

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

Caracterização, Aproveitamento e
Geração de Novos Produtos
de Resíduos Agrícolas,
Agroindustriais e
Urbanos

EDITORES

Débora Marcondes Bastos Pereira Milori
Ladislau Martin Neto
Wilson Tadeu Lopes da Silva
José Manoel Marconcini
Victor Bertucci Neto

Embrapa Instrumentação
São Carlos, SP
2010

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação

Rua XV de Novembro, 1452
Caixa Postal 741
CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: (16) 2107 2800
Fax: (16) 2107 2902
www.cnpdia.embrapa.br
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: João de Mendonça Naime
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,
Sandra Protter Gouvea
Washington Luiz de Barros Melo
Valéria de Fátima Cardoso
Membro Suplente: Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior

Supervisor editorial: Victor Bertucci Neto
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso
Tratamento de ilustrações: Camila Fernanda Borges
Capa: Camila Fernanda Borges
Editoração eletrônica: Camila Fernanda Borges

1ª edição

1ª impressão (2010): tiragem 300

Todos os direitos reservados.

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

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Instrumentação

C257 Caracterização, Aproveitamento e Geração de Novos Produtos de Resíduos Agrícolas,
Agroindustriais e Urbanos. / Débora Marcondes B. P. Milori, Ladislau Martin-Neto,
Wilson Tadeu Lopes da Silva, José Manoel Marconcini, Victor Bertucci Neto editores. -- São
Carlos, SP: Embrapa Instrumentação, 2010.
154 p.

ISBN:

1. Reciclagem. 2. Meio ambiente. 3. Agricultura. 4. Agroenergia. 5. Novos materiais.
6. Seqüestro de carbono. 7. Solos. 8. Lodo de esgoto. 9. Substância húmicas. 10. Águas
residuárias. I. Milori, Débora Marcondes B. P. II. Martin-Neto, Ladislau.
III. Silva, Wilson Tadeu Lopes da. IV. Marconcini, José Manoel. V. Bertucci Neto, Victor.

CDD 21 ED 628.4458
631
363.7

© Embrapa 2010



CARACTERIZAÇÃO DE ÁCIDOS HÚMICOS POR FLUORESCÊNCIA TRIDIMENSIONAL EM SOLOS SOB APLICAÇÃO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS

Cleber Hilário dos Santos^{1,2*}; Débora Marcondes Bastos Pereira Milori¹; Marcelo Camponez do Brasil Cardinali^{1,3}; Ladislau Martin-Neto¹; Célia Regina Montes⁴; Adolpho José Melfi⁵

¹Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP. ²Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, SP. ³Universidade de São Paulo, Instituto de Física de São Carlos, São Carlos, SP. ⁴Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, SP. ⁵Universidade de São Paulo, Departamento de Solos e Nutrição de Plantas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. E-mail: cleber@cnpdia.embrapa.br

Plano de Ação: PA2 n°: 02.07.06.003.00.02

Resumo - Estudou-se através da espectroscopia de fluorescência no modo matriz excitação-emissão (3D) as alterações nos ácidos húmicos extraídos do solo submetidos ou não a aplicação de águas residuárias. Os resultados obtidos demonstraram que a irrigação com águas residuárias promoveu um aumento na concentração de estruturas fluorescentes em geral, privilegiando a concentração de estruturas mais complexas ou humificadas na superfície, possivelmente acarretado por um aumento na atividade microbiana e conseqüente degradação da matéria orgânica do solo.

Palavras-chave: ácido húmico, fluorescência no modo matriz excitação-emissão, águas residuárias e matéria orgânica.

Introdução

Em todo o mundo, devido a sua escassez, existe uma crescente competição pelo uso de água entre diversos setores da sociedade. O consumo de água na agricultura é grande em relação a outros tipos de uso, podendo afetar a disponibilidade deste recurso para a população urbana se este não for bem administrado. No Brasil, a agricultura consome cerca de 61% da água doce total (CHRISTOFIDIS, 2001). Portanto, é desejável uma realocação dos recursos hídricos usados na agricultura para outros setores.

Entre as diferentes alternativas utilizadas pelas sociedades contemporâneas para solucionar ou minimizar este problema, visando à utilização racional e eficiente desse precioso recurso natural, o reuso de águas residuárias é uma opção viável econômica e ambientalmente correta. Um ponto importante que favorece a utilização de efluente de esgoto tratado (EET) na irrigação de culturas é o fato do solo, juntamente com as plantas, atuar como "filtro vivo", absorvendo e retendo nutrientes e poluentes.

