

**Universidade de São Paulo**  
**Instituto de Química de São Carlos**  
**Departamento de Físico-Química**

**RELAÇÃO ENTRE TAXA DE EMISSÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO E GRAU DE  
HUMIFICAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA DE SOLO DE MATA VIRGEM**

Fellipe Magioli Cadan

Monografia apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Química com atribuições tecnológicas, ênfase ambiental.

Orientador: Maria Olímpia de Oliveira Rezende

São Carlos

2015

Aos meus familiares, em especial meus pais, José Carlos e Izirda, por acreditarem em mim. E à Bianca, que inspira a me tornar melhor a cada dia. Vocês são responsáveis pelas minhas vitórias e por tudo que sou.

## AGRADECIMENTOS

- Aos meus pais, pela oportunidade, amor, incentivo e confiança, sempre.
- À minha namorada Bianca Machado, que esteve ao meu lado em todos os momentos.
- À Embrapa Instrumentação, na pessoa do Dr. Paulino Ribeiro Villas-Boas, pela oportunidade, orientação, incentivo, atenção e paciência concedidos a mim.
- À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Olímpia de Oliveira Rezende, pela confiança e orientação.
- Às técnicas responsáveis pelos laboratórios, Silviane e Alice Raabe, pelo auxílio nas análises.
- À doutoranda Roberta Santin e à mestranda Nayrê Ohana, pelo convívio e auxílio quando necessário.
- Aos membros do Grupo de Ótica da Embrapa Instrumentação, sem os quais as bases deste projeto não poderiam existir.
- Ao Dr. Carlos Manoel Pedro Vaz, pela ajuda em análise granulométrica.
- Aos membros e amigos da República Lado Podre, pela amizade e momentos passados.
- Enfim, a todos que conviveram comigo durante os anos de minha formação de qualquer forma.

*“O solo é o grande conector da vida, a fonte e o destino de todos. Ele é o curandeiro, o restaurador e o ressuscitador, pelo qual doença se faz saúde, velhice se faz juventude e morte se faz vida.”*

Wendell Berry

## RESUMO

Há anos vêm se observado mudanças climáticas em todo globo. Indícios acusam o acúmulo de gases causadores do efeito estufa na atmosfera como grandes pivôs destes efeitos. Em especial, gases de carbono, como seu dióxido e o metano. Assim, é importante o estudo aprofundado do solo - reservatório no ciclo do carbono - como agente de incorporação ou emissão destes gases. O desenvolvimento de modelos que avaliem as variáveis naturais e de atividade humana sobre a transferência de carbono entre estes reservatórios (solos e atmosférico) é de grande valia para o entendimento das suas causas e efeitos. Para tanto, estudos de base devem ser realizados, como controle aos demais passos da criação de um modelo geral e abrangente. Este trabalho, de base, visa o acompanhamento das emissões naturais de dióxido de carbono de solo devido à decomposição de sua matéria orgânica, em condições controladas para sua evolução, e a posterior determinação de sua taxa de emissão. Ainda, neste estudo é abordada a relação entre esta taxa de emissão e a mudança na estrutura geral e composição da matéria orgânica presente nos solos. O acompanhamento das emissões é realizado quantitativamente por meio de análise com espectrômetro de infra-vermelho com transformada de Fourier (FTIR) em cela especial para gases, enquanto a avaliação das mudanças estruturais e de composição são realizadas a partir de análise elementar CHN e por meio de índice de humificação baseada em dados de fluorescência molecular. Este estudo faz parte do projeto “Modelagem e simulação do balanço de carbono e da emissão de gases do efeito estufa” da Embrapa, incluindo-se no macro-projeto “Dinâmica de gases de efeito estufa e balanço de carbono em sistemas de produção de grãos no Brasil”.

## LISTA DE FIGURAS

**FIGURA 1** – Foto dos frascos incubadores.

**FIGURA 2** - Modelo do equipamento de FTIR utilizado.

**FIGURA 3** – Modelo da cela de gases utilizada.

**FIGURA 4** – Foto dos solos (a) antes da preparação e (b) depois da preparação.

**FIGURA 5** – Modelo do equipamento de análise elementar CHN utilizado.

**FIGURA 6** – Possíveis vibrações para a molécula de dióxido de carbono.

**FIGURA 7** – Perfil de espectro de absorção no infravermelho de padrão de dióxido de carbono, em sua região característica, para diversas concentrações de padrão.

**FIGURA 8** – Curva de calibração para concentrações de dióxido de carbono.

**FIGURA 9** – Gráfico das emissões totais de dióxido de carbono por período de tempo.

**FIGURA 10** – Gráfico das emissões totais de dióxido de carbono, adicionada de projeção para o dia 77 de incubação, por período de tempo.

