

# CONTRIBUIÇÃO DA ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR PARA A CIÊNCIA DO SOLO

Deborah Pinheiro Dick, Etelvino Henrique Novotny



A primeira observação do fenômeno de ressonância magnética nuclear (RMN) ocorreu em 1945. Desde então, essa técnica tem mostrado um tremendo desenvolvimento. Após o primeiro experimento em que mostrou-se capaz de resolver questões químicas da matéria, a RMN tornou-se uma das principais técnicas analíticas para os químicos, porém, devido à flexibilidade dos seus métodos experimentais, ela tem sido utilizada por outros ramos da ciência. Para se ter uma ideia da importância da RMN, nada menos que seis prêmios Nobel (física, química e medicina) foram concedidos a pesquisas que utilizaram essa técnica.

A primeira publicação utilizando a espectroscopia de RMN na Ciência do Solo foi publicada em 1963, enquanto espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  foram publica-

dos, primeiramente, em 1976, por dois grupos independentes (Gonzalez-Vila & Lentz e Stuermer & Payne). Esses trabalhos pioneiros analisaram amostras de substâncias húmicas extraídas de solos. Em 1981, foram publicados espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  de amostra de solo e, desde então, o uso dessa técnica na Ciência do Solo tem crescido constantemente, conforme evidencia o número de citações de trabalhos que a utilizam (Figura 1a).

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear se baseia na detecção de núcleos atômicos que têm momento magnético nuclear não nulo, que são aqueles que apresentam número ímpar de prótons e/ou de nêutrons. Essas partículas atômicas, os núcleons, de forma similar aos elétrons, apresentam uma propriedade chamada *spin* e

se comportam como pequenos magnetos ("ímãs") - quando aos pares, eles se anulam mutuamente (emparelhamento). Entretanto o *spin* do próton não anula o do nêutron. Então, quando há um próton ou um nêutron desemparelhado, esse átomo apresentará momento magnético nuclear líquido e, portanto, pode ser detectado pela RMN.

Apesar de praticamente todos os elementos da tabela periódica terem ao menos um isótopo com momento magnético nuclear (mais de um núcleo desemparelhado), a aquisição de seus espectros se complicam sobremaneira devido às interações que ocorrem entre esses magnetos. Devido a isso, é mais conveniente a aquisição de espectros detectando núcleos atômicos com apenas um núcleo desemparelhado, tais como  $^1\text{H}$ ;  $^{13}\text{C}$ ;  $^{15}\text{N}$  (por sorte, os ele-

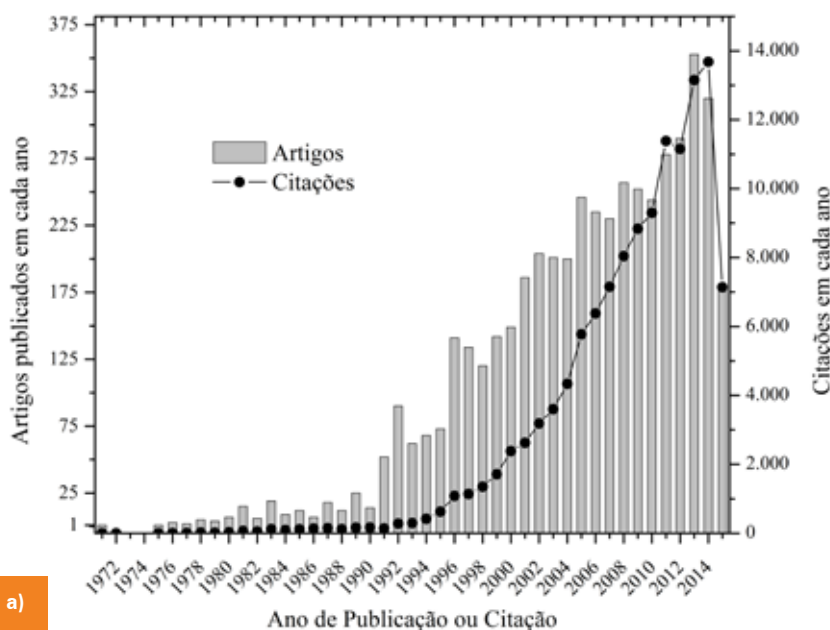


Figura 1. (a) Número de artigos científicos publicados e de citações por ano utilizando RMN para a análise de solos. Busca realizada em 29 de junho de 2015, *Web of Science*. (b) Equipamento de RMN instalado no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (Rio de Janeiro)

mentos mais relevantes para a química orgânica) e  $^{31}\text{P}$ .

