

*Resumos*

**II Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis**  
VII Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril



8 de Agosto de 2018

Sinop, MT



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

**Resumos do  
II Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis e da  
VII Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril**

***Editores Técnicos***

Alexandre Ferreira do Nascimento

Daniel Rabello Ituassu

Eulália Soler Sobreira Hoogerheide

Fernanda Satie Ikeda

José Ângelo Nogueira de Menezes Júnior

Marina Moura Morales

***Embrapa  
Brasília, DF  
2018***

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Agrossilvipastoril**

Rodovia dos Pioneiros, MT 222, km 2,5

Caixa Postal: 343

78550-970 Sinop, MT

Fone: (66) 3211-4220

Fax: (66) 3211-4221

[www.embrapa.br/](http://www.embrapa.br/)

[www.embrapa.br/fale-conosco/sac](http://www.embrapa.br/fale-conosco/sac)

**Unidade responsável pelo conteúdo e pela edição**

Embrapa Agrossilvipastoril

Comitê de publicações

Presidente

*Flávio Fernandes Júnior*

Secretária-executiva

*Fernanda Satie Ikeda*

Membros

*Aisten Baldan, Alexandre Ferreira do Nascimento, Daniel Rabelo Ituassú, Dulândula Silva Miguel Wruck, Eulália Soler Sobreira Hoogerheide, Jorge Lulu, Rodrigo Chelegão, Vanessa Quitete Ribeiro da Silva*

Normalização bibliográfica

*Aisten Baldan (CRB 1/2757)*

**1ª edição**

Publicação digitalizada (2019)

**Todos os direitos reservados.**

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

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

Embrapa Agrossilvipastoril.

---

Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis; Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril (7. : 2018 : Sinop, MT.)

Resumos ... / Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis e da VI Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril / Alexandre Ferreira do Nascimento (et. al.), editores técnicos – Brasília, DF: Embrapa, 2018.

PDF (215 p.) : il. color.

ISBN 978-65-87380-45-2

1. Congresso. 2. Agronomia. 3. Ciências ambientais. 4. Zootecnia. I. Embrapa Agrossilvipastoril. III. Título.

CDD 607

---

*Aisten Baldan (CRB 1/2757)*

© Embrapa, 2021

## **Editores Técnicos**

### **Alexandre Ferreira do Nascimento**

Engenheiro agrônomo, doutor em Solos e nutrição de plantas, pesquisador da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

### **Daniel Rabello Ituassu**

Engenheiro de Pesca, mestre em Biologia de Água Doce e Pesca, pesquisador da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

### **Eulália Soler Sobreira Hoogerheide**

Engenheira agrônoma, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

### **Fernanda Satie Ikeda**

Engenheira agrônoma, doutora em Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

### **José Ângelo Nogueira de Menezes Júnior**

Engenheiro agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento, pesquisador da Embrapa Meio-Norte, Sinop, MT

### **Marina Moura Morales**

Química, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Florestas, Sinop, MT



## Desenvolvimento de metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS) para determinação de carbono pirogênico em amostras de solo

Jussane Antunes Fogaça dos Santos<sup>1\*</sup>, Bruno Rafael Silva<sup>2</sup>, Fabiano André Petter<sup>1</sup> Marina Moura Morales<sup>3</sup>

<sup>1</sup>UFMT, Sinop, MT, \*jussaneantunes@hotmail.com, petter.fabiano@gmail.com,

<sup>2</sup>Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT, bruno.rafael@embrapa.br,

<sup>3</sup>Embrapa Florestas, Sinop, MT, marina.morales@embrapa.br.

### Introdução

O carbono pirogênico ( $C_{Py}$ ) é formado durante a combustão incompleta de biomassas e possui grande interesse científico por estar associado a fertilidade do solo e no combate ao aquecimento global e poluição ambiental (Sánchez-García et al., 2013; Cernansky, 2015).

A decomposição do  $C_{Py}$  por ácido nítrico sob alta temperatura e pressão produz um conjunto de produtos de degradação aromática, os ácidos benzenopolicarboxílicos (BPCAs). Deste modo, os BPCAs permitem quantificar o  $C_{Py}$  no solo além de cooperar no entendimento de formação e comportamento deste material (Schneider et al., 2011).

Os BPCAs podem ser analisados por cromatografia gasosa (GC) ou por cromatografia líquida (LC), sendo este primeiro o mais utilizado. Entretanto, a análise por LC tem demonstrado em alguns estudos maiores vantagens e benefícios em razão do menor número de etapas na preparação da amostra, minimizando fontes de erros e perdas sistemáticas (Schneider et al., 2011; Hindersmann; Achten, 2017).

Desta forma, objetivou-se avaliar o método de análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas Sequencial (LC-MS/MS) em comparação ao método por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS), de acordo com a caracterização de BPCAs em amostras de Latossolo e Plintossolo tratados com doses de biocarvão (BC).

### Material e Métodos

O estudo foi realizado na Embrapa Agrossilvipastoril, localizada no município de Sinop, MT. Os equipamentos utilizados foram: cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (7890A) e cromatógrafo líquido acoplado a espectrômetro de massas sequencial (UPLC-MS/MS) ambos Agilent Technologies.

