



Revista Brasileira de Ciência do Solo

ISSN: 0100-0683

revista@sbcs.org.br

Sociedade Brasileira de Ciência do Solo
Brasil

Ferreira Cunha, Tony Jarbas; Basso, Luís Henrique; Simões, Marcelo Luiz; Martin-Neto, Ladislau;
Petrere, Vanderlise Giongo; Almeida Ribeiro, Paula Rose de
Ácidos Húmicos em solo fertirrigado no Vale do São Francisco
Revista Brasileira de Ciência do Solo, vol. 33, núm. 6, novembro-diciembre, 2009, pp. 1583-1592
Sociedade Brasileira de Ciência do Solo
Viçosa, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180215871007>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica
Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

SEÇÃO II - QUÍMICA DO SOLO

ÁCIDOS HÚMICOS EM SOLO FERTIRRIGADO NO VALE DO SÃO FRANCISCO⁽¹⁾

Tony Jarbas Ferreira Cunha⁽²⁾, Luís Henrrique Bassoi⁽²⁾, Marcelo Luiz Simões⁽³⁾, Ladislau Martin-Neto⁽⁴⁾, Vanderlise Giongo Petrere⁽²⁾ & Paula Rose de Almeida Ribeiro⁽⁵⁾

RESUMO

A aplicação de ácidos orgânicos, principalmente húmicos (AH), associada à adubação mineral e orgânica pode levar a alterações nas propriedades dos AH do solo. No Vale do São Francisco, o uso de ácidos orgânicos vem despertando o interesse de produtores que usam sistema de irrigação. Entretanto, não são conhecidas as modificações que podem ocorrer nas características das substâncias húmicas do solo quando são aplicados ácidos orgânicos associados à fertilização mineral e esterco. Os objetivos deste trabalho foram avaliar e caracterizar, por métodos espectroscópicos (UV-Vis, Infravermelho, Fluorescência e RPE), as possíveis mudanças qualitativas no AH extraído de solo fertirrigado com duas fontes de fertilizantes (orgânica e mineral), associadas à aplicação de ácidos orgânicos comerciais na cultura da goiabeira. O experimento foi conduzido na Embrapa Semiárido, em Petrolina - PE. Os tratamentos utilizados foram: F - fertirrigação com fertilizantes minerais (ureia, fosfato monoamônio, cloreto de potássio); FE - F + aplicação de 20 dm³/planta de esterco; FH - F + fertirrigação com 30 dm³ ha⁻¹ de Codahumus 20[®]; FEH - fertirrigação mineral + aplicação de 20 dm³/planta de esterco + fertirrigação com 30 dm³ ha⁻¹ de Codahumus 20[®], e R- tratamento testemunha, sem adubação. A relação E₄/E₆ dos AH variou de 4,8 a 5,4 para os tratamentos FEH e F. Os dados obtidos por meio da espectroscopia FTIR sugerem mistura de características aromático-alifáticas, grande quantidade de grupos carboxílicos e menor número de grupos nitrogenados para os AH dos tratamentos FEH, FH e FE. Os valores obtidos do índice A₄₆₅ variaram de 1,04 a 1,74, referentes aos AH dos tratamentos FEH e FE. Verificou-se uma concentração de radicais livres orgânicos no AH do tratamento FEH (2,66 spins g⁻¹ 10¹⁷) três vezes maior do

⁽¹⁾ Trabalho desenvolvido com apoio financeiro da FACEPE, CNPq e Sustainable Agro Solutions S/A. Recebido para publicação em janeiro de 2009 e aprovado em setembro de 2009.

⁽²⁾ Pesquisador, Embrapa Semi-Árido. BR 428, Km 152, Zona Rural, Caixa Postal 23, CEP 56302-970 Petrolina (PE). E-mails: tony@cpatsa.embrapa.br; lhbassoi@cpatsa.embrapa.br; vanderlise@cpatsa.embrapa.br

⁽³⁾ Analista, Embrapa Instrumentação-Agropecuária. Rua XV de novembro 1452, CEP 13560-970 São Carlos (SP). E-mail: marcelo@cnpdia.embrapa.br

⁽⁴⁾ Pesquisador, Embrapa Instrumentação-Agropecuária. E-mail: martin@cnpdia.embrapa.br

⁽⁵⁾ Bolsista CNPq/PIBIC, Embrapa Semi-Árido. E-mail: pra5@hotmail.com

que o AH do tratamento F ($0,95 \text{ spins g}^{-1} 10^{17}$). O esterco foi o responsável pelo maior de policondensação e grau de humificação do ácido húmico dos tratamentos FE e FHE.

Termos de indexação: fertirrigação, ácidos orgânicos, esterco, semi-árido.

SUMMARY: HUMIC ACIDS IN A FERTIRRIGATED SOIL IN THE SÃO FRANCISCO RIVER VALLEY, BRAZIL

The use of humic (HA) acids together with mineral and organic fertilizers probably modifies the native soil humic acids. In the São Francisco Valley, Northeast Brazil, organic acids have gained interest of growers using irrigated agriculture. But so far, the possible modifications of the native soil humic substances under application of organic acids along with mineral and organic fertilizers are not known. The objective of this study was to evaluate and characterize the qualitative changes in humic acids extracted from a soil fertirrigated with different sources of mineral and organic fertilizers, together with the commercial organic acid application to guava trees. The experiment was carried out at Embrapa Tropical Semi-Arid, in Petrolina, State of Pernambuco, Brazil. The treatments were: F - mineral fertirrigation (urea, monoammonium phosphate, potassium chloride); FE - F + 20 L/plant manure; FH - F + fertirrigation with 30 L Codahumus 20® ha⁻¹; FEH - mineral fertigation + 20 L/plant manure + fertirrigation with 30 L Codahumus 20® ha⁻¹; and R - reference (without fertilizer, manure or organic acid applications). The E₄/E₆ ratio of HA ranged from 4.8 to 5.4 for the treatments FEH and F. Results of the Fourier-transform infrared spectroscopy suggest a mixture of aromatic and aliphatic characteristics, a large abundance of carboxylic groups and a lower number of nitrogen groups for humic acids in the treatments FEH, FH and F. The A₄₆₅ index ranged from 1.04 to 1.74 for HA in the treatments FEH and FE. The concentration of organic free radicals in HA in the treatment FEH ($2.66 \text{ Spins g}^{-1} 10^{17}$) was three times higher than the HA concentration in treatment F ($0.95 \text{ Spins g}^{-1} 10^{17}$). Manure accounted for the highest level of HA polycondensation and humification degree in the treatments FE and FHE.