**FIGURA 11** – Gráfico das taxas de emissão de dióxido de carbono por período de tempo.

**FIGURA 12** – Frações elementares de carbono por período de tempo.

**FIGURA 13** – Frações elementares de hidrogênio por período de tempo.

**FIGURA 14** – Frações elementares de nitrogênio por período de tempo.

**FIGURA 15** – Relação C/N por período de tempo.

**FIGURA 16** – Perfil de espectro de emissão de fluorescência para amostra de solo após incubação, sob excitação de 405nm.

**FIGURA 17** – Comparação entre os perfis de espectros de emissão de fluorescência para solos incubados no primeiro e no septuagésimo sétimo dia, sob excitação de 405nm.

**FIGURA 18** – Índice de humificação  $H_{FIL}$  por período de tempo.

**FIGURA 19** – Relação entre a fração elementar de carbono pela emissão total de dióxido de carbono.

**FIGURA 20** – Relação entre a fração elementar de carbono pela taxa de emissão de dióxido de carbono.

**FIGURA 21** – Relação entre o índice de humificação  $H_{FIL}$  pela emissão total de dióxido de carbono.

## LISTA DE TABELAS

**TABELA 1** – Características físico-químicas.

**TABELA 2** – Área dos picos nos espectros de absorção de infravermelho e sua concentração calculada no diversos períodos de tempo.

**TABELA 3** – Massas de dióxido de carbono e suas razões por grama de solo bruto, calculadas no diversos períodos de tempo.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**IPCC** - Intergovernmental Panel on Climate Change.

**MOS** – Matéria orgânica do solo.

**EMBRAPA** – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

**FTIR** – *Fourier transform infrared spectroscopy*, Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier.

**VERTEX** – Modelo de equipamento.

**CHN** - Referente aos elementos analisados pelo equipamento: carbono, hidrogênio e nitrogênio.

**FIL** – Fluorescência induzida a laser.

**pH** – Potencial hidrogeniônico.

**DNA** – Ácido desoxirribonucléico.

**RNA** – Ácido ribonucléico.

**H<sub>FIL</sub>** – Índice de humificação a partir de fluorescência induzida a laser.

## SUMÁRIO

|                                                                    |           |
|--------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b>                                                | <b>11</b> |
| 1.1 O clima mundial                                                | 11        |
| 1.2 Solo como reservatório de carbono                              | 12        |
| 1.3 Mecanismos que interferem na estabilidade do carbono nos solos | 13        |
| 1.4 Papel dos microrganismos do solo e recalcitrância              | 13        |
| 1.5 Contextualização ambiental                                     | 14        |
| <b>2 OBJETIVOS</b>                                                 | <b>16</b> |
| <b>3 DESENVOLVIMENTO</b>                                           | <b>17</b> |
| 3.1 Planejamento                                                   | 17        |
| 3.2 Coleta, preparação e incubação do solo                         | 18        |
| 3.3 Caracterização físico-química                                  | 19        |
| 3.3.1 Análise de pH                                                | 19        |
| 3.3.2 Análise da densidade de partículas e aparente                | 19        |
| 3.3.3 Análise da umidade momentânea                                | 20        |
| 3.3.4 Análise granulométrica e retenção de água                    | 20        |
| 3.4 Emissão de dióxido de carbono                                  | 20        |
| 3.5 Armazenamento e preparação para análise do grau de humificação | 22        |
| 3.6 Análise elementar CHN                                          | 24        |
| 3.7 Análise em equipamento de fluorescência induzida a laser (FIL) | 25        |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>                                   | <b>26</b> |
| 4.1 Caracterização físico-química                                  | 26        |
| 4.2 Condições de incubação                                         | 27        |
| 4.2.1 Presença de água e nutrientes                                | 27        |
| 4.2.2 Temperatura                                                  | 28        |
| 4.2.3 pH                                                           | 29        |
| 4.2.4 Luminosidade                                                 | 29        |
| 4.3 Emissões de dióxido de carbono                                 | 30        |
| 4.4 Análise Elementar CHN                                          | 37        |
| 4.5 Grau de Humificação a Partir de FIL                            | 41        |

|                                                                                                        |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>4.6 Relações entre o <math>H_{FIL}</math> calculado, emissões de carbono e composição elementar</b> | <b>45</b> |
| <b>4.6.1 <math>CO_2</math> X Composição Elementar</b>                                                  | <b>45</b> |
| <b>4.6.2 <math>CO_2</math> x <math>H_{FIL}</math></b>                                                  | <b>47</b> |
| <b>5 CONCLUSÃO</b>                                                                                     | <b>49</b> |
| <b>6 REFERÊNCIAS</b>                                                                                   | <b>51</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 O clima mundial

É inegável a observação de que o clima mundial está sofrendo mudanças em relação às últimas décadas<sup>[1]</sup>, se tornando mais severo e errático. O tema está tão próximo que se tornou recorrente em nosso cotidiano: são veiculadas notícias em todos os canais de mídia e nós próprios podemos sentir à flor da pele. Tomando por exemplo o Brasil, nos últimos anos a região central passa por uma de suas maiores secas históricas, enquanto nos extremos sul e norte houve épocas de chuvas muito acima das previsões. E, segundo o *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC), o futuro será ainda mais alarmante para todo o globo.

