1793, 2003.
- DICK, D.P.; BURBA, P.; HERZOG, H. influence of extractant and soil type on molecular characteristics of humic substances from two Brazilian soils. *J. Braz. Chem. Soc.*, 10:140-145, 1999.
- DICK, D.P.; MANGRICH, A.S.; MENESSES, S.M.C.; PEREIRA, B.F. Chemical and Spectroscopical Characterization of Humic Acids from two South Brazilian Coals of Different Ranks. *J. Braz. Chem. Soc.*, 13: 177-182, 2002.
- DÖBEREINER, J.W. *Phytochemie*, 64 1822.
- DOMERGUES, Y.; MANGENOT, F. *Ecologie microbienne du sol*. Paris:Masson, 1970, 766p.
- DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W., COLEMAN, D.C., BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A., eds. *Defining soil quality for a sustainable environment*. Madison, Soil Science Society of America, 1994. p.3-21. (Special publication, 35)
- DUARTE, A. P. Calagem e sistemas de rotação de culturas: efeitos nas características e propriedades da matéria orgânica do solo. Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, 1994. 165 p. (tese de Mestrado).
- DUBACH, P.; MEHTA, N.C.; JAKAB, F.; MARTIN, F.; ROULET, N. Chemical investigation of soil humic substances. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 28: 1567-1578, 1964.
- DUCHAUFOU, Ph. *Pédologie* 1. *Pédogenèse et classification*. Massa Ed. Paris, 1977. 477p.
- DUCHAUFOUR, Ph. *Humification et écologie*. Cah. ORTOM. Sér. Pédol. N.4, 1970.
- DUCHAUFOUR, Ph. *Pédogenèse et classification*. In: DUCHAUFOUR, Ph.; SOUCHIER, B., eds. *Pedologie*, Paris, 1977. v.1. 478p.
- DUDA, G.P.; GUERRA, J.G.M.; MONTEIRO, M.T.; DE-POLLI, H.; TEIXEIRA, M.G. Perennial herbaceous legumes as live soil mulches and their effects on C, N and P of the microbial biomass. *Sci. Agric.*, 60:139-147, 2003.
- DUNNIVANT, F.M.; SCHWARZENBACH, R.P.; MACALADY, D.L. Reduction of substituted nitrobenzenes in

- aqueous solutions containing natural organic matter. *Environ. Sci. Technol.*, 26: 2133-2141, 1992.
- DURIGON, R.; CERETTA, C.A.; BASSO, C. J.; BARCELLOS, L.A.R.; PAVINATO, P. S. Produção de forragem em pastagem natural com o uso de esterco líquido de suínos. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 26: 983-992, 2002.
- EMBRAPA. Sistemas de produção com plantas perenes em consórcio duplo para o trópico úmido brasileiro – Resultados preliminares. Belém, Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido, 117p. 1981.
- ENGEBRETSON, R.; AMOS, T.; YON WANDRUSZKA, R. Quantitative approach to humic acid associations. *Environ. Sci. Technol.*, 30: 390-397, 1996.
- ENGEBRETSON, R.; VON WANDRUSZKA, R. Microorganization in dissolved humic acids. *Environ. Sci. Technol.*, 28: 1934-1941, 1994.
- ENGEBRETSON, R.; VON WANDRUSZKA, R. The effect of molecular size on humic acid associations. *Org. Geochem.*, 26:759-767, 1997.
- ESPINOLA, J.A.A. *Avaliação de leguminosas herbáceas perenes usadas como cobertura viva do solo e sua influência sobre a produção da bananeira (Musa spp.)*. Tese (Doutorado) – Seropédica-RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, 2001. 144p.
- EVANGELOU, V.P.; MARSI, M.; CHAPELL, M.A. Potentiometric-spectroscopic evaluation of metal-ion complexes by humic fractions extracted from corn-tissue. *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectr.*, 58: 2159-2175, 2002.
- EVANS, J.N.S. Biomolecular NMR Spectroscopy. London, Oxford University Press, 1995. p.36.
- FAÇANHA, A.R.; DE MEIS, L. Reversibility of H⁺-ATPase and H⁺-Pyrophosphatase in tonoplast vesicles from maize coleoptiles and seeds. *Plant Physiol.*, 116: 1487-1495, 1998.
- FAÇANHA, A.R.; FAÇANHA, A.L.O.; OLIVARES, F.L.; GURIDI, F.; SANTOS, G.A.; VELLOSO, A.C.X., RUMJANEK, V.M.; BRASIL F.; SCHRIPSEMA, J.; BRAZ-FILHO, R.; OLIVEIRA, M.A.; CANELLAS, L.P. Bioatividade de ácidos húmicos: efeito sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. *Pesq. Agropec. Bras.*, 37: 1301-1310, 2002.
- FARMER, V.C.; SKJEMSTAD, J.O.; THOMPSON, C.H. Gênesis of húmus B horizons in hydromorfic húmus podzols. *Nature*, 304: 342-344, 1983.
- FEARNSINDE, P.M. Amazonian deforestation and global warming: carbon stocks in vegetation replacing Brazil's Amazon forest. *Forest Ecol. Manag.*, 80: 21-34, 1996.
- FERNANDES, F.A. Matéria orgânica e características físicas e químicas de podzóis Hidromórficos no Pantanal Mato-Grossense: alterações pelo uso com pastagens cultivadas. Piracicaba: CENA/USP, 1993. 74p. (dissertação de Mestrado).
- FERNANDES, F.A.; CERRI, C.C.; FERNANDES, A.H.B.M. Alterações na matéria orgânica de um podzol hidromórfico pelo uso com pastagens cultivadas no pantanal Mato-Grossense. *Pesq. Agropec. Bras.*, 34: 1943-1951, 1999.
- FERREIRA, L.M. As interações entre a fração mineral e a fração orgânica em solos da região de Bauru-SP. São Paulo, Universidade de São Paulo, 1977. 214p. (Tese de Doutorado).
- FIGUEIREDO, V. *A produção social da tecnologia*. São Paulo, EPU, 1989.
- FLAIG, W. BEUTELSPACHER, H.; RIETZ, E. Soil components: Vol. I. Organic components. Berlim, Springer-Verlag. 1975.
- FLAIG, W. Generation of model chemical precursors. In: FRIMMEL, F.H.; CHRISTMAN, F. Eds. *Humic substances and their role in the environment*, Wiley, New York, 1988, pp. 75-92.
- FLAIG, W.; BEUTELSPACHER, H.; RIETS, E. Chemical composition and physical properties of humic substances. In *Soil Components*, Vol. 1. J.E. Gieseking (ed.). Berlin, Springer-Verlag, 1975. pp. 1-219.
- FLEXOR, J.M.; VOLKOFF, B. Distribution de l'isotope stable ¹³C dans la matière organique d'un sol ferrallitique de l'Etat de Bahia (Brésil). *Comp. R. Hebd. Séanc. Acad. Sci., Ser. D*, 284: 1655-1657, 1977.
- FORTUM, C.; LOPEZ-FANDO, C. Influencia del ácido húmico sobre la nutrición mineral y el desarrollo radicular de plantas de maíz cultivadas en soluciones nutritivas normales y carentes de Fé y Mn. *An. Edafol. Agrobiol.*, 41: 335-349, 1982.
- FRANCIOSO, O.; CIAVATTA, C.; TUGNOLI, V. Spectroscopic characterization of pyrophosphate incorporation during extraction of peat humic acids. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 62: 181-187, 1998.

- FREDRICKSON, J.K.; GORBY, Y.A. Environmental process mediated by iron-reducing bacteria. *Environ. Biotechnol.*, 7: 287-294, 1996.
- FREIXO, A.; CANELLAS, L.P.; MACHADO, P. L.A. Propriedades estruturais da matéria orgânica leve livre e intra-agregados de dois latossolos sob plantio direto e preparo convencional. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 26: 445-453, 2002.
- FREIXO, A.A.; CONCEIÇÃO, M.; CUNHA, T.J.F.; SAAB, S. da C.; MARTIN-NETO, L. Estudo comparativo do húmus de quatro solos orgânicos do estado do Rio de Janeiro. In: II ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS. São Carlos-SP, 1997. p.124.
- 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.; SERRANO, R. A major isoform of the maize plasma membrane H⁺-ATPase: Characterization and induction by auxin in coleoptiles. *Plant Cell*, 8: 1533-1544, 1996.
- FRIMMEL, F.H.; CHRISTMAN, R.F. Humic substances and their role in the environment. New York, John Wiley and Sons, 1988.
- FUKUSHIMA, M.; TATSUMI, K. Light acceleration of iron (III) reduction by humic acid in the aqueous solution. *Colloids and Surfaces*, 155: 249-258, 1999.
- GAMA, M.A.P. *Dinâmica do fósforo em solo submetido a sistemas de preparos alternativos ao de corte e queima no noroeste paranaense*. Tese (Doutorado) - Piracicaba-SP, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ, 2002. 96p.
- GARCÉS, N. Características actuales del humus de los principales tipos de suelos de Cuba. Tesis de Ph.D., Nitra, Checoslovaquia. 1987. 150p.
- GARCÉS, N.; SAVICH V.I. Características físico-químicas de los ácidos húmicos de algunos tipos de suelos de Cuba. I Datos de las investigaciones espectroscópicas. *Revista CNIC*, 7: 349-363, 1976.
- GARCÉS, N.; SAVICH, V.I. Cálculos termoquímicos para la caracterización de las sustancias húmicas de los suelos. *Memorias del 5to. Seminario Científico del CNIC*. Ed. Orbe. 1975.
- GENRO FILHO, A. *Marxismo, filosofia profana*. Porto Alegre, Tchê, 1986. pp. 49-80.
- GHOSH, K.; MUKHERJEE, S.K. Hymatomelanic acids as polyelectrolytes: 1. Viscosimetric and osmometric studies. *J. Appl. Polym. Sci.*, 15:2073-2077, 1971.
- GHOSH, K.; SCHNITZER, M. Macromolecular structures of humic substances. *Soil Sci.*, 129:266-276, 1980.
- GHOSH, K.; SCHNITZER, M. UV and visible absorption spectroscopic investigations in relation to macromolecular characteristics of humic substances. *J. Soil Sci.*, 30: 735-745, 1979.
- GLASSTONE, S. *Thermodynamics for Chemists*. La Habana, Ed. Revolucionaria, 1975.
- GOLDENBERG, M. *A arte de pesquisar*. São Paulo, Record, 2001. 108p.
- GOMES, J.B.V.; RESENDE, M.; REZENDE, S.B. de; MENDONÇA, E. de SÁ. Solo de três áreas de restinga. II. Dinâmica de substâncias húmicas, ferro e alumínio. *Pesq. Agropec. Bras.*, 33: 1921-1932, 1998.
- GONÇALVES, C.N.; DALMOLIN, R.S.D.; DICK, D.P.; KNICKER, H.; KLAMT, E.; KÖGEL-KNABER, I. The effect of 10% treatment on the resolution of CPMAS 13C NMR spectra and on the quality of organic matter in Ferrasols. *Geoderma*, 116: 373-392, 2003.
- GOTTLIEB, O.R.; BRAZ-FILHO, R.; CRAVEIRO, A.A. introducción a la espectrometria de masa de sustancias orgánicas. Washington, OEA, 1983. 138p.
- GRAZIANO, J.G. da. *A modernização dolorosa: estrutura agrária, fronteira agrícola e trabalhadores rurais no Brasil*. Rio de Janeiro, Zahar, 1981.
- GREENLAND, D.J. Interaction between clays and organic compounds in soil. 2. Adsorption of soil organic compounds and its effect on soil properties. *Soil Fert.*, 28: 232-251, 1965.
- GRIFFITH, S.M.; SCHNITZER, M. Analytical characteristics of humic and fulvic acids extracted from tropical volcanic soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 39: 861-867, 1975.
- GROSSMAN, J.M. Exploring farmer knowledge of soil process in organic coffee systems of Chiapa, Mexico. *Geoderma*, 111: 267-287, 2003.
- GUERASIMOV, Y.A.; DREVING V.; ERIOMIN, E.; KISELIOV, A.; LEVEDEV, V.; PANCHENKOV, G.; SHLIGUIN, A. *Curso de Química Física*. MIR, Moscú. 1971.