Index terms: fertirrigation, organic acids, manure, semi-arid.

INTRODUÇÃO

Nos solos tropicais, o teor de matéria orgânica (MO) geralmente é baixo, muitas vezes não ultrapassa 10 g kg^{-1} (Canellas et al., 2004), e em grande parte é responsável pelas qualidades físicas e químicas dos solos (Brancalhão & Moraes, 2008). A MO é uma mistura heterogênea de compostos orgânicos de plantas, animais e de microrganismos em vários estádios de decomposição e é de extrema importância na manutenção de diversas propriedades dos solos (Skjemstad et al., 1998). A matéria orgânica do solo é regulada pela taxa de produção primária de material orgânico, pela distribuição dos fotoassimilados entre parte aérea e raízes e pela velocidade de decomposição dos compostos orgânicos (Batjes, 1996). É constituída de uma mistura heterogênea de compostos em vários estádios de decomposição, resultado da degradação biológica de resíduos animais e vegetais por meio da atividade de diversos microrganismos. Os compostos contidos na MO podem ser agrupados em substâncias húmicas (SH) e não húmicas.

As SH estão relacionadas com a fertilidade do solo e, por isso, são componentes importantes para que haja um aumento na produção das culturas alimentícias. As SH são amorfas, altamente transformadas, de coloração escura, e componentes da MOS, consistindo de uma gama de estruturas e grupamentos funcionais (Hayes et al., 1989; Stevenson, 1994). Podem ocorrer nas águas e nos sedimentos, e nos solos compreendem cerca de 30 a 80 % do húmus (Kononova, 1982). Pode ser separada, com base na sua solubilidade, em ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH) e humina (H).

Os AH participam da maioria das reações que ocorrem no solo, favorecendo a agregação e a estabilidade dos agregados pela formação de complexos organominerais, além de servir como reserva de nutrientes às plantas (Canellas et al., 2000). O teor de AH no solo depende dos fatores de formação e do manejo. Esses ácidos são considerados misturas químicas e fisicamente heterogêneas de compostos orgânicos ligados à fração mineral dos solos, caracterizados pela ausência de repetição na sua organização estrutural (Hayes et al., 1989).

A aplicação de AH associados à adubação mineral e orgânica pode levar a alterações nas propriedades dos AH do solo, com possíveis modificações nas suas características espectroscópicas. As análises espectroscópicas nas diferentes regiões do espectro eletromagnético têm ampla aplicação no estudo da MOS, especialmente das SH, tanto para a identificação e caracterização dos diferentes compostos húmicos (AH, por exemplo), como para a avaliação das alterações qualitativas e grau de humificação desses compostos (Cunha, 2005).

No Vale do São Francisco, a agricultura é caracterizada pelo uso intensivo dos recursos naturais, principalmente do solo. Nessa região, o uso de ácidos orgânicos, principalmente AH, na agricultura irrigada vem despertando o interesse de produtores, em consequência dos resultados positivos obtidos em outras regiões (Basso et al., 2005). Entretanto, não são conhecidas as modificações que podem estar ocorrendo nas características das SH do solo quando são aplicados esses ácidos associados à fertilização mineral e esterco.

Devido à importância que a MO exerce no que diz respeito à sustentabilidade de ecossistemas e em razão das alterações que diferentes sistemas de manejo e uso do solo exercem sobre a dinâmica do C e sobre os aspectos qualitativos e quantitativos da MOS (Dias et al., 2007), tornam-se necessárias ações de pesquisas no sentido de verificar quais as práticas de manejo de fertilizantes químicos e orgânicos que mais contribuem para a melhoria da qualidade da MOS. Não existem informações quanto às alterações causadas pelo uso de fertilizantes químicos associados aos esterco e SH comerciais (ácidos orgânicos) na qualidade de AH do solo, em condições edáficas do Vale do São Francisco. Assim, os objetivos deste trabalho foram avaliar e caracterizar, com métodos espectroscópicos, as mudanças qualitativas nos AH extraídos de solo fertirrigado com diferentes fontes de fertilizantes (orgânica e mineral), associadas à aplicação de AH comerciais na cultura da goiabeira.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Campo Experimental de Bebedouro, da Embrapa Semiárido, em Petrolina - PE (latitude 09 ° 09 ' S e longitude 42 ° 22 ' W). As mudas de goiabeira cv Paluma foram plantadas em maio de 2003, em um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico textura média (Embrapa, 1999), no espaçamento de 6 × 5 m. O solo apresenta, na camada de 0–20 cm, 900, 10 e 90 g kg⁻¹ de areia, silte e argila, respectivamente, teor baixo de matéria orgânica (8,2 g dm⁻³), acidez fraca (pH = 6,0), condutividade elétrica baixa (0,10 dS m⁻¹), teores altos de P e K (25 mg dm⁻³, 0,30 cmol_c dm⁻³), teores baixos de Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺ e Al³⁺ (1,0 , 0,5 , 0,01 e 0,05 cmol_c dm⁻³), acidez potencial baixa

(0,66 cmol_c dm⁻³), e soma de bases e CTC baixas (1,81 e 2,47 cmol_c dm⁻³, respectivamente) (Embrapa, 1997; Silva, 1999). Foram aplicados, na cova de plantio, 59 g/planta de P₂O₅, 20 g/planta de K₂O, 59 g/planta de Ca e 40 g/planta de S, utilizando superfosfato simples e cloreto de potássio como fontes dos nutrientes.

Experimento de campo e coleta de amostras

Os tratamentos utilizados entre o plantio e a primeira colheita (maio de 2003 a março de 2005) foram: F- fertirrigação com fertilizantes minerais (ureia, fosfato monoamônio, cloreto de potássio); FE- tratamento F + aplicação de 20 dm³/planta de esterco antes do plantio e antes da primeira poda de frutificação; FH- tratamento F + fertirrigação com 30 dm³ ha⁻¹ de Codahumus 20® (10 % de ácido húmico p/p, 10,2 % de ácido fúlvico p/p, densidade 1,37 g cm⁻³, pH = 12, registro no Ministério de Agricultura: PE 05809-10028-3); FEH- FH + aplicação de 20 dm³/planta de esterco, antes do plantio e R-tratamento testemunha e sem adubação.

