

CARACTERIZAÇÃO DE ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDOS DE UM LATOSSOLO SOB DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE CAFÉ

JADER G. BUSATO¹, ALINE L. OLIVEIRA², LUIZ E. C. BENEDITO², EDUARDO B. MARINHO³, DANIEL B. ZANDONADI⁴, RONESSA B. SOUZA⁵, ALAN R. MOL⁶

¹Dr. Solos e Nutrição de Plantas, Professor da Universidade de Brasília (UnB); ²Dr^a. Química, Professora do Instituto de Química, UnB; ³Msc. Químico, Técnico do Instituto de Química, UnB; ⁴Estudante de Agronomia, UnB; ⁵Dr. Biociências e Biotecnologia, Analista da Embrapa Hortaliças; ⁶Dr^a. Solos e Nutrição de Plantas. Pesquisadora da Embrapa Hortaliças; ⁶Químico, Técnico do Laboratório de Química e Fertilidade do Solo da UnB.

RESUMO: Ácidos húmicos da camada superficial de um Latossolo sob diferentes sistemas de produção de café foram estudados por ¹³C RMN, IV-TF, composição elementar e análise de grupamentos funcionais. Os sistemas orgânico e agroflorestal modificaram a estrutura dos AH. O sistema orgânico resultou em AH com maior teor de C e N, acidez total e fenólica. Embora com menor teor de C, os AH do sistema agroflorestal apresentaram maior participação de compostos facilmente degradáveis. O índice de hidrofobicidade foi maior no sistema convencional, sugerindo que a elevação desta característica depende do tempo de implantação e da natureza química do material adicionado.

PALAVRAS-CHAVE: ¹³C RMN; IV-TF; Agrofloresta; Sistema orgânico de produção.

INTRODUÇÃO: A cafeicultura é uma das principais atividades de exportação brasileira e é responsável pela geração milhares de postos de trabalho. Sistemas convencionais de produção de café revolvem constantemente o solo, removem os restos culturais da área de cultivo e utilizam compostos químicos para o controle químico da vegetação espontânea. Além disso, aplicações de doses elevadas de fertilizantes nitrogenados solúveis acidificam o solo e favorecem a emissão de gases que colaboram com o efeito estufa. Essas atividades, em conjunto, ajudam a degradar os já empobrecidos solos brasileiros, afetando o principal componente responsável pela sua fertilidade, a matéria orgânica (MOS). Para reduzir os efeitos negativos dos sistemas convencionais, a adoção de cultivos orgânicos e agroflorestais têm sido incentivada. A inclusão de árvores eleva o potencial de geração de biomassa, aumenta o estoque de carbono no solo, favorece a ciclagem de nutrientes e reduz os processos erosivos. Sistemas orgânicos não permitem a aplicação de fertilizantes solúveis concentrados e reduzem a movimentação do

solo. Quando adotados, esses sistemas alteram a MOS, especificamente as substâncias húmicas (SH), que representam o compartimento orgânico mais estabilizado do solo. Modificações na distribuição e estrutura das frações humificadas tem sido utilizadas para avaliar manejos de solos e culturas. Para isto, técnicas como a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF) e a ressonância magnética nuclear (RMN ¹³C) permitem um mapeamento minucioso das formas de carbono presentes, ampliando o horizonte de informações alcançado. Neste trabalho, as características dos AH extraídos de um Latossolo cultivado com café nos sistemas orgânico, agroflorestal e convencional foram avaliados.

MATERIAL E MÉTODOS: O experimento foi implantado em 2007, na Embrapa Hortaliças (Brasília – DF), num Latossolo Amarelo Distrófico. O sistema agroflorestal associou *Gliricidia sepium* com café (*Coffea arabica*). O sistema orgânico foi caracterizado pelo uso somente de insumos permitidos em lavouras orgânicas. Ambos receberam, durante o plantio, composto orgânico produzidos à base de torta de mamona (300 g/planta), calcário (2 ton ha⁻¹) e termofosfato de magnésio (500 g/planta). Semestralmente, as plantas submetidas aos dois sistemas receberam 300 g de composto orgânico produzido à base de esterco bovino, de frango e torta de mamona. O sistema convencional recebeu calagem e fertilização mineral (NPK) de acordo com a análise química do solo e compostos químicos (herbicidas e fungicidas) foram utilizados para o controle de ervas espontâneas e de doenças. Quinze sub-amostras foram utilizadas para obtenção da amostra composta, na profundidade de 0-0,05 m. As amostras foram secar ao ar e peneiradas (malha de 2 mm) antes do procedimento de extração dos ácidos húmicos. As substâncias húmicas foram extraídas com NaOH 0,1 mol L⁻¹ (razão 1:20, m:v; 16 h