- GUMINSKI, S. Present days view on physiological effects induced in plant organisms by humic compounds. *Sov. Soil Sci.*, 9: 1250-1255, 1968.
- GUMINSKI, S.; SULEJ, J.; GLABISZEWSKI, J. Influence of sodium humate on the uptake of ions by tomato seedlings. *Acta Soc. Bot. Pol.* 52: 149-164, 1983.
- GURIDI, F. *O fósforo, a matéria orgânica e a micorriza no Cafeeiro (Coffea arabica L.)*. Seropédica. 2000. 108 f. Tese (Doutorado em Ciências do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2000.
- HAGER, A.; DEBUS, G.; EDEL, H.G.; STRANSKY, H.; SERRANO, R. Auxin induces exocytosis and rapid synthesis of a high-turnover pool of plasma-membrane H⁺-ATPase. *Planta*, 185: 527-537, 1991.
- HATTORI, T.; YONEBAYASHI, K. Surface-active properties of soil humic acids. *Sci. Total Environ.*, 62: 55-64, 1987.
- HAYASE, K.; TSUBOTA, H. Sedimentary humic and fulvic acid as surface active substances. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 47: 947-952, 1983.
- HAYES, M.H.; MALCOLM, R. Consideration of composition and aspects of the structures of humic substances. In: HAYES, M.H.; MALCOLM, R. (eds.) *Humic substances and chemical contaminants*. Madson: Soil Science Society of America, 2001. p. 3-39.
- HAYES, M.H.B.; MACCARTHY, P.; MALCOLM, R.; SWIFT, R.S. Humic substances II. In search of structure. New York, Wiley, 1989. 764p.
- HECHT, S.B. A evolução do pensamento agroecológico. In: Altieri, M. *Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável*. Guaíba, Editora Agropecuária, 2002. p.21-51.
- HEMPFLING, H.; SCHULTEN, H.-R. Chemical characterization of organic matter in forest soil by curie point pyrolysis-GC-MS and pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Org. Geochem.*, 15: 131-145, 1990.
- HERNANDEZ, M. E.; NEWMAN, D.K. Extracellular electron transfer. *Cel. and Mol. Life Sci.*, 58: 1562-1571, 2001.
- HETIER, J.M. Formation et evolution des andosols en climat tempéré. Nancy, Université de Nancy, 1975. 194p.
- HOLZHEY, C.S.; DANIELS, R.B.; GAMBLE, E.E. Thick Bh horizons in the North Carolina Coastal Plain: II. Physical and chemical properties and rates of organic additions from surface sources. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 39:1182-1187, 1975.
- HSU, J.H.; LO, S.L. Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformations during composting of pig manure. *Environmental Pollution*, 104:189-196, 1999.
- HUE, A. Y.; DURAND, B. M. Occurrence and significance of humic acids in ancient sediments. *Fuel*, 56: 73-80, 1977.
- HUSS, M.; INGENHORST, G.; KÖNIG, S.; GABEL, M.; DRÖSE, S.; ZEECK, A.; ALTENDORF, K.; WIECZORE, H. Concanamycin A, the Specific Inhibitor of V-ATPases, Binds to the Vo Subunit c. *J. Biol. Chem.*, 277: 40544-40548, 2002.
- INBAR, Y.; CHEN, Y.; HADAR, Y. Solid-state carbon-13 nuclear magnetic resonance and infrared spectroscopy of composted organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 53: 1695-1701, 1989.
- INMAM, J.C.; STRACHAN, S.D.; SOMMERS, L.; NELSON, D.W. The decomposition of phthalate esters in soil. *J. Environ. Sci. Health*, 19: 245-257, 1984.
- International Conference on Land Degradation and Meeting of the IUSS Subcommission C - Soil and Water Conservation (3.: 2001 : Rio de Janeiro, RJ, Brazil). Proceedings ... Rio de Janeiro : Embrapa Solos, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (SBCS), 2002.
- ISLAM, K. R.; WEIL, R.R. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. *Agr. Ecosys. Environ.*, 79: 9-16, 2000.
- JACQUIN, F.; HAIDOUTI, C.; MULLER, J.C. Dynamique de la matière organique de sols carbonates cultivés. *Science Sol*, 1: 27-36, 1980.
- JAHN T.; BALUSKA F.; MICHALKE, W.; HARPER, J.F.; VOLKMANN, D. Plasma membrane H⁺-ATPase in the root apex: Evidence for strong expression in xylem parenchyma and asymmetric localization within cortical and epidermal cells. *Physiol. Plant.*, 104: 311-316, 1998.
- JENKINSON, D.S. The Rothamsted long-term experiments: Are they still of use? *Agron. J.*, 83: 2-10, 1991.
- KAGEYAMA, Â., GRAZIANO, J.G. Produtividade e emprego na agricultura brasileira. In: BELUZZO, Luiz

- Gonzaga. *Desenvolvimento capitalista no Brasil*. São Paulo, Brasiliense, 1983.
- KALBITZ, K.; GEYER, W.; GEYER, S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances: a reflection of land use history in fen area. *Biogeochem.*, 47: 219-238, 1999.
- KAPPLER, A.; BENZ, M.; SCHINK, B.; BRUNE, A. Electron shuttling via humic acids in microbial iron (III) reduction in a freshwater sediment. *FEMS Microbiology Ecol.*, 47: 85-92, 2004.
- KAWASAKI-NISHI, S.; NISHI, T.; FORGAC, M. Proton translocation driven by ATP hydrolysis in V-ATPases. *FEBS*, 545: 76-85, 2003.
- KEELING, A.A., MULLET, J.A.J; PATON, I.K. CG-mass spectrometry of refuse-derived composts. *Soil Biol. Biochem.*, 26: 773-776, 1994.
- KELLY, M.O.; BRADFORD, K.J. Insensitivity of the *diageotropica* tomato mutant to auxin. *Plant Physiology*, 82: 713-717, 1986.
- KEUM, Y., LI, Q.X. Reduction of nitroaromatic pesticides with zero-valent iron. *Chemosphere*, 54: 255-263, 2004.
- KHAN, S.U.; SCHNITZER, M. The retention of hydrophobic organic compounds by humic acid. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 36: 745-754, 1972.
- KIM, S.; PICARDAL, F.W. Enhanced anaerobic biotransformation of carbon tetrachloride in the presence of reduced iron oxides. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18: 2142-2148, 1999.
- KIREEV, V. *Curso de Físico-Química*. Ed. Cártago. 1969.
- KLINGE, H.; RODRIGUES, W.A. Litter production in area of Amazonian terra firme forest. I. Litter-fall, organic carbon and total nitrogen contents of litter. *Amazônia*. Kiel, 1(4):95-98, 1968.
- KLINGE, H.; RODRIGUES, W.A.; BRUNIG, E.; FITTKAU, E.J. Biomass and structure in a central amazonian rain forest. In: GOLLEY, F.B.; MEDINA, E. Ed. *Tropical ecological systems trends in terrestrial and aquatic research*. New York, Springer-Verlag, p.115-122 (Ecological Studies, v.11), 1975.
- KÖGEL-KNABER, I. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.*, 34: 139-162, 2002.
- KÖGEL-KNABER, I.; ZECH, W.; HATCHER, P.G. Chemical composition of the organic matter in forest soil II. The humus layer. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 151: 331-340, 1988.
- KOMISSAROV, I.D.; KLIMOVA, A.A. Effect of humic acids on biocatalytic process. *Nauch Tr. Pyumenskogo Sel'skokhoz. Inst.*, 14: 225-242, 1979. (Chem. Abstr., 79: 102832w)
- KONONOVA M.M. 1966. *Soil organic matter*. Pergamon Press.
- KONONOVA, M.M. *Matéria orgânica del suelo: su naturaleza, propiedades y métodos de investigación*. Barcelona, Oikos-Tou. 1982. 365p.
- KONONOVA, M.M. Transformations of organic matter and their relation to soil fertility. *Sov. Soil Sci.*, 8: 1047-1057, 1968.
- KORSHIN, G.V.; LI, C.W., BENJAMIN, M.M. Monitoring the properties of natural organic matter through UV spectroscopy: A consistent theory. *Water Res.*, 31: 1787-1795, 1997.
- KRISTEVA, L. A.; LUKÝANENKO, R. Role of physiologically active substances in the soil-humic acids, bitumes and vitamins B, C, P-P e D in the life of plants and their replenishment. *Sov. Soil Sci.*, 23: 1137-1141, 1962.
- KROSSHAVN, M.; KOGEL-KNABER, I.; SOUTHON, T. E. The influence of humus fractionation on the chemical composition of soil organic matter studied by solid-state ^{13}C NMR. *J. Soil Sci.*, 43: 473-483, 1992.
- KUÈERÍK, J. Study of lignite humic acids. Tesis de Dr., Universidad Tecnológica de Berno, Rep. Checa. 2004.
- KUHN, T. *A Estrutura das Revoluções Científicas*. São Paulo, Perspectiva, 1972.
- KUKKADAPU, R.K.; ZACHARA, J.M.; SMITH, S.C.; FREDRICKSON, J.K.; LIU, C. Dissimilatory bacterial reduction of Al-substituted goethite in subsurface sediments. *Geochim. Cosm. Acta*, 65: 2913-2924, 2001.
- KUWATSUKA, S.; TSUTSUKI, K.; KUMADA, K. Chemical studies on soil humic acid I. Elementary composition of humic substances. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 24: 337-347, 1978.
- LABRADOR MORENO, J. *La matéria orgánica en los agrosistemas*. Madri, Ministéria Agriculitura, 1996. 176p.
- LAMIN, S.S.M.; JORDÃO, C.P.; BRUNE, W. Chemical and physicochemical characterization of vermicompost from bovine manure and evaluation of competitive retention of copper and zinc. *Química Nova*, 21: 278-283, 1998
- LANDGRAF, M.D.; ALVES, M.R.; SILVA, S.C. Caracterização de ácidos húmicos de vermicomposto de esterco