A fertirrigação foi feita por meio do sistema de irrigação com um microaspersor por planta, com vazão de 37 L h⁻¹ e diâmetro de molhamento de 4 m. Como a planta tinha uma área de 30 m² (5 m entre plantas e 6 m entre linhas de plantio), o sistema de irrigação umedecia cerca de 42 % da área ocupada por uma planta. O esterco foi colocado ao redor do tronco da goiabeira, entre 30 e 40 cm de distância do tronco, e abaixo da projeção da copa. O experimento foi disposto em um delineamento de blocos casualizados, com cinco tratamentos (F, FE, FH FEH e R) e cinco repetições.

A coleta de solos foi realizada em setembro de 2005, em cada tratamento e na entrelinha de plantio (tratamento R). As amostras de solo referente aos tratamentos F, FE, FH e FEH foram coletadas na área umedecida pelo sistema de irrigação, enquanto as amostras de solo do tratamento R foram coletadas nas entrelinhas de plantio, na área fora do alcance do sistema de irrigação. Três amostras simples foram coletadas na camada de 0 a 20 cm em cada repetição, para formarem uma amostra composta, de onde se retirou uma subamostra para a extração dos AH em laboratório.

Obtenção e purificação dos ácidos húmicos

A extração e o fracionamento do húmus para obtenção dos AH, bem como sua purificação, foram realizados conforme método da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS), cujo protocolo metodológico encontra-se descrito em Swift (1996), com uma modificação: pré-tratamento da amostra de solo com uma solução de HCl em pH entre 1 e 2 para redução do conteúdo de cinzas (remoção de metais adsorvidos) e utilização do K⁺ para remoção dos sólidos em suspensão (Novotny, 2002), conforme descrição a seguir. Após pré-tratamento dos solos com HCl

0,1 mol L⁻¹, foram adicionadas quantidades de amostras com cerca de 1.000 mg de AH (em média cerca de 200 g de solo, estimado pelo fracionamento qualitativo da MOS) a 200 mL de solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ sob atmosfera de N₂. Após agitação por 24 h, o material foi centrifugado a 10.000 g por 30 min. O sobrenadante foi recolhido e, imediatamente, o pH foi ajustado para 2,0, por gotejamento de solução aquosa de HCl a 20 %. O resíduo foi novamente submetido à extração da mesma forma, e o sobrenadante juntado ao anterior, ajustando-se, imediatamente, o pH para 2,0. O extrato acidificado foi reservado para precipitação dos AH. Após 18 h, o excesso de sobrenadante foi sifonado e descartado. O restante do material foi centrifugado a 5.000 g por 10 min, eliminando-se o sobrenadante. Para remoção dos sólidos solúveis em suspensão, os AH foram redissolvidos em solução de KOH 0,1 mol L⁻¹ onde se adicionou KCl para atingir uma concentração de 0,3 mol L⁻¹ de K⁺ e então se centrifugou a 4.000 g por 15 min. Após essa etapa, os AH foram purificados com solução de HF + HCl 0,5 % (Schnitzer, 1982) por 24 h e centrifugados a 5.000 g, repetindo-se o processo mais duas vezes. As amostras purificadas foram lavadas com água deionizada e transferidas para sacolas de celofane de aproximadamente 100 mL. A diálise das amostras foi realizada em água deionizada em recipiente coletivo de 20 L, sendo a água trocada duas vezes ao dia, até que não houvesse aumento maior que 1 µS na medida de condutividade da água de diálise 1 hora após a troca desta. As amostras foram então congeladas e liofilizadas, e depois foram acondicionadas em dessecador.

Análises espectroscópicas

O experimento de UV-vis foi realizado conforme procedimentos descritos em Canellas et al. (2000), Chen et al. (1977) e Yonebayashi & Hattori (1988). Os espectros de UV-vis foram obtidos numa faixa espectral de 200 a 800 nm. Os espectros foram registrados a 25 °C com o caminho ótico constante de 1 cm, em solução preparada com 20 mg de AH diluído em 1 L de NaHCO₃ 0,05 mol L⁻¹, com pH em torno de 8,0. Para determinação da relação coeficiente E₄/E₆, foi dividida a absorvância em 465 nm pela obtida em 665 nm.

Para as medidas de FTIR foram prensadas pastilhas de 1 mg de ácidos húmicos para cada 100 mg de KBr. Os espectros foram obtidos a partir de 64 varreduras no intervalo de 4000 a 400 cm⁻¹ com resolução espectral de 4 cm⁻¹ (Stevenson, 1994). A relação entre a absorvância da banda de absorção na região 3.057–3.055 cm⁻¹ e em 2.934–2.928 cm⁻¹ foi chamada, neste trabalho, de índice de aromaticidade, uma vez que expressa a relação entre o estiramento de C-H de grupos aromáticos e estiramento axial assimétrico de C-H alifático, respectivamente. Porém, a relação entre a absorvância da banda de absorção na região 2.928 cm⁻¹ e 1.050–1.080 cm⁻¹ foi chamada,

neste trabalho, de índice de hidrofobicidade, uma vez que expressa a relação entre grupos apolares (CH₃) e polares (-OH, C-O), respectivamente. Por outro lado a razão entre as bandas de absorção a 1.720–1.722/1.525 foi chamada neste trabalho de índice de reatividade, adaptado de Freixo et al. (2002).

Os espectros de fluorescência foram registrados em três modos: emissão, excitação e sincronizado em espectrômetro de luminescência Perkin Elmer LS50B, pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária, em São Carlos (SP), utilizando-se soluções de 2 mg de AH em 100 mL de NaHCO₃ 0,005 mol L⁻¹, com pH resultante de aproximadamente 8,4, abertura das fendas de 10 nm e velocidade de aquisição de 20 nm/min, conforme procedimento descrito em Milori et al. (2002).

Foram utilizados três procedimentos para estimativa do grau de humificação dos AH. O primeiro deles foi o método proposto por Zsolnay et al. (1999), a partir de espectros de fluorescência no modo de emissão com excitação em 240 nm. O espectro de emissão total foi dividido em quatro regiões e o grau de humificação calculado através da relação do último quartil (665–585 nm) com o primeiro (425–345 nm), resultando no índice A₄/A₁.