A matéria orgânica do solo (MOS) consiste de uma mistura de produtos animais e vegetais em vários estágios de decomposição, resultantes da degradação química, biológica, e da atividade sintética dos microrganismos. A matéria orgânica (MO) inclui todos os constituintes orgânicos do solo, inclusive tecidos de plantas e animais não decompostos, seus produtos de decomposição parcial e a biomassa do solo (STEVENSON, 1994; SCHNITZER, 1982).

Os componentes mais recalcitrantes da MOS, as substâncias húmicas (SH), constituem o maior reservatório de carbono orgânico na Terra e tem um papel importante tanto na fertilidade quanto na estabilização de agregados do solo.

As SH, por sua vez, são macromoléculas ou estruturas supramoleculares, com massa molecular e estruturas variáveis. Possuem características físicas e químicas não bem definidas e que podem ser divididos em ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) e huminas, com base nas suas características de solubilidade (STEVENSON, 1994).

A espectroscopia de fluorescência por luz UV-Visível fornece informações que podem ser usadas para diferenciar e classificar MO natural de acordo com a sua origem, gênese e natureza, também para identificar estruturas moleculares e funcionalidades, sendo sensível à presença de metais pesados e contaminantes orgânicos.

Espectroscopia tridimensional de matrizes de fluorescência de excitação-emissão (MEE) ou do inglês Excitation-Emission Matrix (EEM), são geradas pela obtenção de espectros de excitação e de espectros de emissão de uma amostra. Os espectros de excitação são produzidos pela medida da intensidade de luminescência mantendo-se constante o comprimento de onda de emissão e varrendo-se o de excitação. Espectros de emissão são obtidos de forma contrária, mas através do mesmo princípio, mantendo-se a excitação constante e varrendo-se o modo de emissão (TREVISAN, 2003).

A modalidade de MEE baseia-se na obtenção de um espectro tridimensional a partir de vários espectros individuais de emissão. Os diferentes laboratórios, que estudam SH por fluorescência, utilizam freqüentemente diferentes valores de comprimentos de onda de excitação e de emissão, dificultando uma comparação entre distintos estudos. Por esta razão, ainda não foi bem estabelecida uma “impressão digital” consistente das SH obtidas por fluorescência (SIERRA et al., 2005).

Esta técnica tem sido utilizada, com sucesso, na diferenciação estrutural de SH extraídas de solos, com e sem adubação com rejeitos orgânicos (lodos) (BERTONCINI et al., 2005; PLAZA et al., 2006), no estudo das reações de metais, como o Cu^{2+} , Zn^{2+} e Ni^{2+} por SH extraídas de turfas, compostos e solos (PLAZA et al., 2005; PROVENZANO et al., 2004).

O objetivo do trabalho foi caracterizar os ácidos húmicos extraídos do solo submetidos ou não a aplicação de águas residuárias, utilizando a espectroscopia de fluorescência tridimensional.

Materiais e métodos

O solo analisado é um Argissolo Vermelho submetido a diferentes tratamentos: SI-sem irrigação e sem fertilização nitrogenada mineral (FNM); W100-irrigação com água de consumo e 100% ($520 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) da dose recomendada de FNM para o capim Tifton - 85; E0-irrigação com efluente e 0% ($0 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) da FNM; E33-irrigação com efluente e 33% ($171,6 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) da FNM; E66-irrigação com efluente e 66% ($343,2 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) da FNM; E100-irrigação com efluente e 100% ($520 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) da FNM.

O material analisado (AH) foi extraído segundo metodologia de extração de AH, sugerida pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS).

Os AH foram dissolvidos em uma solução de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ com concentração de 20 mg L^{-1} e o pH igual a 8 (MILORI et al., 2002). Essa concentração foi utilizada para minimizar o efeito de reabsorção de fluorescência e reduzir interação entre moléculas. Após o preparo das soluções, os espectros de fluorescência no modo excitação-emissão (3D) foram medidos utilizando-se o espectrômetro de luminescência Perkin Elmer modelo LS-50B. A abertura das fendas de entrada e de saída foi 10 nm e a velocidade de varredura foi de 500 nm/min.