- bovino compostado durante 3 e 6 meses. *Química Nova*, 22: 483-486, 1999.
- LEE, Y.S.; BARTLETT, R. J. Stimulation of Plant growth by humic substances. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 40: 876-879, 1976.
- LEENHEER, J.A.; NOYES, T.I. Derivatization of humic substances for structural studies, In: HAYES, M.H.B.; MACCARTHY, P.; MALCOLM, R.L. AND SWIFT, R.S. Eds., *Humic Substances II: Search of Structure*, John Wiley, p.257-289, 1989.
- LEEUW, J.W.; LEER, E.W.B.; SINNINGHE-DAMSLÉ, J. Screening of anthropogenic compounds in polluted sediments and soil by flash evaporation/pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 58: 1852-1857, 1986.
- LEIBIG, J.V. *Organic chemistry in its applications to agriculture and physiology*, Trans. Webster, J.W. and Owen, J. Cambridge, UK, 1841.
- LEINWEBER, P.; BLUMENSTEIN, O; SHULTEN, H.-R. Organic matter composition in sewage sludge farm-soils investigations by ^{13}C NMR and pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Eur. J. Soil Sci.*, 47: 71-80, 1996.
- LESCURE, J.P.; PUIG, H.; RIERA, B.; BEEKMAN, F.; BENETEAU, A.; LECLERC. La phytomasse épigée de la forêt dense en Guyane Française. In: SCHIRLE, A. et al., Ed. L'ecosystème forestier guyanais. Etude et mise en valeur. Cayenne, ORSTOM, p. 77-118. (Bulletin de liaison du group de travaux, n° 6), 1982.
- LEVESQUE, M.; SCHNITZER, M. Electron-spin resonance as a guide to the degree of humification os peats. *Soil Sci.*, 127: 140-145, 1979.
- LIGHT, T.S. Standard solution for redox potential measurements. *Anal. Chem.*, 44: 1038-1039, 1972.
- LIMA, H.N. Gênese, Química e Micromorfologia de solos da Amazônia Ocidental. Tese de Doutorado, UFV-MG, 2001. 176p.
- LINDQUIST, I. Adsorption effects in gel filtration of humic acids. *Acta Chem. Scand.*, 21: 2564-2566, 1967.
- LINDSAY, W.L. *Chemical equilibria in soils*. New York, Wiley, 1979. 449p.
- LINEHAN, D. Some effect of a fulvic component of soil organic matter on the growth of of cultured excised tomato roots. *Soil Biol. Biochem.*, 8: 511-517, 1976.
- LISIAK, M.J. the effect of sodium humate on the content of different types of phosphorus compounds on the activity of acid phosphatases in tomato seedlings. *Acta Soc. Bot. Pol.* 53: 385-398, 1984.
- LOBARTINI, J.C.; TAN, K.H. differences in humic acids characteristics as determined by carbon-13 nuclear magnetic resonance, scanning electron microscopy and infrared analysis. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 52: 125-130, 1988.
- LOMBARTINI, J.C.; ORIOLI, G.A. Las sustâncias húmicas y la nutrición vegetal. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 101:201-209, 1996.
- LONGO, J.V. Fracionamento e caracterização de substâncias húmicas em materiais de solos. UFV-Viçosa-MG, 1982 (tese de Mestrado), 66p.
- LONGO, R.M.; ESPÍNDOLA, C.R. C-orgânico, N-total e substâncias humicas sob influencia da introdução de pastagens (Brachiaria sp.) em áreas de cerrado e floresta amazônica. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 24: 723-729, 2000
- LORENZ, K.; PRESTON, C.M., Raspe, S. Litter decomposition and humus characteristics in Canadian and German spruce ecosystems: information from tannin analysis and ^{13}C CPMAS-NMR. *Soil Biol. Biochem.*, 32: 779-792, 2000.
- LOVLEY, D. Microbial Fe (III) reduction in subsurface environments. *FEMS Microbiology Ver.*, 20: 305-313, 1997.
- LOVLEY, D.R.; COATES, J.D.; BLUNT-HARRIS, E.L.; PHILLIPS, E.J.P.; WOODWARD, J.C. Humic substances as electron acceptors for microbial respiration. *Nature*, 382: 445-448, 1996.
- LOVLEY, D.R.; KASHEFI, K.; VARGAS, M.; TOR, J.M.; BLUNT-HARRIS, E.L. Reduction of humic substances and Fe(III) by hyperthermophilic microorganisms. *Chem. Geol.*, 169: 289-298, 2000.
- LOVLEY, D.R.; WOODWARD, J.C.; BLUNT-HARRIS, E.L.; HAYES, L.; PHILLIPS, E.J.P.; COATES, J.D. Humic substances as mediator for microbially-catalyzed metal reduction. *Acta Hidrochim. Hydrobiol.*, 26: 152-157, 1998.
- LOWER, S.K. Free energy of sulfur in various oxidation states. *J. Chem.*, 54: 485-498, 1977.
- MAATHUIS, F.J.M.; FILATOV, V.; HERZYK, P.; KRIJGER, G.C.; AXELSEN, K.B.; CHEN, S.X.; GREEN, B.J.; LI, Y.; MADAGAN, K.L.; SANCHEZ-FERNANDEZ, R.; FORDE, B.G; PALGREN, M.G; REA, P.A.; SANDERS,