O segundo método foi adaptado de Kalbitz et al. (1999), utilizando-se espectros de fluorescência no modo de varredura síncrona. Kalbitz et al. (1999) informam que estes espectros apresentam dois picos, um em torno de 360 nm e outro em 400 nm e um ombro em torno de 470 nm. Este comportamento pode mudar de acordo com o grau de humificação, podendo esta mudança ser avaliada através das relações entre os picos de fluorescência, resultando no índice I₄₈₀/I₄₀₀.

O terceiro método foi baseado em Milori et al. (2002), que consiste no uso do comprimento de onda azul como fonte de excitação. Essas absorções estão mais ligadas com estruturas cuja concentração aumenta com o aumento do grau de humificação, conforme anteriormente demonstrado por Milori et al. (2000). Nesse procedimento, a área total sob o espectro de fluorescência resultante da excitação com luz azul foi considerada proporcional ao grau de humificação e foi chamada de índice A₄₆₅.

As medidas de radicais livres orgânicos foram realizadas usando espectrômetro de RPE da Bruker-EMX com cavidade retangular, operando em banda X (aproximadamente 9,0 GHz) em temperatura ambiente. As amostras de AH (20 mg em média) foram colocadas em tubos de quartzo e compactadas até 5 mm de altura a partir da base do tubo, com duas repetições por amostra. A concentração de radicais livres orgânicos (spins g⁻¹) foi obtida pela integração do sinal da primeira derivada do radical livre, comparado a um padrão de KCl (Strong pitch), com concentração de spins conhecida (3 x 10¹⁵ spins cm⁻¹), utilizando o rubi sintético como padrão secundário (Singer, 1959; Martin-Neto et al., 1994).

As quantidades de radicais livres foram determinadas normalizando-se pelo conteúdo de C. A largura da linha foi estimada pela separação pico a pico da primeira derivada de absorção do sinal (Senesi & Steelink, 1989). As medidas de RPE foram realizadas em uma cavidade ressonante esférica nas seguintes condições experimentais: campo magnético (H_0) = 3.400 Gauss (G), frequência de modulação (FM) = 100 kHz, amplitude de modulação (AM) = 0,5 G e potência de microondas (P) = 0,2 mW. As condições experimentais para o rubi sintético foram H_0 = 5.400 G, FM = 100 kHz e P = 10 mW. O padrão de KCl foi analisado nas seguintes condições: H_0 = 3.400 G, FM = 100 kHz, AM = 0,5 G e P = 0,2 mW. As curvas de saturação de potência do sinal dos radicais livres orgânicos indicaram não haver saturação do sinal com a potência de microonda de 0,2 mW. Foram utilizadas 20 varreduras para as medidas de radicais livres. A curva de saturação de potência de microondas para o sinal de radical livre foi obtida com passo de 1 dB variando a potência de 0,02 a 200 mW num total de 40 medidas, campo central H_0 = 3.458 G, largura de varredura ΔH = 70 G, frequência ν = 9,44 GHz, temperatura ambiente e amplitude de modulação = 1 G.

As análises espectroscópicas de UV-vis, infravermelho e fluorescência foram realizadas em uma amostra representativa de cada uma das cinco repetições em cada tratamento. As análises de RPE foram realizadas com duas repetições por amostra. É apresentado o desvio médio para estas análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Espectroscopia UV-Vis e relação E4/E6

Os espectros de absorção de luz na região do UV-vis (200 a 800 nm) dos AH foram muito similares. Houve uma diminuição da intensidade de absorção com o aumento do comprimento de onda. Segundo Kononova (1982), a fraca absorção de radiação na região do visível por substâncias húmicas é de causa incerta, mas é útil por permitir a obtenção da razão E_4/E_6 , usada como medida de humificação. A razão E_4/E_6 está relacionada à aromaticidade e ao grau de condensação da cadeia de C aromáticos dos AH, podendo assim ser usada como índice de humificação. Geralmente, o valor para a relação E_4/E_6 de AH encontra-se abaixo de 5 (Senesi et al., 2003).

A relação E_4/E_6 dos AH variou de 4,8 a 5,4. Com exceção do tratamento F, os valores para o restante dos AH foram muito similares (Quadro 1). Os AH do tratamento F ficaram dentro da faixa indicada para AF, sugerindo que estes AH foram menos evoluídos quimicamente, apresentando limitado grau de policondensação aromática e, ou, pequeno tamanho relativo de partícula e peso molecular, em relação aos outros AH, provavelmente devido ao fato deste

tratamento não conter esterco, que foi decisivo para a maior policondensação dos AH estudados, conforme confirmação obtida nos estudos de RPE.

Quadro 1. Diferenças nas propriedades ópticas entre os ácidos húmicos

Tratamento	A ₄₆₅	A ₆₆₅	E ₄ /E ₆
F	0,1195	0,0222	5,4
FE	0,0923	0,0187	4,9
FEH	0,1023	0,0214	4,8
FH	0,1184	0,0247	4,8
R	0,1108	0,0223	4,9

F: fertirrigação com fertilizantes minerais (ureia, fosfato monoamônio, cloreto de potássio); FE: F + aplicação de 20 dm³/planta de esterco antes do plantio e antes da primeira poda de frutificação; FH: F + fertirrigação com 30 dm³ ha⁻¹ de Codahumus 20[®]; FEH: FH + aplicação de 20 dm³/planta de esterco, antes do plantio. A₄₆₅: absorvância em 465 nm; absorvância a 665 nm. E₄/E₆: razão da absorvância em 465 nm pela obtida em 665 nm.

Espectroscopia de infravermelho

Os espectros obtidos (Figura 1) foram típicos de AH de solo (Stevenson, 1994; Senesi et al, 2003) e, na faixa de absorção situada entre 1.400 e 900 cm⁻¹, não foram observadas significativas alterações entre os espectros dos tratamentos FEH, FE e FH. Entretanto nos espectros do tratamento FEH, bandas nesta região são mais evidentes do que nos outros tratamentos. A banda em torno de 1.080 cm⁻¹, referente ao estiramento C-O de polissacarídeos, foi mais bem definida para os AH dos tratamentos F e R.