Os espectros de excitação-emissão (3D) foram adquiridos no intervalo de varredura entre 240 a 700 nm para emissão e 220 a 510 nm para excitação. Foram obtidos sem filtro, com um incremento de excitação de 10 nm totalizando 30 varreduras.

O índice R_{3D} obtido através da MEE foi baseado no cálculo da razão entre a intensidade máxima de fluorescência relativa situada no centro das curvas de nível (470 nm) e a intensidade de fluorescência relativa (IFR) da última curva de nível (320 nm), dos pares de comprimentos de onda excitação-emissão (PCEE) do máximo do pico principal da região característica para avaliação do grau de humificação.

Resultados e discussão

Os espectros de fluorescência tridimensionais no modo matriz excitação-emissão (ou curvas de nível) dos AH estão representados nas Figuras 1 e 2.

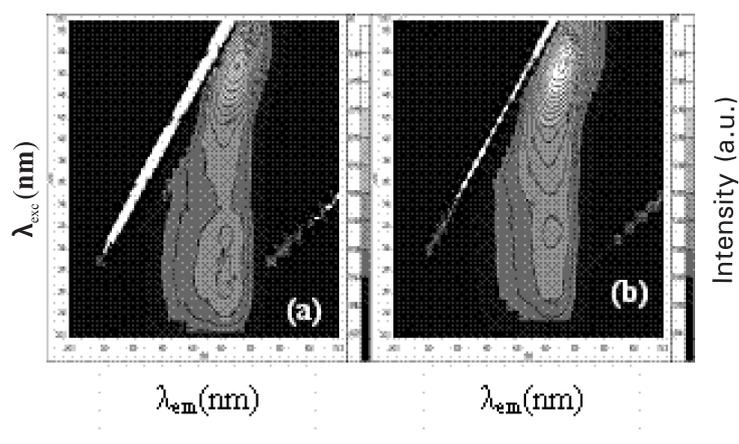


Figura 1 - Espectro de fluorescência no modo matriz excitação-emissão (EEM) obtidos para os AH na camada de 0-10 cm: (a) W100 - irrigação com água de consumo e 100% da FNM; e (b) E100-irrigação com efluente e 100% da FNM.

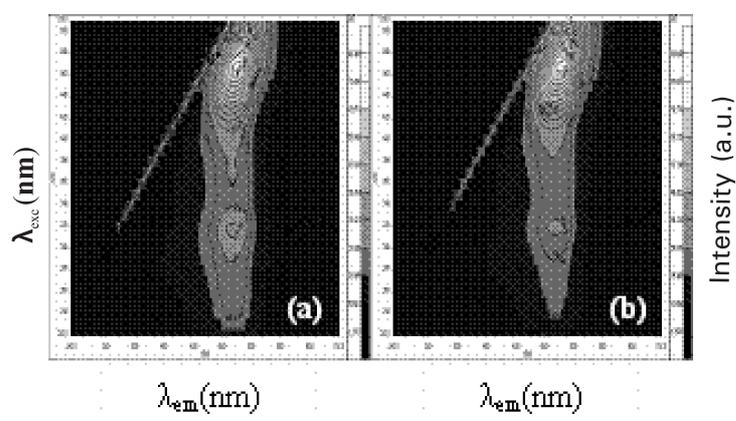


Figura 2 - Espectro de fluorescência no modo matriz excitação-emissão (EEM) obtidos para os AH na camada de 80-100 cm: (a) W100 - irrigação com água de consumo e 100% da FNM; e (b) E100-irrigação com efluente e 100% da FNM.

Comparando-se os tratamentos W100 e E100, observou-se que a irrigação com águas residuárias leva a um aumento significativo na intensidade de emissão de fluorescência em todas as profundidades (~ 30%).

Os resultados do índice R_{3D} obtido através da MEE das amostras de AH extraídos do solo submetidos ou não a aplicação de águas residuárias estão representados na Figura 3.

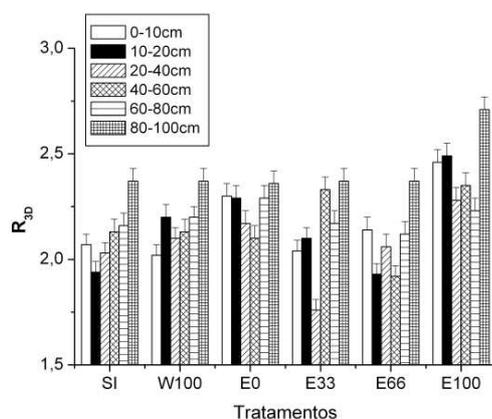


Figura 3 - Valores do índice R_{3D} obtidos para os AH extraídos dos solos submetidos e não submetidos à aplicação de águas residuárias e submetidos à aplicação de água de consumo pela MEE.