- D.; AMTMANN, A. Transcriptome analysis of root transporters reveals participation of multiple gene families in the response to cation stress. *Plant J.*, 35: 675-692, 2003.
- MacCALLISTER, D.L.; CHIEN, W.L. Organic carbon quality and forms as influenced by tillage and cropping sequence. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 31: 465-479, 2000.
- MACCARTHY, P.; RICE, J.A. Spectroscopic methods (other than NMR) for determining functionality in humic substance. In: AIKEN, G.R.; MCKINGHT, D.M.; WERSHAW, eds. *Humic substances in soil, sediment, and water*. New York, J. Wiley, 1985. p. 527-559.
- MAESHIMA, M. Vacuolar H⁺-pyrophosphatase. *Biochim. Biophys. Acta*, 1465: 37-51, 2000.
- MAESHIMA, M.; YOSHIDA, S. Purification and properties of vacuolar membrane proton-translocating inorganic pyrophosphatase from mung bean. *J. Biol. Chem.*, 264: 20068-20073, 1989.
- MAGDOFF, F. Qualidade e manejo do solo. In: Altieri, M. *Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável*. Guapé: Editora Agropecuária, 2002. p.519-542.
- MAHIEU, N.; POWLSON, D.S.; RANDALL, E.W. Statistical analysis of published carbon-13 CPMAS NMR spectra of soil organic matter Source. *Soil Sci. Am. J.*, 63: 307-319, 1999.
- MAILLARD, L.C. Genèse des Matières portéiques et des matière humiques: action de la glycérine et des sucres sur les acides a-aminés. *C.R. Acad. Sci.*, 156/148, 1913. 220p.
- MANARINO, R.P.; VOLKOFF, B.; CERRI, C.C. Comparação do húmus de capoeira de floresta natural em Latossolos Amarelos da região Amazônica, Brasil. In: Anais do Colóquio Regional Sobre Matéria Orgânica do Solo. Piracicaba, SP, p.51-57, 1982.
- MANGRICH, S.A.; LOBO, M. A.; TANCK, C.B.; WYPYCH, F.; TOLEDO, E.B.S.; GUIMARÃES, E. Criterious preparation and characterization of earthworm-compost in view of animal waste recycling. Part 1. Correlation between chemical, thermal and FTIR spectroscopic analyses of four humic acids from earthworm composted animal manure. *J. Braz. Chem. Soc.*, 11: 164-169, 2000.
- MANZATTO, H.R.H. Dinâmica da matéria orgânica em solos Glei pouco húmico cultivado com arroz inundado no Vale do São João-RJ. UFRRJ. Rio de Janeiro. 1990. 143p. (tese de mestrado).
- MAO, J.D., HUNDAL, L.S., SCHMIDT-ROHR, K. E THOMPSON, M.L. *Environ. Sci. Technol.*, 37: 1751-1757, 2003.
- MAO, J.D.; XING, B.; SCHMIDT-ROHR, K. New structural information on a humic acid from two-dimensional ¹H-¹³C correlation solid-state nuclear magnetic resonance. *Environ. Sci. Technol.*, 35: 1928-1934, 2001.
- MARBOT, R. Pirólisis analítica de sustancias húmicas. Centro Nacional de Investigación científica, Dirección de Química, Centro de Productos Naturales. La Habana (Tesis de Doutoramento), 1999. 150p.
- MARCHIORI JÚNIOR, M.; MELO, W.J. de. Alterações na matéria orgânica e na biomassa microbiana em solos de mata natural submetido a diferentes manejos. *Pesq. Agropec. Bras.*, 35: 1177-1182, 2000.
- MARSCHNER, B.; KALBITZ, K. Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma*, 113: 211-235, 2003.
- MARTIN NETO, L.; VIEIRA, E.M.; SPOSITO, G. Mechanism of atrazine sorption by humic acid: a spectroscopic study. *Environ. Sci. Technol.*, 28: 1867-1873, 1994.
- MARTIN, F.; GONZALEZ-VILA, F.; ALMENDROS, G. Diborane reduction of humic substances. *Sci. Total Environm.*, 62: 121-128, 1987.
- MARTINE, G; GARCIA, R.C. *Os impactos sociais da modernização agrícola*. São Paulo, Caetés, 1987.
- MARTINS, P.F. da S. Consequências do desmatamento sobre o solo de um ecossistema de terra firme da amazônia oriental. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP, 1987. 231p. (Tese de Doutoramento).
- MARTINS, P.F.S.; CERRI, C.C.; VOLKOFF, B.; ANDREUX, F. Consequências do cultivo e do pousio sobre a matéria orgânica do solo sob floresta natural na Amazônia Oriental. *Acta Amazônica*, 2: 19-28, 1990.
- MARTY, F. Plant Vacuoles. *Plant Cell*, 11: 587-599, 1999.
- MARX, K. *O capital: crítica da economia política (livro 1)*. Rio de Janeiro, Civilização Brasileira, 1971, 465p.
- MATO, M.C.; OLMEDO, M.G; MÉNDEZ, J. Inhibition of Indoleacetic acid-oxidase by soil humic acids fractioned on sephadex. *Soil Biol. Biochem.*, 4: 469-473, 1972.
- MATTHIESSEN, A. Determining the redox capacity of humic substances as a function of pH. *Vom Wasser*, 84:

- 229-235, 1995.
- MAUREL, C. Aquaporins and water permeability of plant membranes. *Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 399-429, 1997.
- MAZOYER, M. ROUDART, L. *Histoire des Agricultures du Monde; du néolithique à la crise contemporaine*. Paris, Ed Seuil, 1997. 534p.
- McCULLY, M. E. Roots in soil: unearthing the complexities of roots and their rhizospheres. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.*, 50: 695-718, 1999.
- MCDOWELL, R.W.; STEWART, I. An improved technique for the determination of organic phosphorus in sediments and soils by ^{31}P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Chem. Ecol.*, 21: 11-22, 2005.
- MEDIEN, H.A.A.; ZAHRAN, A.A. Spectrophotometric kinetic and determination of quinones and barbiturates. *Spectrochimica Acta*, 57: 2505-2511, 2001.
- MELLO, S.C.; VITTI, G.C. Desenvolvimento do tomateiro e modificações nas propriedades do solo em função da aplicação de resíduos orgânicos, sob cultivo protegido. *Hort. Bras.*, 20: 199-206, 2002.
- MELO, W.J.; MARQUES, M.O. SANTIAGO, G.; CHELLI, R.A.; LEITE, S.A.S. Efeito de doses crescentes de lodo de esgoto sobre frações da matéria orgânica e CTC de um Latossolo cultivado com cana-de-açúcar. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 18: 449-455, 1994.
- MENDONÇA, E.S. Oxidação da matéria orgânica e sua relação com diferentes formas de alumínio de Latossolos. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 19: 25-30, 1995.
- MENDONÇA, E.S.; ROWELL, D.L. Dinâmica do alumínio e de diferentes frações orgânicas de um Latossolo argiloso sob cerrado e soja. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 18: 295-303, 1994.
- MENDONÇA, H.N.S.; LIMA, E.; ANJOS, L.H.C.; SILA, L.A.; CEDDIA, M.B.; ANTUNES, M.V.M. Propriedades químicas de solo de tabuleiro cultivado com cana-de-açúcar com e sem a queima da palha. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 24: 201-207, 2000.
- MIANO, T.M.; SENESI, N. Synchronous excitation fluorescence spectroscopy applied to soil humic substances chemistry. *Sci. Total Environ.*, 117/118: 41-51, 1992.
- MIANO, T.M.; SPOSITO, G.; MARTIN, J.P. Fluorescence spectroscopy of humic substances. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 52: 1016-1019, 1988.
- MIELNICZUCK, J. Matéria orgânica e sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: SANTOS, G de A.; CAMARGO, F.A.O. (Ed) Fundamentos da matéria orgânica: ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre: Gêneses, 1999. p.1-8.
- MIKKI, V.; SENESI, N.; HANNINEN, K. Characterization of humic material formed by composting of domestic and industrial biowastes. *Chemosphere*, 34: 1639-1651, 1997
- MILLER, R.H.; NICHOLAIDES, J.J.; SANCHEZ, P.A.; BANDY, D.E. Soil organic matter consideration in agricultural systems of the humid tropics. In: CERRI, C.C. et al., Ed. Anais do Colóquio Regional sobre Matéria Orgânica do Solo. Piracicaba, Cena-USP/PROMOCET, P.105-110, 1982.
- MILORI, D.M.B.P.; BAYER, C.; BAGATO, W.S.; MIELNICZUK; MARTIN-NETO, L. Fluorescence Spectroscopy as alternative approach to study humification degree in soil humic acids. In: 10th International Meeting of International Humic Substances Society: Entering the third millennium with a common approach to humic substances and organic matter in water, soil and sediments, 24-28 July, Toulouse, France, 2000. pp.97-100.
- MILORI, D. M.B.P.; MARTIN NETO, L.; BAYER, C.; MIELNICZUCK, J.; BAGNATO, V.S. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. *Soil Sci.*, 167: 739-749, 2002.
- MIRANDA, C.C. Caracterização da matéria orgânica do solo em fragmentos de mata atlântica e em plantios abandonados de eucalipto, reserva Biológica União-RJ. Campos dos Goytacazes, 2004. 123p. (dissertação de mestrado)
- MOOG, V. *Bandeirantes e Pioneiros*. São Paulo, Livros do Brasil, 1973. 400p.
- MOREIRA, C.F. *Caracterização de sistemas de café orgânico sombreado e a pleno solo no Sul de Minas Gerais*. Tese (Mestrado) - Piracicaba-SP, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ, 2003. 113p.
- MORSOMME, P.; BOUTRY, M. The plant plasma membrane H^+ -ATPase: structure, function and regulation. *Biochim. Biophys. Acta*, 1465: 1-16, 2000.
- MOTHEO, A.J.; PINHEDO, L. Electrochemical degradation of humic acid. *Sci. Total Environ.*, 256: 67-76.

2000.

- MUDAY, G.K.; LOMAX, T.L.; RAYLE, D.L. Characterization of the growth and auxin physiology of roots of the tomato mutant *diageotropica*. *Planta*, 195: 548-553, 1995.
- MUKHERJEE, P.N.; LAHIRI, A. Polyelectrolytic behaviors of humic acids. *Fuel*, 37:220-226, 1959.
- MUÑOZ, S.I.S. Impacto ambiental na área do aterro sanitário e incinerador de resíduos sólidos de Ribeirão Preto, SP: Avaliação dos níveis de metais pesados. Tese (Doutorado) - Ribeirão Preto-SP, Universidade de São Paulo - USP, 2002. 131p.
- MUSCOLO, A.; CUTRUPI, S.; NARDI, S. IAA detection in humic substances. *Soil Biol. Biochem.*, 30: 1199-1201, 1998.
- MUSCOLO, A.; PANUCCIO M.R.; SIDARI, M.; NARDI, S. The effect of humic substances on pinus callus are reversed by 2,4-Dicichlorophenoxyacetic acid. *J. Chem. Ecol.*, 31: 557-590, 2005.
- MYLONAS, V.A.; MCCANT, C.B. Effect of humic and fulvic acids on growth of tobacco. 2. Tobacco growth and ion uptake. *J. Plant Nutr.*, 2: 377-393, 1980.
- NAIR, P. K.R. *Agroforestry systems in the tropics*. London, Kluwer, 1989. 664p.
- NANNIPIERI, P.; GRECO, S.; DELL'AGNOLA, G.; NARDI, S. Proprietà biochimiche e fisiologiche della sostanza organica. In: NANNIPIERI, P.; (ed). *Ciclo della sostanza organica nel suolo: aspecti agronomici, chimici, ecologici & selvicolturali*. Bologna, Patron, 1993.p.67-78.
- NAPIER, R.M.; DAVID, K.M.; PENOT-RECHENMANN, C. A short history of auxin-binding proteins. *Plant Mol. Biol.*, 49: 339-348, 2002.
- NARDI, S.; ARNOLDI, G.; DELL'AGNOLA, G. Release of the hormone-like activities from *Allophobora rosea* (sav.) and *Allophobora caliginosa* (sav.) feces. *Can. J. Soil Sci.*, 68: 563-567, 1988.
- 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.; MUSCOLO, A.; VIANELLO, A. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biol. Biochem.*, 34: 1527-1536, 2002.
- NASCIMENTO, E.J. Dinâmica da matéria orgânica em um latossolo vermelho-escuro distrófico, fase cerrado, submetido a diferentes sistemas de preparo do solo e rotação de milho e solo. Viçosa, UFV. (tese de mestrado), 1989, 70p.
- NASCIMENTO, V.M.; ALMENDROS, G.; FERNANDES, F. M. Soil humus characteristics in virgin and cleared áreas of the Paraná river basin in Brazil. *Geoderma*, 54: 137-150, 1992.
- NASCIMENTO, V.M.; MELO, W.J.; NEPTUNE, A.M.L. Efeitos da rotação de culturas sobre frações da matéria orgânica de um Latossolo sob vegetação de cerrado. *Científica*, 16: 13-19, 1988.
- NEWMAN, R.H.; TATE, K.R. Soil phosphorus characterization by 31P-nuclear magnetic resonance. *Commun. in Soil Sci. Plant Anal.*, 1: 835-842, 1980.
- NOOGARD, R.B.; SIKOR, T.O. Metodologia e prática da agroecologia. In: Altieri, M. *Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável*. Guáiba: Editora Agropecuária, 2002. p.53-83.
- NUÑES, J.E.V.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; MAZUR, N. Conseqüências de diferentes preparos do solo sobre distribuição química e perdas de fósforo de um Argissolo. *Bragantia*, 62: 101-109, 2003.
- OADES, J.M. The retention of soil organic matter in soils. *Biogeochem.*, 5: 35-70, 1988.
- OADES, J.M. Soil organic matter and structural stability: mechanism and implications for management. *Plant Soil*, 76: 319-337, 1984.
- OLIVEIRA, M.W.de.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; PENATTI, C.P. Degradação da palhada cana de açúcar. *Sci. Agric.*, 56: 803-809, 1999.
- ORLOV D.S. Guía práctica de la bioquímica del humus. MGU. 1969.
- ORLOV D.S. Humic substances of soils and general theory of humification. A.A. Balkema, Rotterdam, 1995.
- ORLOV, D.S. The determination of molecular mass, size and shapes of humic substances. In Metody Izucheniya Mineralogicheskogo i Organicheskogo Veshchestva Pochv, Ashkhabad. 1975.
- ORLOV, D.S.; AMMOSOVA, Ya.M.; GLEBOVA, G.I. Molecular parameters of humic acids. *Geoderma*, 13: 211-229, 1975.