Na região abaixo de 1.800 cm⁻¹, região de “impressão digital”, foram observadas algumas similaridades e diferenças relevantes. As características similares foram: (a) uma intensa e larga banda de absorção centrada entre 3.470 e 3.300 cm⁻¹ atribuída a estiramento de O-H em grupos fenólicos (contribuição de OH alifático e amina); (b) uma banda de absorção intensa entre 2.934 e 2.928 cm⁻¹ e mais fraca entre 2.857 e 2.853 cm⁻¹, atribuídas a estiramento assimétrico e simétrico de C-H alifático, respectivamente; (c) uma banda de absorção entre 1.246 e 1.250 cm⁻¹, atribuída a estiramento simétrico do ânion carboxilato, e uma banda de absorção na região de 1.080 e 1.049 cm⁻¹, atribuída a estiramento de C-O de polissacarídeos e impurezas de silicatos. As características diferentes observadas na região abaixo de 1.800 cm⁻¹ dos espectros foram absorção na região de 1.720–1.709 cm⁻¹, atribuída ao estiramento de C=O de ácidos carboxílicos, aldeídos e cetonas, cujas intensidades relativas são fortes para os AH dos tratamentos FEH e fracas para os AH do tratamento F. As razões entre as bandas de absorção a 1.720–1.722/1.525 (chamada

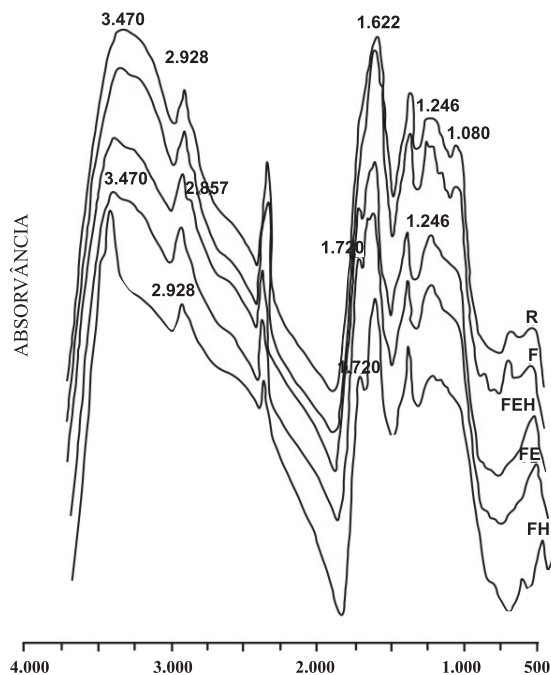


Figura 1. Espectros de infravermelho dos ácidos húmicos. F- fertilização com fertilizantes minerais (ureia, fosfato monoamônio, cloreto de potássio); FE- F + aplicação de 20 dm³/ planta de esterco antes do plantio e antes da primeira poda de frutificação; FH- F + fertilização com 30 dm³ ha⁻¹ de Codahumus 20[®]; FEH- FH + aplicação de 20 dm³/ planta de esterco antes do plantio; R: testemunha sem adubação.

neste trabalho de índice de reatividade) foram de 1,18 e 1,48 para os AH dos tratamentos F e FEH, respectivamente. Valores acima de 1,0 indicam maior concentração relativa de estiramentos C=O de grupos carboxílicos comparados ao estiramento C=C aromático.

Em geral, os dados obtidos por meio da espectroscopia FTIR sugerem uma mistura de características aromático-alifáticas, uma grande quantidade de grupos carboxílicos e menor número de grupos nitrogenados para os AH dos tratamentos FEH, FH e FE. Os AH do tratamento F e R foram caracterizados por maior conteúdo de componentes nitrogenados, por exemplo cadeias de polipeptídios (Senesi et al., 2003), e menor conteúdo de grupos carboxílicos e fenólicos, demonstrando que, qualitativamente, os AH do tratamento F e R são menos reativos do que os dos tratamentos FE, FH e FEH, e que o N é parte importante da estruturas daqueles AHs.

A relação entre a absorvância da banda de absorção na região 3.057–3.055 cm⁻¹ e em 2.934–2.928 cm⁻¹ foi chamada, neste trabalho, de índice de aromaticidade, uma vez que expressa a relação entre o estiramento

de C-H de grupos aromáticos e estiramento axial assimétrico de C-H alifático, respectivamente. Por outro lado, a relação entre a absorvância da banda de absorção na região 2.928 cm⁻¹ e 1.050–1.080 cm⁻¹ foi chamada, neste trabalho, de índice de hidrofobicidade, uma vez que expressa a relação entre grupos apolares (-CH₃) e polares (-OH, C-O), respectivamente, adaptado de Freixo et al. (2002).

Os índices de aromaticidade (Quadro 2) variaram de 0,84 a 0,94. Já os valores para os índices de hidrofobicidade variaram de 1,20 a 1,48. A análise destes dados revela que os ácidos húmicos FE, FH e FEH são os mais humificados, pois se apresentam mais aromáticos e recalcitrantes e mais hidrofóbicos. O aumento da proporção de grupamentos -CH₃ nos ácidos húmicos FE, FH e FEH provavelmente seja o resultado da utilização de carboidratos facilmente decomponíveis pelos microrganismos e a preservação seletiva do C mais recalcitrante, durante o processo de decomposição do esterco aplicado no tratamento (Zech et al., 1997; Freixo et al., 2002).

Espectroscopia de fluorescência

Os espectros de fluorescência obtidos no modo de emissão para os diferentes AH (Figura 2a,b,c), são semelhantes a outros de AH de solos (Senesi et al., 1991). Todos os AH apresentaram um ombro em 470 nm e um pico com máximo comprimento de onda centrado em 500 nm. Não foram observadas diferenças nos máximos de absorção entre os diferentes AH. Entretanto, o AH do tratamento FEH evidenciou maior intensidade de fluorescência que os demais provavelmente por apresentar maior quantidade de grupos fluoróforos e ser mais evoluído conforme dados obtidos na espectroscopia de infravermelho.

Os espectros de emissão com excitação em 465 nm (Figura 2b) exibem um pico centrado em 522 nm. Basicamente o máximo comprimento de onda de

Quadro 2. Índices de aromaticidade (IA) e índice de hidrofobicidade (IH) obtidos dos espectros de infravermelho dos ácidos húmicos

Tratamento	IA	IH
F	0,84	1,20
FE	0,94	1,40
FEH	0,92	1,48
FH	0,91	1,33
R	0,84	1,20

F: fertilização com fertilizantes minerais (ureia, fosfato monoamônio, cloreto de potássio); FE: F + aplicação de 20 dm³/ planta de esterco antes do plantio e antes da primeira poda de frutificação; FH: F + fertilização com 30 dm³ ha⁻¹ de Codahumus 20[®]; FEH: FH + aplicação de 20 dm³/ planta de esterco, antes do plantio. IA: índice de aromaticidade e IH: índice de hidrofobicidade.