Pela relação entre os picos (R_{3D}), mostrada na Figura 3, a irrigação com águas residuárias modifica as estruturas nas camadas superficiais, promovendo um aumento de estruturas mais complexas cuja excitação é em 470 nm. Portanto, a irrigação com águas residuárias acarreta um aumento na concentração de estruturas fluorescentes em geral, e privilegia a concentração de estruturas mais complexas ou humificadas na superfície.

A irrigação com águas residuárias leva a um aumento mais significativo da atividade microbiana e conseqüente degradação da matéria orgânica do solo, aumentando a quantidade e o grau de humificação dos AH do solo. Embora, também ocorra o deslocamento de substâncias húmicas solúveis em função da irrigação, os ácidos húmicos parecem ficar mais retidos nas camadas superficiais, provavelmente em função da formação de complexos de MO e argila originados pela presença mais abundante de metais nas águas residuárias, e este é o efeito dominante neste processo.

Conclusões

Os espectros tridimensionais mostraram que a fluorescência dos AH de um mesmo tratamento aumenta com a profundidade. Ambas as excitações em 470 e 320 nm levam a um máximo de emissão em 530 nm, entretanto a excitação em 470 nm, mais relacionada com estruturas complexas, tem uma contribuição bem mais significativa para a fluorescência.

Comparando-se os tratamentos W100 e E100, observou-se que a irrigação com águas residuárias promoveu um aumento na concentração de estruturas fluorescentes em geral, possivelmente acarretado por um aumento na atividade microbiana e conseqüente degradação da matéria orgânica do solo.

Mudanças estruturais também foram observadas pela espectroscopia 3D através da razão entre os máximos de excitação em 470 e 320 nm. Os AH dos solos irrigados com águas residuárias mostraram alterações estruturais muito mais significativas do que os solos irrigados com água de consumo.

Agradecimentos

FAPESP, CAPES, EMBRAPA INSTRUMENTAÇÃO, CENA, ESALQ e IQSC/USP.

Referências

- BERTONCINI, E. I.; D'ORAZIO, V.; SENESI, N.; MATTIAZZO, M. E. Fluorescent analysis of humic and fulvic acids from two Brazilian oxisols as affected by biosolid amendment. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 381, p. 1281-1288, 2005.
- CHRISTOFIDIS, D. **Olhares sobre a política de recursos hídricos no Brasil: O caso da bacia do rio São Francisco**. 2001. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, Brasília DF. p. 424.
- MILORI, D. M. B. P.; MARTIN-NETO, L.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; BAGNATO, V. S. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**, Baltimore, v. 167, p. 739-749, 2002.
- PLAZA, C.; BRUNETTI, G.; SENESI, N.; POLO, A. Molecular and quantitative analysis of metal ion binding to humic acids from sewage sludge and sludge-amended soils by fluorescence spectroscopy. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 40, p. 917-923, 2006.
- PLAZA, C.; D'ORAZIO, V.; SENESI, N. Copper (II) complexation of humic acids from the first generation of EUROSOLS by total luminescence spectroscopy. **Geoderma**, Amsterdam, v. 125, n. 1-2, p. 177-186, 2005.
- PROVENZANO, M.R.; D'ORAZIO, V.; JERZYKIEWICZ, M.; SENESI, N. Fluorescence behavior of Zn and Ni complexes of humic acids from different sources. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 55, n. 6, p. 885-892, 2004.
- SCHNITZER, M. Organic matter characterization. In: **METHODS of soil analysis: chemical and microbiological properties**. Madison: ASA-SSSA, 1982. p. 582-594. (Agronomy monograph, 9).

- 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**, Amsterdam, v. 58, p. 715-733, 2005.
- STEVENSON, F. J. **Humus chemistry: genesis, composition, reaction**. New York: Wiley Interscience, 1994. 443 p.
- TREVISAN, M. G. **Aplicação de métodos quimiométricos de ordem superior e fluorescência molecular na análise em matrizes biológicas**. 2003. 86 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.