- ORTEGA SASTRIQUES, F. *La material orgànica de los suelos y el humus de los suelos de Cuba*. Havana. Ed. Academia de Ciências de Cuba. 1982, 136p.
- OSTERBERG, R.; SHIRSHOVA, L. Oscillating, nonequilibrium redox properties of humic acids. *Geochim. et Cosmochim. Acta*, 61: 4599-4604, 1997.
- PALMGREN, M.G. Regulation of plant plasma membrane activity. *Physiol. Plant.*, 83: 314-323, 1991.
- PARRA, M.S. Dinâmica da matéria orgânica e de nutrientes num latossolo roxo distrófico submetido aos sistemas de plantio convencional e direto e a diferentes sucessões de cultura. Viçosa, UFV. (tese de mestrado), 1986, 94p.
- PAULI, F.W. Soil fertility. London: Adam Hilger, 1967.
- PERDUE, E. M. Analytical constraints on the structural features of humic substances. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 48:1435-1443, 1984.
- PERDUE, E.M. Analytical constraints on the structural features of humic substances. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 48: 1435-1443, 1984.
- PÉREZ, M.G.; 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. Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, ^{13}C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy. *Geoderma*, 118: 181-190, 2004.
- PEREZ, K.S.S.; RAMOS, M.L.G.; MCMANUS, C. Nitrogênio da biomassa microbiana cultivado com soja, sob diferentes sistemas de manejos, nos Cerrados. *Pesq. Agropec. Bras.*, 40:137-144, 2005.
- PHIRI, S.; BARRIOS, E.; RAO, I.M.; SINGH, B.R. Changes in soil organic matter and phosphorus fractions under planted fallows and a crop rotation system on a Colombian volcanic-ash soil. *Plant Soil*, 231: 211-223, 2001.
- PICCOLO, A. Characteristics of soil humic extracts obtained by some organic and inorganic solvents and purified by HCl-HF treatment. *Soil Sci.*, 146: 418-422, 1988.
- PICCOLO, A. Humus and soil conservation, In Humic Substances in Terrestrial Ecosystems. A. PICCOLO (ed.). Amsterdam, Elsevier, 1996. pp. 225-264.
- PICCOLO, A. Metodi chimici e spettroscopi per lo studio della struttura e reattività della sostanza organica del suolo. In: NANNIPIERI, P.; (ed). *Ciclo della sostanza organica nel suolo: aspecti agronomici, chimici, ecologici & selvicolturali*. Bologna, Patron, 1993.p.247-304.
- PICCOLO, A. New Insights on the conformational structure of humic substances as revealed by size exclusion chromatography. In: DROZD, J; GONET, S.S.; SENESI, N.; WEBER, J. (eds). *The role of humic substances in the ecosystems and in environmental protection*. Wroclaw, Polish Society of Humic Substances, 1997. p. 19-38.
- PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances. *Soil Sci.*, 166: 810-832, 2001.
- PICCOLO, A. The Supramolecular Structure of Humic Substances: A Novel Understanding of Humus Chemistry and Implications in Soil Science. *Adv. Agron.*, 75: 57-134, 2002.
- PICCOLO, A.; CAMICI, L. A comparison of 2 methods for the determination of total acidity of humic substances. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 41: 65-69, 1990.
- PICCOLO, A.; CAMPANELLA, L.; TETRONIO, B. M. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of soil humic substances extracted by different mechanisms. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 54: 750-756, 1990.
- PICCOLO, A.; CONTE P.; COZZOLINO, A. Effects of mineral and monocarboxylic acids on the molecular associations of dissolved humic substances. *Eur. J. Soil Sci.*, 50: 687-694, 1999.
- PICCOLO, A.; CONTE, P.; SPACCINI, R.; CHIARELLA, M. Effects of some dicarboxylic acids on the association of dissolved humic substances. *Biol. Fert. Soils*, 37: 255-259, 2003.
- PICCOLO, A.; CONTE, P.; TRIVELLONE, E.; VAN LAGEN, B.; BUURMAN, P. Reduced heterogeneity of a lignite humic acid by preparative HPSEC following interaction with an organic acid. Characterization of size-separates by Pyr-GC-MS and H-1-NMR spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.*, 36: 76-84, 2002.
- PICCOLO, A.; NARDI, S.; CANCHERI, G. Macromolecular changes of soil humic substances induced by interactions with organic acids. *Eur. J. Soil Sci.*, 47: 319-328, 1996.
- PICCOLO, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Structural characteristics of humus and biological activity. *Soil Biol. Biochem.*, 24: 273-380, 1992.
- PICCOLO, A.; STEVENSON, F.J. Infrared spectra of Cu^{2+} , Pb^{2+} and Ca^{2+} complexes of soil humic substances. *Geoderma*, 27: 195-208, 1982.

- PINTO, L.F.G. *Avaliação do cultivo de cana-de-açúcar em sistemas agroflorestais em Piracicaba, SP*. Tese (Doutorado) - Piracicaba-SP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ, 2002, 116p.
- PINTON, R.; CESCO, S.; DE NOBILI, M.; SANTI, S.; VARANINI, Z. Water- and pyrophosphate-extractable humic substances fractions as source of iron for Fe-deficient cucumber plants. *Biol. Fert. Soils*, 26: 23–27, 1998.
- 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⁺-ATPase. *Plant Soil*, 215: 155–163, 1999.
- PINTON, R.; CESCO, S.; SANTI, S.; AGNOLON, F.; VARANINI, Z. Water-extractable humic substances enhance iron deficiency responses by Fe-deficient cucumber plants. *Plant Soil*, 210: 145–157, 1999.
- PINTON, R.; VARANINI Z.; VIZZOTO G.; MAGGIONI, A. Soil humic substances affect transport-properties of tonoplast vesicles isolated from oat roots. *Plant Soil*, 142: 203–210, 1992.
- PIZAURO JR, J.M.; MELO, W.J. Influência da incorporação da parte aérea de sorgo ou lablabe nas frações da matéria orgânica de um Latossolo vermelho-escuro. *R. Bras Ci Solo*, 19:95-103, 1995.
- PRIMAVESI, A. *Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais*. São Paulo, Nobel, 9^a ed., 1987. 549p.
- PUIG, H. Production de litéré em forêt guyanaise: résultats préliminaires. *Bull. Soc. Hist. Nat.*, 115: 338-346, 1979.
- QUAGGIOTTI S.; RUPERTI 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.
- QUEIROZ, F.M de, MATOS, A.T. de, PEREIRA, O.G., OLIVEIRA, R.A. de. Características químicas de solo submetido ao tratamento com esterco líquido de suínos e cultivado com gramíneas forrageiras. *Ciência Rural*, 34: 1487-1492, 2004.
- QUÍMICA. 1989. Colectivo de autores. Facultad de Química. Universidad de la Habana.
- RAM, N.; VERLOO, M. Effect of inatural complexants on the uptake of trace elements by barley and their extractable amounts in soil. *Agrochimica*, 28: 13-19, 1983.
- RAMOS, A.C.; FAÇANHA, A.R.; CANELLAS, L.P. O fluxo extracelular de prótons das raízes é estimulado pelos ácidos húmicos: evidências obtidas com a microssonda vibrátil seletiva ao H⁺. VI Encontro Brasileiro Sobre Substâncias Húmicas, Rio de Janeiro. 16 a 18 de novembro, EMBRAPA-CNPS, 2005. Resumo expandido. p.1-4.
- RAMOS-TEJADA, M.M.; ONTIVEROS, A.A.; VIOTA, A.J.L., DURÁN, J.D.G. Interfacial and rheological properties of humic acid/hematite suspensions. *J. Colloid Interf. Sci.*, 268: 85-95, 2003.
- RANBY, B.; RABEK, J. F. *Photodegradation, Photo-oxidation and Photostabilization of Polymers*. New York, John Wiley and Sons, 1975. pp. 42-96.
- RASAD, B.; SINHA, M.K. physical and chemical characterization of molecularly homogeneous fulvic fractions and their metal complexes. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 31: 187-191, 1983.
- RAUTHAN, B.S.; SCHNITZER, M. Effect of a soil humic acid on the growth and nutrient content of cucumber (*Cucumis sativum*) plants. *Plant Soil*, 63: 491-495, 1981.
- RAVEN, P.H.; EVERET, R. F.; EICHORN, S. E. *Biologia Vegetal*. Rio de Janeiro, Ganabara Koogan, 6^a ed., 1999. 906p.
- RAY, W.J.; BURGNER, J.W.; POST, C.B. Characterization of vanadate-based transition-state-analog complexes of phosphoglucomutase by spectral and NMR techniques. *Biochem.*, 29: 2770-2778, 1990.
- REA, P. A.; SANDERS, D. Tonoplast energization: Two H⁺ pumps, one membrane. *Physiol. Plant.*, 71: 131-141, 1987.
- REUTER, J.H.; PERDUE, E.M. Calculation of molecular weights of humic substances from colligative data: Application to aquatic humus and its molecular size fractions. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 45: 2017-2022, 1981.
- REX, R.W. Electron paramagnetic resonance studies of stable free radicals in lignins and humic acids. *Nature*, 188: 1185-1186, 1960.
- RIBEIRO, D. O processo civilizatório. São Paulo, Companhia das Letras, 1998. 456p.
- RICE, J. A. & MACCARTHY, P. Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances. *Org. Geochem.*, 17: 635-648, 1991