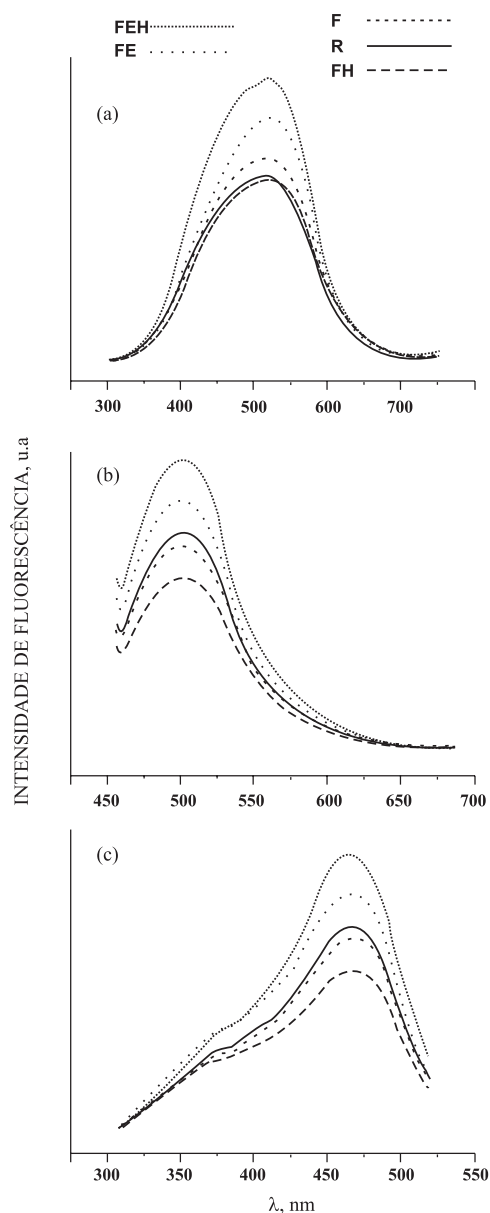


Figura 2. Espectros de fluorescência bidimensionais no modo de emissão, com excitação em 240 nm dos ácidos húmicos (a); com excitação em 465 nm dos ácidos húmicos (b); varredura síncrona com $\Delta\lambda$ de 55 nm dos ácidos húmicos (c). F - Fertilização com fertilizantes minerais (uréia, fosfato monoamônico, cloreto de potássio); FE - F + aplicação de 20 dm³ / planta de esterco antes do plantio e antes da primeira poda de frutificação; FH - F + fertilização com 30 dm³ ha⁻¹ de Codahumus 20; FEH - FH + aplicação de 20 dm³ de esterco / planta antes do plantio e antes da poda de frutificação; R - testemunha, sem adubação.

absorção foi o mesmo dos exibidos nos espectros de emissão com excitação em 240 nm (Figura 2a).

A emissão de fluorescência por misturas complexas de compostos fluorescentes não pode ser sempre satisfatoriamente obtida por técnica usual de excitação com comprimento de onda fixo selecionado especificamente para componentes individuais. Segundo Lloyd (1971), considerável melhora na resolução dos espectros pode ser obtida quando os comprimentos de ondas de emissão e excitação são variados juntos, como ocorre no modo de varredura síncrona. Os espectros de fluorescência no modo de varredura síncrona (Figura 2c), são caracterizados por apresentar um pico principal centrado em 465 nm. Ombro em 400 e 373 nm foi observado em todos os espectros dos diferentes AH.

Bandas e picos de fluorescência em longos comprimentos de onda são associados a compostos de elevado peso molecular e ricos em anéis aromáticos condensados capazes de um grande grau conjugação com grupos substituintes doadores de elétrons como grupos carboxílicos e carbonílicos (Senesi et al., 1991). Por outro lado, bandas e picos em curtos comprimentos de ondas estão associados a componentes estruturais simples de pequeno peso molecular, portadores de grupos substituintes doadores de elétrons como hidroxilas, metoxilas e amino, pequeno nível de policondensação aromática e cromóforos conjugados. A prevalência de baixo comprimento de onda nos espectros no modo de excitação e sincronizado para os ácidos húmicos estudados sugere a presença de moléculas relativamente pequenas, de baixo grau de humificação e policondensação aromática, principalmente nos AH dos tratamentos F e R.

Considerando-se que espectros de fluorescência com picos deslocados para maiores comprimentos de onda (> 500 nm) estão relacionados à presença de sistemas aromáticos condensados, altamente substituídos, e, ou, sistemas insaturados capazes de alto grau de conjugação Senesi, (1990), infere-se que os AH estudados são caracterizados por serem mais policondensados e portadores de alto nível de cromóforos conjugados. Foram observadas variações nas intensidades dos espectros entre as diferentes amostras estudadas, que podem ser devidas a variações na concentração de grupos fluorescentes nos diferentes AH (Datta et al., 1971).

Os valores obtidos referentes ao índice A_4/A_1 variaram de 1,95 a 2,25, referentes aos ácidos húmicos dos tratamentos FEH e FE, respectivamente (Quadro 3). Os valores obtidos referentes ao índice I_{480}/I_{400} , variaram de 2,11 a 2,86, referentes aos AH dos tratamentos FEH e F, respectivamente. Quanto aos valores obtidos referentes ao índice A_{465} , variaram de 1,04 a 1,74, referentes aos AH dos tratamentos FEH e FE. Estes dados demonstram o maior grau de evolução dos ácidos húmicos dos tratamentos que receberam esterco (FEH e FE), confirmando os resultados obtidos com as técnicas de UV-vís e infravermelho, que possibilitaram indicar maior predominância de estruturas alifáticas para os ácidos

Quadro 3. Índices de humificação obtidos por espectroscopia de fluorescência para os ácidos húmicos

Tratamento	A ₄ /A ₁	I ₄₈₀ / I ₄₀₀	A ₄₆₅
			u.a
F	1,97	2,86	1,49
FE	2,25	2,62	1,74
FEH	1,95	2,11	1,04
FH	2,09	2,37	1,23
R	2,02	2,35	1,29

F: fertirrigação com fertilizantes minerais (ureia, fosfato monoamônio, cloreto de potássio); FE: F + aplicação de 20 dm³/ planta de esterco antes do plantio e antes da primeira poda de frutificação; FH: F + fertirrigação com 30 dm³ ha⁻¹ de Codahumus 20®; FEH: FH + aplicação de 20 dm³/ planta de esterco, antes do plantio. Estimativa do grau de humificação: Índices A₄/A₁: método proposto por Zsolnay et al. (1999); I₄₈₀/I₄₀₀: método adaptado de Kalbitz et al. (1999) e A₄₆₅: baseado em Milori et al. (2002).

húmicos dos tratamentos F e R. Esse comportamento provavelmente está relacionado ao fato desses tratamentos não terem recebido adição de esterco, pois este, quando adicionado ao solo, proporciona maior atividade microbológica, o que favorece os processos de humificação da MOS e, portanto a sua policondensação (Bingeman et al., 1953; Martin & Haider, 1971; Shimizu et al., 2009).

Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica

A humificação da MOS leva, de maneira geral, à formação de compostos mais aromáticos, de maior massa molar aparente, maior grau de condensação das estruturas e maior concentração de radicais livres orgânicos. Esta última propriedade pode ser obtida pela espectroscopia de RPE (Martin-Neto et al., 1991) e tem sido utilizada na estimativa do grau de humificação das SH (Martin-Neto et al., 1991; Cunha, 2005). Os resultados obtidos na análise de RPE para todos os AH (concentração de radicais livres orgânicos e largura da linha) podem ser visualizados no quadro 4.

Os valores para a concentração de radicais livres orgânicos foram diferentes entre os AH estudados variando de 0,95 a 2,66 spins g⁻¹ x 10¹⁷ para os AH dos tratamentos F e FEH. Esses valores são consistentes com aqueles encontrados na literatura para AH de solo de diferentes origens e natureza (Martin-Neto et al., 1991). Os valores obtidos para a largura de linha variaram de 3,9 a 4,7 Gauss para os AH dos tratamentos FEH e F, respectivamente, e estão de acordo com a largura da linha, de radicais livres orgânicos detectados em SH, que geralmente variam de 2 a 10 Gauss (Senesi et al., 2003).

Verifica-se que os valores mais elevados para a concentração de radicais livres orgânicos (CRLO) são dos AH dos tratamentos FE e FEH. Esse comportamento pode ser explicado pelo fato de que esses AH são os de maior grau de condensação, portanto mais humificados, o que implica maior concentração de CRLO. Entre os AH estudados, os do tratamento FEH foram os que apresentaram a menor largura de linha, que juntamente com os dados de CRLO indicam que estes são os mais humificados.

O maior valor para largura da linha foi observado para os AH do tratamento F (Quadro 4), indicando menor condensação e aromaticidade dos AH desse tratamento, com valores próximos ao AH do tratamento R. Verificou-se uma concentração de radicais livres orgânicos nos AH do tratamento FEH três vezes maior do que a concentração obtida para os AH do tratamento F, sugerindo que os AH de F são menos aromáticos do que os AH de FEH. Os AH de F seriam os menos aromáticos de todos os AH estudados. O tratamento FH embora tenha apresentado valores

Quadro 4. Dados médios de medidas de RPE dos ácidos húmicos

Tratamento	CRLO	Largura da linha
	spins g ⁻¹ x 10 ¹⁷	Gauss
F	0,95 (0,09)	4,7 (0,1) ⁽¹⁾
FE	2,38 (0,12)	4,1 (0,1)
FEH	2,66 (0,07)	3,9 (0,0)
FH	1,28 (0,05)	4,3 (0,1)
R	1,08 (0,03)	4,4 (0,1)

⁽¹⁾ Valores entre parênteses representam os desvios médios. F: fertirrigação com fertilizantes minerais (ureia, fosfato monoamônio, cloreto de potássio); FE: F + aplicação de 20 dm³/ planta de esterco antes do plantio e antes da primeira poda de frutificação; FH: F + fertirrigação com 30 dm³ ha⁻¹ de Codahumus 20®; FEH: FH + aplicação de 20 dm³/planta de esterco, antes do plantio. CRLO: concentração de radicais livres orgânicos.

de CRLO mais elevados que os tratamentos F e R, ainda continuam próximos desses.

CONCLUSÕES

O esterco foi o responsável pelo maior grau de policondensação dos ácidos húmicos. O uso de esterco associado a ácidos orgânicos e fertilizantes minerais favoreceu a formação de ácidos húmicos mais estáveis e evoluídos comparados aos tratamentos que não receberam esterco. Com base nessas informações, infere-se que os ácidos húmicos dos tratamentos FE e

FEH propiciam um ambiente mais favorável às reações de troca iônica, reações com coloides inorgânicos do solo, com moléculas orgânicas e de complexação com cátions metálicos, entre outras.