de agitação). A solução obtida foi separada da fração insolúvel por centrifugação (3000 g, 30 min). O resíduo insolúvel foi ressuscitado em 200 mL de NaOH e agitado por 4 horas, com nova separação da solução por centrifugação. O procedimento foi repetido até a clarificação completa do extrato. Todos os extratos foram acondicionados num mesmo recipiente e acidificados até pH 1.0–1.5 (H_2SO_4). Os AH (fração das SH solúvel em meio alcalino e insolúvel em meio ácido) foram separados por centrifugação (5000 g, 15 min) e tratados com 100 mL de uma solução diluída de HF-HCl para remoção de impurezas minerais. Os AH foram lavados com H_2O destilada, dialisados em membrana e secos por liofilização. A composição elementar dos AH foi determinada num analisador automático Perkin Elmer 2400. Espectros de ^{13}C RMN foram obtidos num equipamento Varian Mercury Plus (7.05 T), operando a 75.46 MHz. Com auxílio do software ACD/NMR, as seguintes regiões do espectro foram definidas: 0-46 ppm (C-alquil); 47-66 ppm (C-metoxil); 67-111 ppm (C-O-alquil/C-di-O-alquil); 112-141 ppm (C-aromático); 142-164 ppm (C-fenol); 165-188 ppm (C-carboxil). A soma das áreas 0-46 e 112-141 ppm representou a porção hidrofóbica dos AH (HB), enquanto as áreas entre 47-111 e 165-188 ppm representaram a porção hidrofílica (HI). Um índice de hidrofobicidade foi obtido a partir da relação HB/HI. Espectros de IV-TF foram obtidos em pastilhas contendo KBr e AH (1 mg de AH e 100mg de KBr), na região entre 400-4000 cm^{-1} num equipamento Varian 640. Acidez total foi determinada com $Ba(OH)_2$, a carboxílica utilizando $Ca(Oac)_2$ e a fenólica pela diferença entre a total e a carboxílica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Maiores teores de C ($481,9 g kg^{-1}$) e N ($40,1 g kg^{-1}$) foram observados nos AH extraídos do sistema orgânico (Tabela 1). O sistema agroflorestal apresentou os menores teores ($425,0$ e $37,3$ $40,1 g kg^{-1}$, respectivamente para C e N) e o manejo convencional resultou em valores intermediários. Menor relação C/N foi observada no sistema agroflorestal (11,4) e a maior no convencional (12,1). Relações C/N maiores sugerem maior participação de estruturas aromáticas e estabilidade do húmus (Stevenson, 1994). Assinaturas espectroscópicas diferenciadas foram observadas nos AH por RMN ^{13}C (Tabela 1; Fig. 1). No sistema agroflorestal, os AH foram enriquecidos em C-O-alquil e C-di-O-alquil (67-111 ppm)