- RIPOLI, T.C.; VILLANOVA, W.A. Colheita mecanizada da cana-de-açúcar: novos desafios. *STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos*, 10: 28-31, 1992.
- RIVERO, C.; CHIRENJE, T.; MA, L.Q.; MARTINEZ, Z. Influence of compost on soil organic matter under tropical conditions. *Geoderma*, 123: 355-361, 2004.
- ROCHA, J.C.; ROSA, A.H. Substâncias húmicas aquáticas: interação com espécies metálicas. São Paulo, Editora Unesp, 2003. 120p.
- ROSA, A.H.; SIMÕES, M.L.; OLIVEIRA, L.C. DE.; ROCHA, J.C., MARTIN NETO, L.; MILORI, D.M.B.P. Multimethod study of the degree of humification of humic substances extracted from different tropical soil profiles in Brazil's Amazonian region. *Geoderma*, 127: 1-10, 2005.
- ROSALES, M.A.; OLIVEIRA, O.S.; MOURA, M.A.; LOURES, E.G. Influencia das adubações orgânicas e mineral contínuas sobre as características das frações das substâncias húmicas do solo. *Ceres*, 46: 67-81, 1999.
- ROTH C.; VIEIRA M. J. Infiltração de água no solo. *Plantio direto*, 1: 1-4, 1983.
- RUCK, A.; PALME, K.; VENIS, M. A.; NAPIER, R. M.; FELLE, R. H. Patch-clamp analysis establishes a role for an auxin-binding protein in the auxin stimulation of plasma-membrane current in *Zea mays* protoplasts. *Plant J.*, 4: 41-46, 1993.
- RUIZ, E.; GARCÉS, N.; GURIDI, F. Propiedades de vermicompost obtenidos en Cuba: su calidad como biofertilizantes y como mejorador del suelo. In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE LA CIENCIA DEL SUELO, 14., 1999, Temuco. AnaisTemuco: Universidad de la Frontera, 1999. 4 p. (CR-ROM)
- RYAN, D.K.; WEBER, J.H. Fluorescence quenching titration for determination of complexing capacities and stability constants of fulvic acid. *Anal. Chem.*, 54: 986-990, 1982.
- SAAB, S.C., MARTIN NETO, L. Use of the EPR technique to determine thermal stability of some humified organic substances found in soil organic-mineral fractions. *Química Nova*, 26: 497-498, 2003.
- SAALBACH, E. Einfluss von humusstoffen auf den stoffwechsel der pflanzen. Trans. 6th Intern. Congr. Soil Sci., Rapp. D, p. 107-111, 1956.
- SAGAN, C. *O mundo assombrado pelos demônios: a ciência vista como uma vela no escuro*. São Paulo, Companhia das Letras, 1996. 446p.
- SAIZ-JIMENEZ, C. Analytical pyrolysis of humic substances: Pitfalls, limitations and possible solutions. *Environ. Sci. Technol.* 28: 1773-1780, 1995.
- SAIZ-JIMENEZ, C. Application of pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry to soil chemistry. In: World Congress of soil science, 15., 1994. Acapulco, ISSS.p.65-84.
- SAIZ-JIMENEZ, C. The chemical structure of humic substances: Recent advances. In Humic Substances in Terrestrial Ecosystems. A. Piccolo (ed.). Amsterdam,Elsevier, 1996. pp. 1-44.
- SALAS, A.M.; ELLIOTT, E.T.; WESTFALL, D.G; COLE, C.V.; SIX, J. The role of particulate organic matter in phosphorus cycling. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 67: 181-189, 2003.
- SAMSOM, G.; VISSER, S.A. Surface-active effects of humic acids on potato cell-membrane properties. *Soil Biol. Biochem.*, 21: 343-347, 1989.
- SANCHEZ, P.A. Properties and management of soils in the tropics. New York, John Wiley & Sons, 1976. 618p.
- SANTA-ISABEL, L.M. Caracterização e algumas relações pedogenéticas da matéria orgânica de uma topossequência de solos em região de clima semi-árido de Itaberaba-BA. Salvador, UFBA., 1988. Dissertação (Mestrado em Geociências) – Instituto de Geociências , Universidade Federal da Bahia.
- SANTOS, G. A., CAMARGO, F. A. O. Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais. SANTOS, G. A., CAMARGO, F. A. O. (eds). Porto Alegre, Gênesis, 1999, 508p.
- SANTOS, R.H.S.; SILVA, F.; CASALI, V.W.D.; CONDE, A.R. Efeito residual da adubação de composto orgânico sobre o crescimento e produção de alface. *Pesq.Agropec.Bras.* ,36: 1395-1398, 2001.
- SARAIVA, O.F. Relações da matéria orgânica com as características físicas e químicas de um Podzólico Vermelho-Amarelo Câmbico Distrófico, fase terraço, submetido a sistemas de cultivo. Viçosa, UFV., Impr. Univ., 1987. 175p. (Tese de Doutoramento).
- SCHIAVO, J. Correlação entre métodos químicos e espectroscópicos na avaliação da acidez carboxílica de ácidos húmicos. Exame de Qualificação. Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal, 2004. 15p. (mimeo)

- SCHILLING, M.; COOPER, W.T. Effects of chemical treatments on the quality and quantitative reliability of solid state ^{13}C NMR spectroscopy of mineral soils. *Anal. Chim. Acta*, 508: 207-216, 2004.
- SCHNITZER, M. Characterization of humic constituents by spectroscopy soil biochemistry. *Soil Biochem.*, 2: 60-95, 1971.
- SCHNITZER, M. Chemical, Spectroscopic, and Thermal Methods for the Classification and Characterization of Humic Substances. In: *Proc. Intern. Meetings on Humic Substances*, Wageningen, 1972. p.293-310.
- SCHNITZER, M. Soil organic matter-the next 75 years. *Soil Sci.*, 151: 41-58, 1991.
- SCHNITZER, M. Toward a better understanding of the interrelationship between humus and nitrogen: a key economic and scientific problem in internation agriculture. In: DUTIL, P.; JACQUIN, F. (Eds). *Colloque Humus-Azote*, 7-10 juillet, Reims, France, 1981. p.1-15.
- SCHNITZER, M.; GUPTA, U.C. Determination of acidity in soil organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 27: 274-277, 1965.
- SCHNITZER, M.; KHAN, S.U. *Humic Substances in the Environment*. New York, Marcel Dekker, 1972. 325p.
- SCHNITZER, M.; KHAN, S.U. *Soil organic matter*. Amsterdam, Elsevier, 1978, 319p.
- SCHNITZER, M.; POASP, P.A. Effects of a soil humic compound on root initiation. *Nature*, 213: 598, 1967.
- SCHNITZER, M.; MCARTHUR, D.F.E.; SCHULTEN, H.; KOZAK, L. M.; HUANG, P.M. Long-term cultivation effects on the quantity and quality of organic matter in selected Canadian prairie soils. *Geoderma*, In press. (2005)
- SCHOLES, R. J., BREEMEN, N. VAN. The effects of global change on tropical ecosystems. *Geoderma*, 79:9-24, 1997.
- SCHULTEN, H.-R., LEINWEBER, P. New insights into organicmineral particles: composition, properties and models of molecular structure. *Biol. Fertil. Soils*, 30: 399-432, 2000.
- SCHULTEN, -H.R.; Analytical pyrolysis of humic substances and soils: geochemical, agricultural and ecological consequences. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 25: 97-122, 1993.
- SCHULTEN, -H.R.; BECKEY, H.D.; BOERBOOM, A.J. Pyrolysis field desorption mass spectrometry of deoxyribonucleic acid. *Anal. Chem.*, 45: 2358-2362, 1973.
- SCHULTEN, -H.R.; SCHNITZER, M. Chemical model structures for soil organic matter and soils. *Soil Sci.*, 162: 115-130, 1993.
- SCHULTEN, -H.R.; SCHNITZER, M. Structural studies on soil humic acids by curei-point pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. *Soil Sci.*, 153: 205-224, 1992.
- SCHULTEN, H.-R.; SCHNITZER, M. The chemistry of soil organic nitrogen: A review. *Biol. Fertil. Soils*, 26: 1-15, 1997.
- SCHULTEN, H.-R.; SCHNITZER, M. Three-dimensional models for humic acids and soil organic matter. *Naturwissenschaften*, 82: 487-498, 1995.
- SCHULTEN, H.-R.; SORGE, C.; SCHNITZER, M. Structural studies on soil nitrogen by cured point pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry with nitrogen-selective detection. *Biol. Fert. Soils*, 20: 174-184, 1995.
- SCHULTEN, H. R., MONREAL, C. M., SCHNITZER, M. Effects of long-term cultivation on the chemical structure of soil organic matter. *Naturwissenschaften*, 82: 42-44, 1995.
- SCOTT, D.T.; MCKNIGHT, D.M.; LOVLEY, D.R. Quinone moieties act as electron acceptors in the reduction of humic substances by humics-reducing microorganisms. *Environ. Sci. Technol.* 32: 2984-2963, 1998.
- SENESI, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. Part II. The fluorescence spectroscopy. *Anal. Chim. Acta*, 232: 77-106, 1990.
- SENESI, N.; MIANO,T.M.; PROVENZANO, M.R.; BRUNETTI, G. Characterization,differentiation, and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. *Soil Sci.*, 152: 259-271, 1991.
- SERRANO, R. Strucuture and function of plasma membrane ATPase. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.* 40: 61-94, 1989.
- SHUBERT, H.O.R. Ecologia e utilização das florestas. In: SALATI, E., Cood. Amazônia: desenvolvimento, integração e ecologia. São Paulo, Editora Brasiliense/CNPq, 1983. p.1001-143.
- SIERRA, M.M.D.; GIOVANELA, M.; PARLANTI, E.; SORIANO-SIERRA, E.J. Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques. *Chemosphere*, 58: 715-733, 2005.