Porém, diferentemente de outras técnicas espectroscópicas, como a espectroscopia eletrônica (absorção de energia na região do ultravioleta-visível), para que seja possível a detecção, a amostra precisa estar submetida a um campo magnético externo, de forma que os pequenos magnetos subatômicos (prótons e ou nêutrons desemparelhados) interajam com esse campo magnético e estejam aptos a absorver energia e, assim, serem detectados.

Atualmente, esse campo magnético externo é gerado por supermagnetos, cujas bobinas precisam ser resfriadas com He líquido (cerca de 4K ou  $-269^\circ\text{C}$ ), o que torna a manutenção desses equipamentos extremamente onerosa, resultando em custos ao redor de R\$ 500 por hora de uso do equipamento. Isso é agravado pela baixíssima sensibilidade da RMN quando comparada a outras espectroscopias. Atendem que nem todos os núcleos de determinado elemento químico podem ser detectados por RMN. Por exemplo, o  $^{12}\text{C}$ , isótopo de C mais abundante (98,9%),

não pode ser detectado por RMN, ou seja, quando analisamos o C, detectamos apenas 1,1 % (abundância natural do  $^{13}\text{C}$ , detectável por RMN) de todos os carbonos da amostra. Porém, por sorte, esses isótopos estão distribuídos de forma praticamente aleatória na amostra de maneira que sua análise corresponde a uma amostragem aleatória e representativa de toda a composição da amostra.

Essa limitação de baixa sensibilidade é contornada com a repetição dos experimentos, ou seja, somam-se centenas ou milhares de observações (espectros), para que os pequenos sinais passem a ser observados. Por exemplo, para se obter o espectro de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido de uma amostra de ácidos húmicos purificados (com um teor de C ao redor de 60%), em um equipamento com um magneto de 11,7 T (Figura 1b, custo aproximado de US\$ 600.000), é necessária uma análise ao redor de 30min a uma hora.

A mensagem que pretendemos deixar é que, apesar da elevada resolução (capacidade em separar sinais de diferentes grupos químicos) e da enorme

quantidade de informações que a RMN pode fornecer, trata-se de uma técnica onerosa e de elevado grau de complexidade. Portanto, não deve ser indicada como análise de rotina, assim como, quando disponível, deve ser utilizada com parcimônia; ou seja, se outras técnicas mais simples e menos onerosas fornecem a mesma informação que se busca, deve-se utilizá-las. Mas, caso seja realmente justificado o uso da RMN, deve-se estudar e analisar os espectros com critério e dedicação, extraindo-se o máximo das informações disponíveis.

Com a RMN, pode-se analisar - não destrutivamente - amostras sólidas, líquidas, gasosas e em solução. Porém, na Ciência do Solo é mais comum a análise no estado sólido, devido aos seus componentes serem pouco solúveis e ao fato de se evitar diluições (lembra-se da baixa sensibilidade da técnica e, ao se diluir a amostra, diminui-se drasticamente o número de núcleos de interesse que se pode detectar), além de eventuais alterações das amostras pelo uso de solventes.

A aplicação da espectroscopia de

RMN a amostras de solos se concentra principalmente na detecção dos núcleos de  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^1\text{H}$ ,  $^{27}\text{Al}$ ,  $^{29}\text{Si}$  e  $^{31}\text{P}$ , podendo-se citar ainda os núcleos de  $^{129}\text{Xe}$ ,  $^{23}\text{Na}$  e  $^{11}\text{B}$ , entre outros.