LITERATURA CITADA

- BASSOI, L.H.; SILVA, S.T. & SILVA FILHO, A.V. Efeito da aplicação de ácidos orgânicos na produção de uva cv. Itália no Vale do São Francisco. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, 6., Rio de Janeiro, 2005. Resumos expandidos. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2005. p.1-3. (Embrapa Solos. Documentos, 70)
- BATJES, N.H. Total carbon and nitrogen in the soils of the word. *Eur. J. Soil Sci.*, 47:151-163, 1996.
- BINGEMAN, C.W.; VARMER, J.E. & MARTIN, W.P. The effect of the addition of organic materials on the decomposition of an organic soil. *Soil Sci. Soc. Proc.*, 1:34-38, 1953.
- BRANCALIÃO, S.R. & MORAES, M.H. Alterações de alguns atributos físicos e das frações húmicas de um Nitossolo Vermelho na sucessão milheto-soja em sistema plantio direto. *R. Bras. Ci. Solo*, 32:393-404, 2008.
- CANELLAS, L.P.; ESPINDOLA, J.A.A.; REZENDE, C.E.; CAMARGO, P.B.; ZANDONADI, D.B.; 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, 2004.
- CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.A.; MOARES, A.A.; RUMJANEK, V.M. & OLIVARES, F.L. Avaliação de características de ácidos húmicos de resíduos de origem urbana: I. Métodos espectroscópicos (UV-vis, IV, RMN ¹³C, C-PP/MAS) e microscopia eletrônica de varredura. *R. Bras. Ci. Solo*, 24:741-750, 2000.
- CHEN, Y.; SENESI, N. & SCHNITZER, M. Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 41:352-358, 1977.
- CUNHA, T.J.F. Ácidos húmicos de solos escuros da Amazônia (Terra Preta do Índio). Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2005. 139p. (Tese de Doutorado)
- DATTA, C.; GHOSH, K. & MUKHERJEE, S.K. Fluorescence excitation spectra of different fractions of humus. *J. Indian Chem. Soc.*, 48:279-287, 1971.
- DIAS, B.O.; SILVA, C.A.; SOARES, E.M.B. & WAGNER, B. Estoque de carbono e quantificação de substâncias húmicas em Latossolo submetido a aplicação contínua de lodo de esgoto. *R. Bras. Ci. Solo*, 31:701-711, 2007.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de pesquisa de Solo. Manual de métodos de análise de solos. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solo. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, Embrapa Produção de Informação, 1999. 412p.
- FREIXO, A.A.; CANELLAS, L.P. & MACHADO, P.L.O. Propriedades espectrais da matéria orgânica leve-livre e leve intra-agregado de dois Latossolos sob plantio direto e preparo convencional. *R. Bras. Ci. Solo*, 26:445-453, 2002.
- HAYES, M.H.B.; MacCARTHY, P.; MALCOLM, R.L. & SWIFT, R.S. The research for structure: Setting the scene. In: HAYES, M.H.B.; MacCARTHY, P.; MALCOLM, R.L. & SWIFT, R.S., eds. *Humic substances II: In search of structure*. Chichester, John Wiley, 1989. p.3-31.
- KALBITZ, K.; GEYER, W. & GEYER, S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances: A reflection of land use history in a fen area. *Biogeochemistry*, 47:219-238, 1999.
- KONONOVA, M.M. *Materia organica del suelo: Su naturaleza, propiedades y métodos de investigación*. Barcelona, Oikos-Tau, 1982. 364p.
- LLOYD, J.B.F. Synchronized excitation of fluorescence emission spectra. *Nature Phys. Sci.*, 231: 64-65, 1971.
- MARTIN, J.M. & HAIDER, K. Microbial activity in relation to soil humus formation. *Soil Sci.*, 111:54-63, 1971.
- MARTIN-NETO, L.; ANDRIULO, A.E. & TRAGHETA, D.G. Effects of cultivation on ESR spectra of organic matter from soil fractions of a Mollisol. *Soil Sci.*, 157:365-372, 1994.
- MARTIN-NETO, L.; NASCIMENTO, O.R.; TALAMONI, J. & POPPI, N.R. RPE of micronutrients-humic substances complexes extracted from a Brazilian soil. *Soil Sci.*, 51:369-376, 1991.
- MILORI, D.M.B.P.; BAYER, C.; BAGNATO, V.S.; MILNICZUK, J. & MARTIN NETO, L. Fluorescence spectroscopy as an alternative approach to study humification degree in soil humic acids. In: INTERNATIONAL MEETING OF THE INTERNATIONAL HUMIC SUBSTANCES SOCIETY, 10., Toulouse, 2000. Proceedings. Toulouse, International Humic Substances Society, 2000. v.1. p.97-100.
- MILORI, D.M.B.P.; MARTIN NETO, L.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J. & BAGNATO, V. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. *Soil Sci.*, 167:739-749, 2002.
- NOVOTNY, E.H. Estudos espectroscópicos e cromatográficos de substâncias húmicas de solos sob diferentes sistemas de preparo. São Carlos, Universidade de São Paulo, 2002. 215p. (Tese de Doutorado)
- SCHNITZER, M. Organic matter characterization. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H. & KEENEY, D.R., eds. *Methods of soil analysis: Chemical and microbiological properties*. 2.ed. Madison, Soil Science Society of America, 1982. v.2. p.581-594. (Agronomy, 9)
- SENESE, N. Fluorescence spectroscopy applied to the study of humic substances from soil and soil related systems: A review. In: AMERICAN CHEMISTRY SOCIETY MEETING, 199., Boston, 1990. Proceedings. Boston, American Chemical Society, 1990. p.79-82.

- SENESI, N. & STEELINK, C. Application of ESR spectroscopy to the study of humic substances. In: HAYES, M.H.B.; MacCARTHY, P.; MALCOLM, R.L. & SWIFT, R.S., eds. Humic substances II: In search of structure. Chichester, John Wiley, 1989. p.373-408.
- SENESI, N.; D'ORAZIO, V. & RICCA, G. Humic acids in the first generation of EUROSOILS. *Geoderma*, 116:325-344, 2003.
- SENESI, N.; MIANO, T.M.; PROVENZANO, M.R. & BRUNETTI, G. Characterization, differentiation, and classification of humic substances by fluorescent spectroscopy. *Soil Sci.*, 152:259-271, 1991.
- SHIMIZU, M.; MARUTANI, S.; DESYATKIN, A.R.; JIN, T.; HATA, H. & HATANO, R. The effect of manure application on carbon dynamics and budgets in a managed grassland of Southern Hokkaido, Japan. *Agric. Ecosys. Environ.*, 130:31-40, 2009.
- SILVA, F.C., org. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília, Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. 370p.
- SINGER, L.S. Synthetic ruby as a secondary standard for the measurement of intensities in Electron Paramagnetic Resonance. *J. Appl. Phys.*, 30:1463-1464, 1959.
- SKJEMSTAD, J.O.; JANIK, L.J. & TAYLOR, J.A. Non-living soil organic matter: What do we know about it? *Aust. J. Exper. Agric.*, 38:667-680, 1998.
- STEVENSON, F.J. Humus chemistry: Genesis, composition, reactions. 2.ed. New York, John Wiley, 1994. 496p.
- SWIFT, R.S. Organic matter characterization. In: SPARKS, D.L.; PAGE, A.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T. & SUMNER, M.E., eds. Methods of soil analysis: Chemical methods. Madison, Soil Science Society of America, 1996. v.3. p.1011-1020. (Soil Science Society of America Book Series, 5)
- YONEBAYASHI, K. & HATTORI, T. Chemical and biological studies on environmental humic acids. I. Composition of elemental and functional groups of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 34:571-584, 1988.
- ZECH, W.; SENESI, N.; GUGGENBERG, 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.
- ZSOLNAY, A.; BAIGAR, E.; JIMENEZ, M.; STEINWEGM, B. & SACCOMANDI, F. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere*, 38:45-50, 1999.