- SIERRA, M.M.M.; GIOVANELA, M.; DINARD,O.F.X.; BELIN, C.A. utilização da espectroscopia de fluorescência no estudo da matéria orgânica dissolvida em águas naturais: evolução e perspectivas. *Química Nova*, 19: 294-301, 1996.
- SILVA, C.A., ANDERSON, S.J.; GUILHERME, L.R.G. Uso da cromatografia de exclusão por tamanho na caracterização das substâncias húmicas de um Latossolo Vermelho-escuro sob efeito da calagem. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 24:495-503, 2000.
- SILVA, J. Da, LIMA E SILVA, P.S.; OLIVEIRA, M.De.; BARBOSA E SILVA, K.M. Efeito do esterco bovino sobre o rendimento de espigas verdes e de grãos de milho. *Hortic. Bras.*, 22: 326-331, 2004.
- SILVA, J. ., RESCK, D.V.S. Matéria orgânica do solo. In: Vargas, M A. T., Hungria, M. *Biologia dos solos dos cerrados*. Planaltina, EMBRAPA-CPAC, 1997. p.467-527.
- SIMMONDS, P.O.G; SHULMAM, GP.; STEMBRIDGE, R. Organic analysis by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry: a candidate experiment for biological exploration of Mars. *J. Chromat. Sci.*, 7: 36-41, 1969.
- SIMPSON, A.; TSENG, L.H.; SIMPSON, M.J.; SPRAUL, M.; BRAUMANN, U.; KINGERY, W.L.; KELLEHER, B.P.; HAYES, M.H. The application of LC-NMR and LC-SPE-NMR to compositional studies of natural organic matter. *Analyst*, 129: 1216-1222, 2004.
- SIMPSON, A.J. Determining the molecular weight, aggregation, structures and interactions of natural organic matter using diffusion ordered spectroscopy. *Magnetic Res. Chem.*, 40: 572-582 2002.
- SIMPSON, A.J.; BURDON, J.; GRAHAM, C.L.; HAYES, M.H.B.; SPENCER, N.; KINGERY, W.L. Interpretation of heteronuclear and multidimensional NMR spectroscopy of humic substances. *Europ. J. Soil Sci.*, 52: 495-510, 2001.
- SIMPSON, A.J.; LEFEBVRE, B.; MOSER, A.; WILLIAMS, A.; LARIN, N.; KVASHA, M.; KINGERY, W.L.; KELLEHER, B. Identifying residues in natural organic matter through spectral prediction and pattern matching of 2D NMR datasets. *Magnetic Res. Chem.*, 42: 14, 2004.
- SIMPSON, A.J; KINGERY, W.L.; HATCHER, P.G. The identification of plant derived structures in humic materials using three-dimensional NMR spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.*, 37: 337-342, 2003.
- SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F.M.S. *Biologia e bioquímica do solo*. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001, 291p.
- SKJEMSTAD, J.O.; FITZPATRICK, R.W.; ZARCINAS, B.A.; THOMPSON, C.H. Genesis of podzols on coastal dunes in Southern Queensland. II. Geochemistry and forms of elements as deduced from various soil extraction procedures. *Austr. J. Soil Res.*, 30: 593-613, 1992.
- SLEPETINE, A.; SLEPETYS, J. status of humus in soil under various long term tillage systems. *Geoderma*, 122: 207-215, 2005.
- SMERNIK, R.J. Solid-state spectroscopic studies of soil organic matter at two magnetic field strengths. *Geoderma*, 125: 249-271, 2005.
- SMIDOVÁ, M. The influence of humic acid on the respiration of plant roots. *Biol. Plant.*, 2: 152-164, 1960.
- SOLOMON, D.; LEHMANN, J.; KINYANGI, J.; LIANG, B.Q.; SCHAFER, T. Carbon K-edge NEXAFS and FTIR-ATR spectroscopic investigation of organic carbon speciation in soils. *Soil Sci. Am. J.*, 69: 107-119, 2005.
- SOMBROEK, W.G. Amazonas soils. A reconnaissance of the soils of the Brazilian Amazon region. Wageningen, Centre for Agricultural Publication and Documentation, 1966. 292p.
- SONDERGAARD, T.E.; SCHULZ, A.; PALMGREN, M. G. Energization of Transport Processes in Plants. Roles of the Plasma Membrane H⁺-ATPase. *Plant Physiology*, 136: 2475-2482, 2004.
- SOUZA, C.M. *Efeito do uso contínuo de grade pesada sobre algumas características físicas e químicas de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico, fase cerrado, e sobre o desenvolvimento das plantas e absorção de nutrientes pela cultura de soja*. Tese (Mestrado) – Viçosa-MG - Universidade Federal de Viçosa,UFV, 1988. 105p.
- SOUZA, L.F.; MADARI, B.; BENITES, V.M.; CUNHA, T.J. & NEVES, E.G. Relação entre a fertilidade e as substâncias húmicas numa terra preta da Amazônia. In: XXIX CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, Ribeirão Preto-SP, 2003. Anais...CD-Rom
- SOUZA, W.J.O.; MELO, W.J. Matéria orgânica em um Latossolo submetido a diferentes sistemas de produção de milho. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 27: 1113-1122, 2003.
- SPACCINI, R., MBAGWU, J. S. C. CONTE, P., PICCOLO, A. Changes of humic substances characteristics from forested to cultivated soils in Ethiopia. *Geoderma*, In press. (2005)

- SPARKS, D.L. Elucidating the fundamental chemistry of soils: past and recent achievements and future frontiers. *Geoderma*, 100: 303-319, 2001.
- SPARKS, D.L. Environmental soil chemistry. San Diego, Academic Press. 1995. 387p.
- SPAROVEK, G., ALLEONI, L.R.F., PEREIRA, J.C., ROSSETTO, R. Aptidão das terras de Piracicaba para o corte mecanizado de cana-de-açúcar. *STAB açúcar, Álcool e Subprodutos*, 15:14-17, 1997.
- SPOSITO, G. *Chemistry of Soil*. New York, Oxford Univ. Press, 1989. 277p.
- SPOSITO, G.; HOLTZCLAW, K.M.; BAHAM, J. Analytical properties of the soluble, metl-complexing fractions in sludge-soil mixtures: II comparative structural chemistry of fukvic acid. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 40: 691-697, 1976.
- STANCHEV, L.; TANEV, Z.; IVANOV, K. Humus substances as suppressors of biuret phytotoxicity. *In Humus et Planta*, 6: 373-381, 1975.
- STEVENSON, F.J. *Humus Chemistry*. Genesis, Composition, Reactions. John Wiley & Sons, Inc. 2th Edition. 1996. 496 p.
- STRUYK, Z.; SPOSITO, G. Redox properties of standard humic acids. *Geoderma*, 102: 329-346, 2001.
- STUMM, W.; MORGAN, J.J. *Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters*. New York, Wiley-Interscience, 1996. 302 p.
- SWIFT, R.S. Macromolecular properties of soil humic substances: fact, fiction, and opinion. *Soil Sci.*, 164: 790-802, 1999.
- SWIFT, R.S. Sequestration of Carbon by Soil. *Soil Sci.*, 166: 858-871, 2001.
- SWIFT, R.S.; POSNER, A.M. Gel chromatography of humic acid. *J. Soil Sci.* 22: 237-249, 1971.
- SZE, H. H⁺-translocating ATPases: advances using membranes vesicles. *A. Rev. Plant Physiol.*, 36: 175-208, 1985.
- SZE, H.; WARD, J.M.; LAI, S.; PERERA, I. Vacuolar-type H⁺-translocating ATPases in plant endomembranes: subunit organization and multigene families. *J. Experim. Biol.*, 172: 132-135, 1992.
- SZILÁGYI, M. Reduction of Fe³⁺ ion by humic acid preparations. *Soil Sci.*, 111: 233-235, 1971.
- SZILÁGYI, M. The redox properties and the determination of the normal potential of the peat-water system. *Soil Sci.*, 115: 434-437, 1973.
- SZILÁGYI, M. Valency changes of metal ions in the interaction with humic acids. *Fuel*, 53: 26-28, 1974.
- TAIZ, L. The plant vacuole. *J. Exper. Biol.*, 172: 113-122, 1992.
- TAIZ, L.; ZEIGER, S. *Plant Physiol.* Redwood City, The Benjamin Cummings Publishing Company, 1991. 690p.
- TAN, K.H.; HILMMELSBACH, D.S.; LOBARTINI, J.C. The significance of solid-state ¹³C NMR spectroscopy of whole soil in the characterization of humic matter. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 23: 1513-1532, 1992.
- TANFORD, C. The hydrophobic effect: formation of micelles and biological membranes. New York, Wiley, 1980.
- TICHÝ, V. Phosphorus uptake suppression in maize seedlings as related to humate supply. *Biol. Plant.*, 26: 221-229, 1984.
- TIMM, L.C. *Efeito do manejo da palha da cana-de-açúcar nas propriedades físico-hídricas de um solo*. Tese (Doutorado) - Piracicaba-SP, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ, 2002, 115p.
- TINOCO, P.; ALMENDROS, G.; GONZALEZ-VILA, F.J.; LANKE, U. LÜDEMANN, H.D. Analysis of Carbon and Nitrogen Forms in Soil Fractions after the Addition of 15N-Compost by ¹³C and ¹⁵N Nuclear Magnetic Resonance. *J. Agr. Food Chem.*, 52: 5412-5417, 2000.
- TIURIN, J.V. Organicheskoe veschestvo pochv. Selshkozgiz., Leningrado.
- TRATNYEK, P.G.; MACALADY, D.L. Abiotic reduction of nitro aromatic pesticides in anaerobic laboratory systems. *J. Agric. Food Chem.*, 3: 248-254, 1989.
- TU, S.; NAGHASHI, G.; BROUILLETTE, J.N. Proton pumping kinetics and origin of nitrate inhibition of tonoplast-type H⁺-ATPase. *Arch. Biochem. Biophys.*, 256: 625-637, 1987.
- TURNER, R.C.; SCHNITZER, M. Thermogravimetry of organic matter of a podzol. *Soil Sci.*, 93: 225-232, 1962.
- TURRENE, J.F. Modes d'humification et différenciation podzolique dans deux toposéquences guyanaises. Mem. ORSTOM, Paris, 1977. 173p.
- VALADARES, G.S. Caracterização de Organossolos: auxílio à sua classificação. Seropédica, UFRRJ, 2003. 129p. (Tese de doutorado).