Porém, a aplicação mais abrangente da espectroscopia de RMN à Ciência do Solo se refere ao estudo da matéria orgânica do solo (MOS), como: para avaliar sua composição e estrutura; acompanhar suas transformações; avaliar os efeitos de diferentes sistemas de manejo do solo, e interação com componentes inorgânicos e orgânicos.

A RMN apresenta a vantagem de poder ser utilizada para a análise da MOS sem a necessidade de extraí-la do solo; porém, seus espectros são significativamente diferentes daqueles da matéria orgânica extraída, especialmente pelo alargamento das linhas e grande redução da relação sinal/ruído devido à presença de grandes quantidades de íons paramagnéticos (especialmente  $\text{Fe}^{3+}$ , típico de solos brasileiros) nas amostras intactas.

Consequentemente, uma grande parte da matéria orgânica do solo pode ser "obscurecida" por íons paramagnéticos. A fração obscurecida pode ser exatamente a matéria orgânica ligada aos íons paramagnéticos, ou seja, ser exatamente a fração mais reativa dessa

matéria orgânica e também a principal forma de associação organomineral encontrada em solos.

Outro problema semelhante seria que, em complexos organominerais, parte da matéria orgânica pode não ser detectada por RMN e esta fração "invisível" pode ser, por exemplo, a matéria orgânica mais humificada ligada à fração argila do solo. Novamente, essa fração não detectável tem uma grande importância agrônômica e ambiental.

Nesses casos, recomenda-se o pré-tratamento da amostra de solo com solução de HF 10 % ou HF/HCl, que solubiliza os silicatos e tem-se mostrado eficiente também para a eliminação dos oxihidróxidos, concentrando, assim, a MOS e possibilitando a obtenção de espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ .

Provavelmente, não se elucida a "estrutura" das substâncias húmicas por RMN, mesmo porque, atualmente, não se acredita em uma estrutura única para esses compostos, mas sim entende-se a MOS como uma mistura complexa de todos os compostos encontrados nos seres vivos, em diferentes estádios de alteração. Porém, a espectroscopia de  $^{13}\text{C}$  RMN pode ser utilizada para caracterizar a matéria orgânica do solo e acompanhar suas transformações, visto que os diversos compostos que dela fazem

parte têm diferentes taxas de alteração e mineralização, e alguns compostos sintetizados pelos microrganismos do solo também podem ser detectados por RMN de  $^{13}\text{C}$ .

Um espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN (Figura 2) pode ser entendido como um histograma de frequências, sendo a abscissa o deslocamento químico com escala em ppm (que não se relaciona com unidade de concentração) e que fornece a "identidade" do grupo químico responsável pelo sinal, enquanto que a ordenada, a intensidade, ou área, desse sinal é proporcional à quantidade desse grupo químico.

Entretanto, devido à complexidade da MOS, normalmente não se busca a identificação individual dos seus componentes, mas se divide os espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN em grandes regiões (como as classes de um histograma), que separam as funcionalidades químicas mais relevantes da MOS, como segue: 0-45 ppm: alquilas, principalmente de estruturas alifáticas como ácidos graxos; 45-60 ppm: metoxila, da lignina e N-alquila, de proteínas; 60-110 ppm: O-alquila e di-O-alquila de carboidratos, principalmente celulose; 110-145 ppm: grupos arila da lignina e carbono pirogênico (carvões); 145-160 ppm: O-arila também da lignina e fenóis; 160-190 ppm: carboxila de ácidos orgânicos; e 190-230 ppm: carbonilas de aldeídos e cetonas. A área (integral) de cada uma dessas regiões é proporcional ao conteúdo de cada um desses grupos funcionais.

Como exemplos de aplicação, podemos citar que cultivos conservacionistas, como o plantio direto, preservam estruturas mais lábeis nos ácidos húmicos, como carboidratos da celulose, em comparação ao plantio convencional, com aração e gradagens, onde observa-se um acúmulo relativo de estruturas mais recalcitrantes com grupos aromáticos e alquilas hidrofóbicas.