e C-alquil (0-46 ppm). O sistema convencional apresentou maior participação de C-aromático (112-141 ppm), C-metoxil (47-66 ppm) e menor participação de C-fenol (142-164 ppm). Os AH do sistema orgânico foram enriquecidos em C-carboxil (165-188 ppm). A maior participação de C-O-alquil e C-di-O-alquil (67-111 ppm) indica a presença de estruturas tipo polissacarídeos, facilmente decomponíveis, nos AH da agrofloresta. O índice HB/HI seguiu a ordem: convencional > agroflorestal > orgânico. O aumento da natureza hidrofóbica da MOS tem sido associado à maior disponibilidade de nutrientes em solos sob longo tempo de adição de materiais orgânicos (Canellas et al., 2010). Desta forma, o tempo relativamente curto de adoção dos manejos (5 anos) pode não ter sido suficiente para aumentar o caráter hidrofóbico nos sistemas agroflorestal e orgânico. Além disso, o menor índice hidrofóbico nesses sistemas, em relação ao convencional, pode estar associado à natureza química dos resíduos provenientes das árvores e compostos. Na região de C-alifático, um sinal próximo à 30 ppm, atribuído a C-metileno, relacionado ao acúmulo de ceras, lipídios, cutina e suberina, foi observado nos sistemas orgânicos e agroflorestal. Os dois sistemas também apresentaram sinal em 47 ppm, associado a C-metileno originado de aminoácidos (Almendros et al., 2000). No sistema convencional o sinal em 30 ppm foi diminuído e alargado, enquanto o sinal em 47 ppm foi ausente. Isto pode estar associado à maior estabilidade do húmus e maior grau de evolução química. Outro contraste foi verificado na região entre 53 e 111 ppm, atribuída à grupamentos alifáticos oxigenados de compostos facilmente degradáveis (Keeler et al., 2006). O sistema agroflorestal apresentou vários sinais nesta região, entre eles aqueles relativos a aminoácidos (53 ppm), metoxila de lignina (56 e 58 ppm), carboidratos de celulose e de hemicelulose (64, 68, 72, 74, 76, 85 e 105 ppm). O sistema orgânico apresentou somente sinais em 56 ppm (metoxila de lignina) e 74 ppm, proveniente de carboidratos de celulose e hemicelulose. Já o sistema convencional apresentou sinais alargados nas regiões entre 52 a 57 ppm, 68 a 74 ppm e 107 a 111 ppm. Esse alargamento é também típico de AH mais humificados (Preston et al., 1994). Isto pode ser resultado da ausência de novos ingressos de materiais orgânicos no sistema convencional, o qual preservou, nos AH, somente estruturas recalcitrantes. Compostos estabiliza-

dos apresentam AH enriquecidos em estruturas parafínicas como cutina e suberina (C-alquil; 0-46 ppm), resistentes à degradação (Preston, 1996). Esta região do espectro foi ligeiramente aumentada no manejo agroflorestal, o que pode ser, até certo ponto, associado à natureza química dos resíduos da *Gliricidia*. Uma região alargada entre 124-145 ppm é característica de C-aromático transformado, tipificando estruturas recalcitrantes ou materiais já decompostos, tendo sido observada nos sistemas orgânico e convencional. No sistema agroflorestal, ao invés de um sinal alargado, múltiplos picos foram verificados nesta região (126, 132, 135, 141 e 145 ppm). Modificações dos anéis aromáticos de lignina promoveram diminuição de grupos aromáticos (112-120 ppm) no sistema orgânico, com concomitante apresentação de um sinal próximo a 132 ppm. Todos os manejos apresentaram sinal próximo a 75 ppm, atribuído a C-carboxil proveniente polipeptídios (Keeler et al., 2006). Os espectros dos manejos orgânico e agroflorestal, entretanto, demonstraram um sinal adicional em 181 ppm, atribuído a C do grupo carbonila. Similaridades entre os três manejos foram observadas nos espectros de IV-TF (Fig. 2), principalmente nas regiões de 3500, 2950, 2800, 1650 e 1450 cm^{-1} . Sutis diferenças foram verificadas nas regiões de 1250 e 1000 cm^{-1} . A banda de absorção larga e intensa perto a 3500 cm^{-1} , devido a vibrações de estiramento O-H e N-H, foi observada para os três manejos. A banda próxima a 2950 cm^{-1} ocorreu devido a vibrações de estiramento de ligações CH (CH_3 alifático) e a banda perto a 2800 cm^{-1} é associada a aldeídos. A absorção em 1650 cm^{-1} é devida a amidas e aquela a em 1450 cm^{-1} pode ser atribuída à deformação de vibrações de C-H alifático (CH_2 e CH_3). A banda larga em 1250 cm^{-1} , associada à presença de C-O de grupos carboxílicos, éteres ou fenóis, foi ligeiramente mais intensa nos sistemas orgânico e convencional. A absorção próxima a 1000 cm^{-1} , intensa no sistema agroflorestal, é devida a estiramento C-O de polissacarídeos. O resultado da investigação dos grupamentos funcionais dos AH revelou que a acidez total seguiu a ordem: orgânico > convencional > agroflorestal (Tabela 1). Além disso, é interessante observar que para os sistemas orgânico e convencional a acidez fenólica representou, respectivamente, 57 e 54% da acidez total. Para o sistema agroflorestal, maior participação da acidez carboxílica foi observada (53% da acidez total).

Tabela 1. Área integrada de diferentes tipos de carbono de ácidos húmicos extraídos de um Latossolo sob diferentes sistemas de produção de café.