- VALLE, C.E. *Qualidade ambiental. O desafio de ser competitivo protegendo o meio ambiente*. São Paulo, Livraria Pioneira Editora, 1995. 74p.
- VANDICK, H. Colloidal chemical properties of humic matter. In: MCLAREN, A.D. & PETERSON, G.H. (eds) *Soil Biochemistry*. New York, Dekker, 1972. pp. 16-34.
- VAN KREVELEN, D.W. Graphical-statistical method for the study of structure and reaction processes of coal. *Fuel*, 29: 269-284, 1961.
- VARANINI, Z.; PINTON, R.; DE BIASE, M.G.; ASTOLFI, S.; MAGGIONI, A. Low molecular weight humic substances stimulate H⁺-ATPase activity of plasma membrane vesicles isolated from oat (*Avena sativa* L.) roots. *Plant Soil*, 153: 61-69, 1993.
- VARGAS, L.K.; SELBACH, P.A.; SÁ, E.L.S. de. Alterações microbianas no solo durante o ciclo do milho nos sistemas de plantio direto e convencional. *Pesq. Agrop. Bras.*, 39:749-755, 2004.
- VAUGHAN, D. A possible mechanism for humic acid action on cell elongation in root segments of *Pisum sativum* under aseptic conditions. *Soil. Biol. Biochem.*, 6: 241-247, 1974.
- VAUGHAN, D. The stimulation of invertase development in aseptic storage tissue slices by humic acids. *Soil Biol. Biochem.*, 1: 15-28, 1969.
- VAUGHAN, D.; MACDONALD, I.R. Effects of humic acids on protein synthesis and ion uptake in beet roots. *J. Exp. Bot.*, 22: 400-410, 1971.
- VAUGHAN, D.; MALCOLM, R.E. Effect of humic acid on invertase synthesis in roots of higher plants *Soil Biol. Biochem.*, 11: 247-252, 1979.
- 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, Martinus Nijhoff/Junk W- Kluwer Academic, 1985. p.37-75.
- VAUGHAN, D.; MALCOM, R.E.; ORD, B.G. Influence of humic substances on biochemical processes in plants. In: D. VAUGHAN and R.E. MALCOM, Editors, *Soil Organic Matter and Biological Activit*. Dordrecht, Martinus Nijhoff/Junk W, 1985. p.77-108.
- VAUGHAN, D.; ORD, B.G. Soil organic matter: a perspective on it nature, extraction, turnover and role in soil fertility. In: WAUGHAN, D.; MALCOLM, R.L. (eds). *Soil organic matter and biological activity* Dordrecht, Martinus Nijhoff/Junk W- Kluwer Academic 1985. p.1-34.
- VISSEER, S. A. A physico-chemical study of the properties of humic acids and their changes during humification. *J. Soil Sci.*, 15:202-219, 1964.
- VISSEER, S.A Surface active phenomena by humic substances of aquatic origin. *Rev. Fr. Sci. Eau*, 1: 285-295, 1982.
- VOLKOFF, B. La matiere organique des sols ferrallitiques du nordeste du Brésil. *Cah. ORSTON, Ser. Ped.*, 15: 275-290, 1977.
- VOLKOFF, B.; ANDRADE, M. J. Caracterização da matéria orgânica de alguns solos ferrallíticos do Estado da Bahia:aplicação de um método de fracionamento das substâncias húmicas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 15., Campinas, SP, 1976. Anais...Campinas:Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1976. p.116-126.
- VOLKOFF, B.; CERRI, C.C. Comparação de húmus de um solonchak, um rendizina e um solo litólico da região semi-arida do Rio Grande do Norte. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 4: 49-56, 1980.
- VOLKOFF, B.; CERRI, C.C. Húmus em solos da floresta amazônica na região do rio Madeira. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 5: 15-21, 1981.
- VOLKOFF, B.; CERRI, C.C. L'humus des sols du Brésil: nature et relation avec l'environnement. *Cah. ORSTOM, Ser. Ped.* 24: 83-95, 1988.
- VOLKOFF, B.; CERRI, C.C.; MELFI, A.J. Húmus e mineralogia dos horizontes superficiais de três solos de campos de altitude dos estados de Minas Gerais, Paraná e Santa Catarina. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 8: 277-283, 1984.
- VOLKOFF, B.; FLEXOR, J.M.; SANTA-ISABEL, L.M.; SANTA-ISABEL, M. Natureza do húmus nos latossolos distróficos da Bahia. *Rev. Bras. Ci. do Solo*, 2: 59-63, 1978.
- VOLKOFF, B.; MELFI, A.J.; CERRI, C.C. Solos podzólicos e cambissolos eutroficos do alto rio Purus (Estado do Acre). *Rev. Bras. Ci. Solo*, 13: 363-372, 1989.
- WADT, P.G.S. Movimentação de cátions em latossolo vermelho-amarelo, álico, incubados com carbonato e

- sulfato de cálcio, isolados ou misturados. Itaguaí, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1991, 174 p. (Tese de Mestrado).
- WAKSMAN, S.A. *Humus*, 2nd ed. Bailliere, Tindall & Cox. London, UK, 1938.
- WALLERIUS, J.G. *De Humo. Agriculturae fundamenta chemica spez.* Diss. Upsala, Sweden, 1761.
- WALLING, C. "Fenton's Reagent Revisited". Accounts of Chemical Research. Vol. 8 pg 125-131. Apud 7. U.S. Environmental Protection Agency; Handbook Advanced Photochemical Oxidation Processes (EPA/625/R-98/004), Cincinnati, E.U.A., 1998, p. 2-2.
- WANG, Y.; LEIGH, R. A.; KAESTNER, K. H.; SZE, H. Eletrogenic H^+ -pumping pyrophosphatase in tonoplast vesicles of oat roots. *Plant Physiology* 81:497-502, 1986.
- WERSHAW, R. L.; AIKEN, G.R. Molecular size and weight measurements of humic substances. In *Humic Substances in Soil, Sediment, and Water*. G.R. AIKEN, D.M. MCKNIGHT, R.L. WERSHAW, and P. MACCARTHY (eds.). New York, Wiley, 1985. pp. 477-492.
- WERSHAW, R.L. Application of a membrane model to the sorptive interactions of humic substances. *Environ. Health Perspect.*, 83: 191-203, 1989.
- WERSHAW, R.L. Model for humus in soils and sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 27: 814-816, 1993.
- WHITE, P.J. Bafilomycin A1 is a non-competitive inhibitor of the tonoplast H^+ -ATPase of maize coleoptiles. *J. Exp. Bot.*, 45: 1397-1402, 1995.
- YAGI, R.; FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P. da.; BARBOSA, J.C. Organic matter fractions and soil fertility under the influence of liming, vermicompost and cattle manure. *Sci. Agric.*, 60: 549-557, 2003.
- YAVORSKI, B.M.; DETLAF, A.A. *Prontuario de Física*. Ed. MIR, Moscú, 1988. 150p.
- ZANDONADI, D. B.; CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.R. Auxin inhibitors impair humic acids activity on plasmalema proton pumps and maize development. *Planta* (Submetido à publicação, 2006).
- ZANDONADI, D.B.; RODDA, M.R.C.; MARQUES JR., R.B.; FAÇANHA, A.R.; CANELLAS, L.P. Bioatividade de ácidos húmicos fracionados em sephadex. *V Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas*, Curitiba, 2003. cd-room. p. 44-46.
- ZECH, W.; HAUMAIER, L.; HEMPFLING, R. Ecological aspects of soil organic matter in tropical land use. In: MacARTHY, P.; CLAPP, C.E.; MALCOLM, R.L.; BLOOM, P.R. (eds). *Humic substances in soil and crop sciences: Selected Readings*. Madison, ASA/SSSA, 1990. p.187-201,
- 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: 117-161, 1997.
- ZIECHMANN, W.; KESS, B. Über Elektronenzustände einer endoxydierten Huminsäure in wässriger Lösung. *Geoderma*, 17: 293-301, 1977.
- ZIGOU, K.; KIRK, P.W.W.; LESTER, J.N. Behaviour of phthalic acid esters during batch anaerobic digestion of sludge. *Water Research*, 23: 743-748, 1986.
- ZSOLNEY, A. Differentiating with fluorescence spectroscopy the source of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere*, 38: 45-50, 1999.