Outra característica interessante observada por RMN de  $^{13}\text{C}$  é a tendência de ácidos húmicos de climas tropicais e subtropicais apresentarem uma menor humificação (entendida como maiores proporções de estruturas lábeis, em especial derivados da celulose), quando

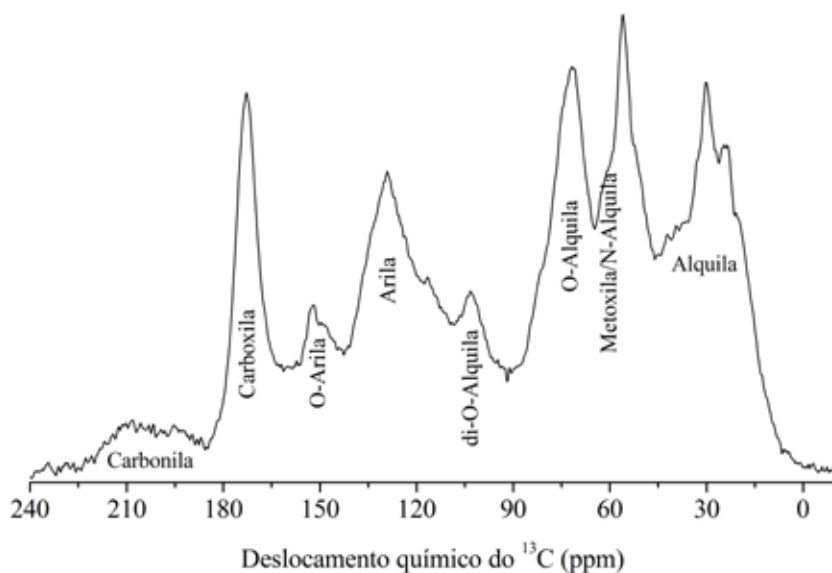


Figura 2. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  típico de ácidos húmicos tropicais.

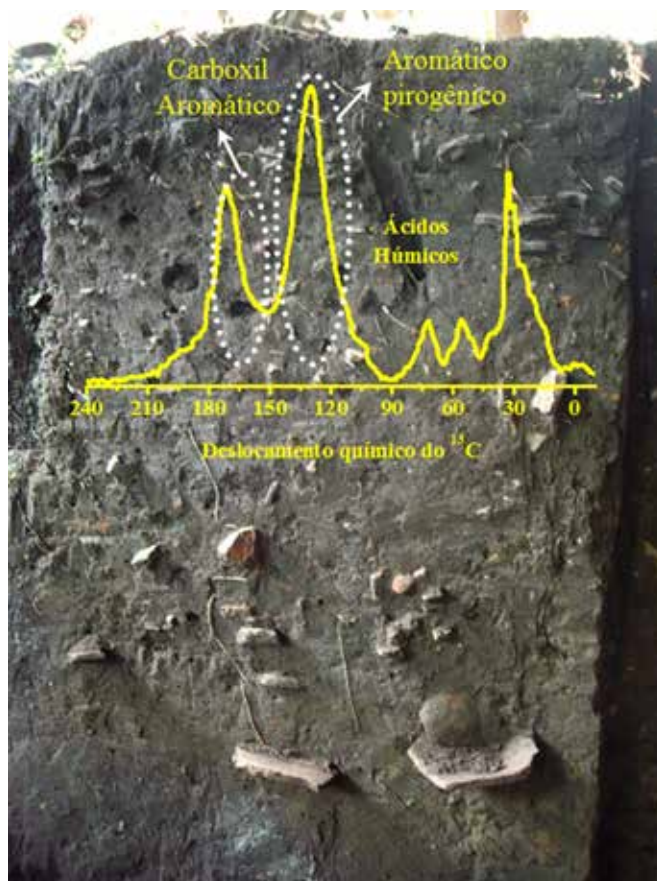
comparados àqueles obtidos de solos de regiões temperadas. Isso se deve à ciclagem mais rápida da MOS em áreas (sub) tropicais, em que não há “tempo” para a maior maturação da MOS, pelo contínuo aporte e decomposição da biomassa. A  $^{13}\text{C}$  RMN foi fundamental para elucidar a elevada fertilidade e resiliência das famosas Terras Pretas de Índio, que apresentam elevados teores de C pirogênico (estruturas aromáticas policondensadas), porém, altamente funcionalizado com grupos carboxílicos, resultando em elevada CTC em compostos recalcitrantes, com maior resistência à degradação, mesmo sob condições de cultivo intenso.