	Convencional	Orgânico	Agroflorestal	
Região de integração dos espectros (ppm)	0-46	23,6	23,6	24,3
	47-66	16,6	14,7	14,5
	67-111	23,2	23,4	25,4
	112-141	18,6	16,6	16,0
	142-164	7,3	8,2	8,9
	165-188	10,7	13,6	11,0
	HB/Hi	1,6	1,3	1,4
Composição elementar (g kg^{-1})	C	464,6	481,9	425,0
	H	42,6	44,9	43,1
	N	38,5	40,1	37,3
	Relação C/N	12,1	12,0	11,4
Grupamentos funcionais (cmol _c kg^{-1})	Acidez total	603,2	641,2	499,6
	Acidez fenólica	323,5	364,5	234,4
	Acidez carboxílica	279,7	276,7	265,2

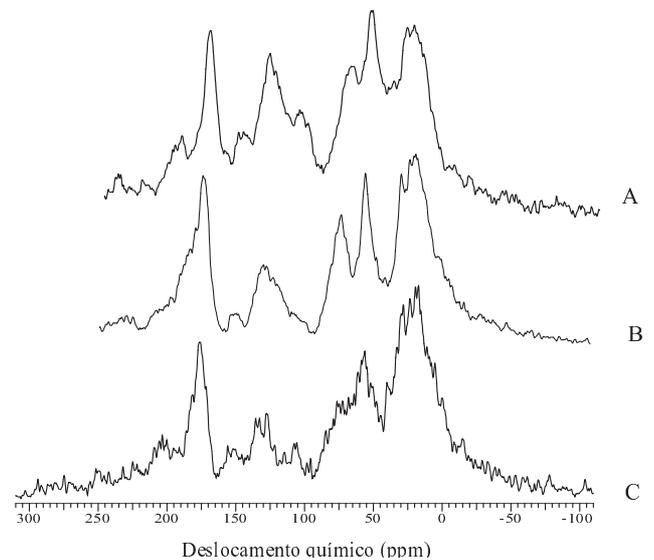


Figura 1. Espectros de ^{13}C RMN de AH extraídos de um Latossolo sob três diferentes sistemas de produção de café: (A) Convencional, (B) orgânico e (C) agroflorestal.

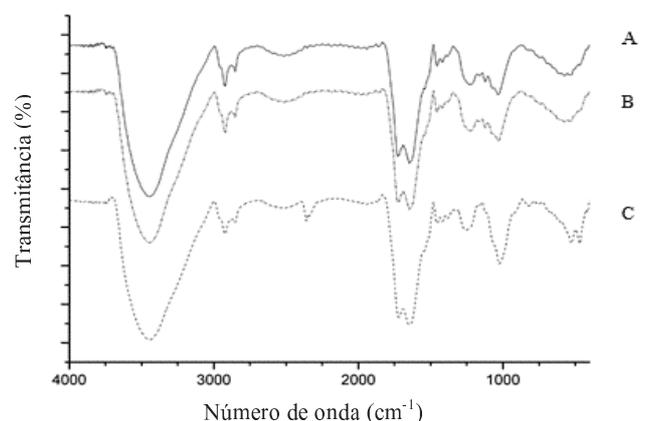


Figura 2. Espectros de IV-TF de AH extraídos de um Latossolo sob três diferentes sistemas de produção de café: (A) Convencional, (B) orgânico e (C) agroflorestal.

CONCLUSÕES: Os sistemas orgânico e agroflorestal modificaram a estrutura dos AH. O sistema orgânico resultou em AH com maior teor de C e N, acidez total e fenólica. Embora com menor

teor de C, os AH do sistema agroflorestal apresentaram maior participação de compostos facilmente degradáveis. O índice de hidrofobicidade foi maior no sistema convencionando, sugerindo que a elevação desta característica depende do tempo de implantação e da natureza química do material adicionado.

REFERÊNCIAS

- ALEMENDROS, G. et al. ^{13}C NMR assessment of decomposition patterns during composting of forest and shrub biomass. **Soil biol.biochem.**, v.32, p.793-804, 2000.
- CANELLAS, L.P. et al. Soil organic matter and nutrient pools under long-term non-burning management of sugar cane. **Eur. J. Soil Sci.**, v.61, p.375-233, 2010.
- KEELER, C. et al. Chemical-structural information from solid-state ^{13}C NMR studies of a suite of humic materials from a lower mountain forest soil, Colorado, USA. **Geoderma**, v.130, p.124-140, 2006.
- PRESTON, C.M. Applications of NMR to soil organic matter analysis: history and prospects. **Soil Sci.**, v.161, p.144-166, 2006.