As amostras de Latossolo e Plintossolo foram obtidas em área experimental instaladas no município de Nova Xavantina, MT, para cultivo agrícola. Na área com Latossolo, aplicou-se, em 2006, 0, 5 e 16 t ha<sup>-1</sup> de biocarvão produzido a partir de serragem de espécies nativas do Cerrado, onde foi cultivado soja. No Latossolo, aplicou-se em 2008, 0, 16 e 32 t ha<sup>-1</sup> de



biocarvão produzido a partir de serragem de eucalipto, onde foram cultivados arroz nos 2 primeiros anos e soja. Os biocarvões foram produzidos por pirólise lenta a 450 °C e aplicados aos solos manualmente a lanço, incorporando-se a 15 cm de profundidade com enxada rotativa. As amostras foram coletadas na safra 2015/2016.

Baseando-se na metodologia descrita por Glaser et al (1998) as amostras foram hidrolisadas com ácido trifluoroacético (TFA) 4 M, após filtração e secagem, e 100 mg de cada material hidrolisado foram oxidados em tubos de digestão com 2 mL de ácido nítrico 65% submetendo-os a 170 °C por 8 horas em aparelho de digestão de alta pressão (Mars 6 CEM). Filtrou-se a solução da digestão e os resíduos foram avolumados em balão volumétrico de 10 mL. Inseriu-se alíquotas de 2 mL em tubos de ensaio contendo 4 mL de água e 100 µL de solução de 6 mmol de ácido ftálico (padrão interno 1) e, em seguida, transferiu-se a mistura para colunas Dowex 50WX8 (colunas de 20 cm com 4 g de resina Dowex) para purificação. Os padrões externos foram preparados e evaporados, os resíduos foram redissolvidos para derivatização em 3 mL de metanol evaporando o solvente. Em seguida, 100 µL de solução de 25 mg de bifenil-2,2-ácido dicarboxílico dissolvidos em 25 mL de metanol (padrão interno 2) foram adicionados e novamente evaporado. Em cada amostra transferiu-se 98 µL de BSTFA, 2 µL de TSIM e 50 µL de tolueno, os frascos foram vedados e aquecidos a 90 °C por 2 horas para análise por GC.

Na análise por LC, após a etapa de evaporação, adicionou-se 500 µL de ácido fórmico 4% centrifugando-se em seguida a 1.4000 rpm por 5 minutos. As condições cromatográficas contou com duas fases móveis, ácido fórmico 4% (fase móvel A) e acetonitrila (fase móvel B). Utilizou-se coluna Zorbax Eclipse C18 4,6x150 mm 3,5 µm e o volume de injeção foi de 20 µL. Aplicou-se um gradiente de eluição inicial de 90% da fase móvel A até 30% em 12 minutos com fluxo de eluente de 0,3 mL min<sup>-1</sup>. Para as condições de espectrometria de massas utilizou-se modo MRM e transições monitoradas (241-152,1; 165-120,7; 209-120,8; 209-164,6; 253-120,7; 341-190,3).