Em comparação aos espectros de  $^{13}\text{C}$ , espectros de RMN de  $^{15}\text{N}$  da MOS são mais simples e se caracterizam por um sinal pronunciado em -260 ppm, que é indicativo de grupos amida. Já sinais em -345 ppm são atribuídos a grupos amino. Em amostras provenientes de áreas submetidas à queimada, natural ou provocada, é possível identificar sinais em torno de -200 a -240 ppm, devido à presença de N heterocíclico, geralmente estruturas do tipo N-pirrol.

A espectroscopia de RMN de  $^{31}\text{P}$  tem contribuído sobremaneira para os estudos da ciclagem de P no solo, particularmente sobre o P orgânico. Essa técnica permite distinguir os compostos de P nas categorias de ortofosfato-monoesters e de ortofosfato-di-esters, que são as formas principais de P orgânico, que diferem quanto à sua biodisponibilidade e reatividade no ambiente. Um procedimento comum no estudo de P é sua extração e a obtenção de espectros no estado líquido. Porém, diferentemente do  $^{13}\text{C}$ , o deslocamento químico (a “identidade”) dos sinais de  $^{31}\text{P}$  variam muito em função das condições físico-químicas do meio (por exemplo, pH e força iônica). Então, é necessária a consulta de livrarias com dezenas de compostos de P sob diferentes condições experimentais para a correta atribuição dos sinais.

A espectroscopia de RMN de  $^{27}\text{Al}$  e de  $^{29}\text{Si}$  tem sido usada por cientistas de solo para a investigação de imperfeições no retículo cristalino de minerais de baixa cristalinidade, como imogolita e alofana. RMN de  $^{27}\text{Al}$  permite diferenciar Al tetraédrico ( $^{\text{IV}}\text{Al}$ ) de Al octaédrico ( $^{\text{VI}}\text{Al}$ ), devido ao diferente deslocamento químico das duas formas de coordenação de Al em minerais, enquanto a RMN de  $^{29}\text{Si}$  apresenta espectro mais uniforme. A combinação de RMN desses dois núcleos tem se mostrado muito útil na elucidação da estrutura e da formação de minerais alofânicos em Andossolos.

O isótopo  $^{129}\text{Xe}$  é uma sonda muito interessante, porque seu deslocamento químico é extremamente sensível às interações que o Xe adsorvido estabelece no espaço poroso. Em vista disso, a RMN de  $^{129}\text{Xe}$  tem sido utilizada para o estudo da porosidade em diversas amostras sólidas, inclusive solos. Com isso, informações importantes sobre geometria e tamanho de poros e sua simetria podem ser obtidos. Além do estudo direto da geometria de meios porosos, a incorporação de compostos orgânicos de baixo peso molecular em



Fonte: Eitelvino H. Novotny

óxidos de ferro foi evidenciada por essa técnica, confirmando o importante papel dos óxidos de ferro na estabilização do C em solos.

Em resumo, a espectroscopia de RMN é uma técnica não destrutiva e representa uma poderosa ferramenta no estudo da dinâmica de compostos orgânicos e de alguns componentes inorgânicos no solo e nos processos que nele ocorrem. No entanto, existem limitações à sua aplicação em matrizes ambientais, especialmente no que diz respeito a interferentes paramagnéticos (tais como Fe) ou questões técnicas quanto à forma de aquisição dos espectros, pois, sob algumas condições, perde-se o caráter quantitativo das análises, e na interpretação de seus resultados, essas limitações devem ser consideradas. Apesar da sua elevada versatilidade e capacidade de fornecer informações únicas sobre a estrutura e composição de compostos orgânicos e inorgânicos, trata-se de uma análise cara e extremamente especializada, não podendo ser considerada de rotina. Deve ser utilizada em amostras selecionadas e que tenham sido obtidas criteriosamente, além de que seus resultados devem ser interpretados à exaustão, de forma a otimizar-se o seu uso.