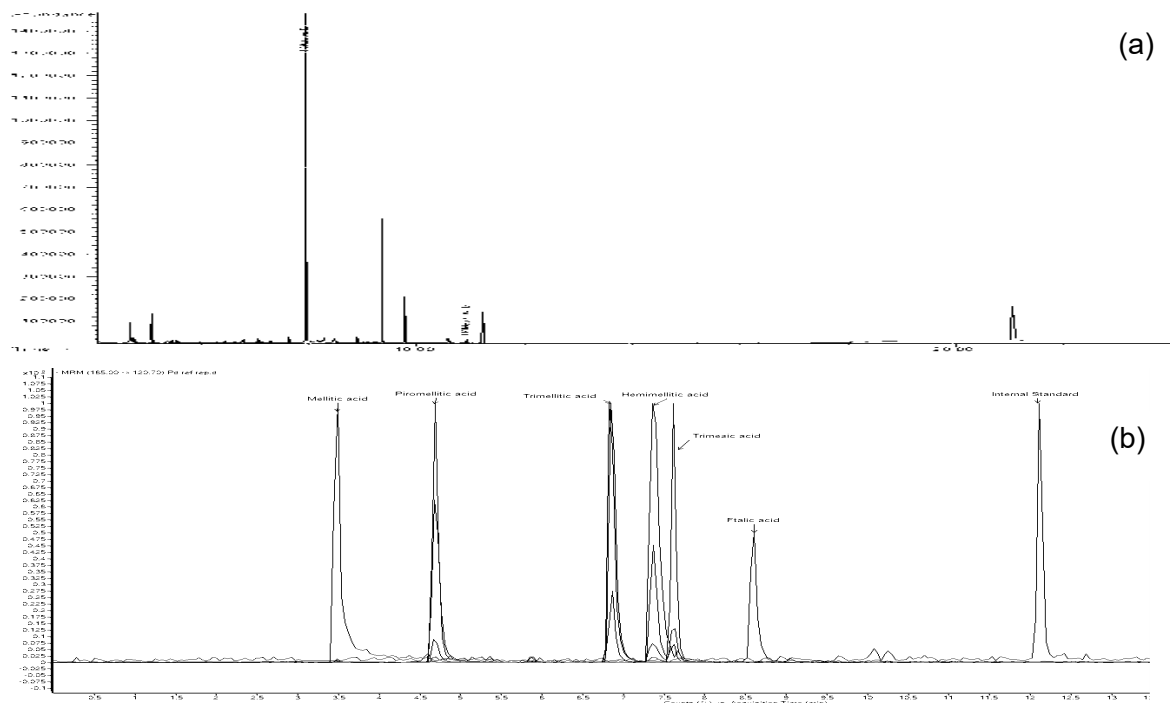
## Resultados e Discussão

Os cromatogramas dos padrões de referência analisados por LC e GC estão contidos na Figura 1. Em ambos os cromatogramas é possível perceber uma boa resolução cromatográfica, entretanto na análise por GC os padrões dos ácidos triméltico, hemiméltico e trimésico ficaram abaixo do limite de quantificação esperado (1 ppm). Em contrapartida, a sensibilidade na análise por LC ficou abaixo de 100 ppb para todos os compostos analisados.

O equipamento de UPLC-MS/MS possui alta sensibilidade alcançando baixos limites de quantificação, ou seja, valores mínimos de concentração de BPCAs puderam ser



quantificados. No entanto, resultados não puderam ser obtidos por GC-MS uma vez que a curva de calibração não pôde ser formada.



**Figura 1.** Cromatogramas dos padrões de BPCAs analisados por GC-MS (a) e UPLC-MS/MS (b).

Os resultados obtidos por cromatografia líquida apresentados na Tabela 1, são satisfatórios e evidenciam que o método foi desenvolvido e aplicado com êxito. Somente o ácido trimésico não foi quantificado em nenhuma das amostras analisadas, pois os resultados encontrados ficaram abaixo do limite de quantificação (LQ) do método de  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ .

**Tabela 1.** Resultados das análises de BPCAs por UPLC-MS/MS.

Amostra	BC (t)	Hemimelítico ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Trimelítico ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Trimésico ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Piromelítico ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Melítico ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	BPCAs total ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
Latossolo	0	< LQ	1,03	< LQ	2,24	0,13	3,40
Latossolo	8	2,79	2,30	< LQ	3,33	< LQ	8,42
Latossolo	16	5,36	3,49	< LQ	5,85	< LQ	14,70
Plintossolo	0	< LQ	1,09	< LQ	1,97	< LQ	3,06
Plintossolo	16	14,17	5,60	< LQ	8,25	< LQ	28,02
Plintossolo	32	6,54	3,35	< LQ	6,91	0,35	17,15



Em estudo realizado por Hindersmann e Achten (2017) a análise por LC-UV também se sobressaiu em relação ao método por GC, segundo os autores, há mais fontes de erros e perdas sistemáticas pelo GC devido várias limpezas e etapas processuais das amostras.

Além da elevada sensibilidade, o método de análise por LC-MS/MS apresentou menor tempo de análise tanto na etapa preparativa, aproximadamente 4 horas a menos em relação ao método por GC-MS, quanto na etapa analítica, 15 minutos a menos por amostra em comparação ao método por cromatografia gasosa.

### **Conclusão**

A análise por cromatografia líquida apresentou melhor resultado nas análises de BPCAs em amostras com baixo teor de  $C_{py}$  em relação a GC, apresentando menor limite de detecção, bem como tempo de análise inferior.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa de Mato Grosso (Fapemat) e Embrapa pelo financiamento da pesquisa.

### **Referências**

- CERNANSKY, R. State of the art soil. **Nature**, v. 517, n. 7534, p. 258-260, 2015.
- GLASER, B.; HAUMAIER, L.; GUGGENBERGER, G.; ZECH, W. Black carbon in soils: the use of benzenecarboxylic acids as specific markers. **Organic Geochemistry**, v. 29, n. 4, 811-819, 1998.
- HINDERSMANN, B.; ACHTEN, C. Accelerated benzene polycarboxylic acid analysis by liquid chromatography-time-of-flight-mass spectrometry for the determination of petrogenic and pyrogenic carbon. **Journal of Chromatography A**, v. 1510, p. 57-65, 2017.
- SÁNCHEZ-GÁRCIA, L.; ANDRÉS, J. R.; GÉLINAS, Y.; SCHMIDT, M. W. I.; LOUCHOUARN, P. Different pools of black carbon in sediments from the Gulf of Cádiz (SW Spain): method comparison and spatial distribution. **Marine Chemistry**, v. 151, p. 13-22, 2013.
- SCHNEIDER, M. P. W.; SMITTENBERG, R. H.; DITTMAR, T.; SCHMIDT, M. W. I. Comparison of gas with liquid chromatography for the determination of benzenepolycarboxylic acids as molecular tracers of black carbon. **Organic Geochemistry**, v. 42, n. 3, p. 275-282, 2011.