Se continuarmos com a atual atividade, em meados de 2035 a temperatura média será 1°C maior em relação à década de 1990. Já no ano de 2100, aumentará adicionais 2°C. Esta sutil elevação poderia causar o aumento da quantidade de chuvas globais, tornando o mundo mais úmido. Porém, não seriam afetadas deste modo as áreas mais secas, onde se agravaria a situação<sup>[1]</sup>. Há expectativa de que aumentos mais acentuados de temperatura ocorram em maiores latitudes, ocasionando o degelo na região do extremo Ártico, o que consequentemente elevaria o nível dos oceanos<sup>[2]</sup>.

Ainda, dificuldades indiretamente relacionadas a estas mudanças poderiam surgir. Acredita-se que a saúde humana seja afetada, sendo o calor adicional responsável por agravar a situação de doenças respiratórias crônicas, cardíacas ou hipertensão<sup>[2]</sup>. Há previsões do aumento do número de indivíduos e do tamanho da região habitada por insetos portadores de doenças como a malária, febre amarela, cólera e dengue. As vidas animais e vegetais provavelmente sentiriam fatores análogos, inclusive o aumento do número de organismos predadores e parasitores<sup>[3]</sup>.

Novamente de acordo com o IPCC, a maior causa das mudanças climáticas observadas é a elevação da concentração dos gases do efeito estufa na atmosfera, sendo o principal em termos de emissões o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)<sup>[1]</sup>. Sua concentração atmosférica sofreu um aumento drástico a partir da revolução industrial, quando combustíveis fósseis passaram a ser queimados para a produção de energia<sup>[4]</sup>.

Assim, é importante o estudo de suas interações naturais e antropológicas com o universo a sua volta. Ou seja, de que modo e em que circunstâncias o dióxido de carbono é armazenado, transferido ou modificado.

## **1.2 Solo como reservatório de carbono<sup>[4]</sup>**

Muitos nutrientes importantes à vida de modo geral são parte de ciclos de transporte e armazenamento entre sistemas vivos e geológicos, os chamados ciclos biogeoquímicos. Os ciclos do carbono, nitrogênio, enxofre, fósforo e da própria água são os mais importantes.

Apesar da reserva global de carbono ser vasta, apenas uma pequena fração é ativamente envolvida em fluxos do ciclo do carbono, já que este é em grande parte aprisionado em forma de sedimentos e rochas ígneas.

Visto que o reservatório geológico se mantém estável, são os reservatórios oceânico, atmosférico, biótico e dos solos que respondem por grande parte dos fluxos de transporte de carbono. De modo geral, os fluxos entre reservatórios são complexos, constituindo-se de uma gama de mecanismos específicos atuando individualmente.

No caso dos solos, os fluxos de incorporação estão relacionados ao sequestro de dióxido de carbono da atmosfera por organismos foto e quimiossintéticos, além da incorporação indireta por carcaças e restos de organismos maiores. Já os fluxos de emissão de carbono não são completamente entendidos. Isto devido à variedade gigantesca de interações entre o carbono dos solos com os organismos vivos presentes.

Propõe-se que o principal componente dos solos atuando neste quesito seja o carbono dito orgânico<sup>[5]</sup>. Este é representado pela biomassa dos microorganismo, húmus estabilizado, resíduos vegetais e animais em diferentes estágios de decomposição e ainda materiais inertes como carvão vegetal ou mineral.

Processos que interfiram na estabilização, degradação e síntese destes materiais podem, portanto, alterar o grau de troca entre os reservatórios. De modo que um teor maior de compostos resistentes à degradação microbiológica, estáveis e menos acessíveis pode reduzir a liberação de carbono.

### **1.3 Mecanismos que interferem na estabilidade do carbono nos solos<sup>[5]</sup>**

Como dito, são três os fatores que alteram a estabilidade do carbono orgânico, e supõe-se no carbono total, no reservatório dos solos: a recalcitrância (resistência a degradação microbiana), a retenção e a acessibilidade.

Mecanismos que aumentam o grau de recalcitrância estão relacionados a própria degradação seletiva por micro-organismos, além de sua cadeia de síntese metabólica e condensação extracelular. Ou seja, estes consomem os compostos mais facilmente degradáveis, restando nos solos os de maior dificuldade e, enquanto o fazem, geram a partir desta assimilação metabólitos mais complexos. Podem ainda secretar enzimas extracelulares que estimulam a polimerização, tornando o meio mais rico em compostos de maior complexidade. Por outro lado, mecanismos que estimulam a despolimerização ou via metabólica específica reduzem o grau de recalcitrância dos componentes do solo.

Do mesmo modo, mecanismos que aumentam a retenção do carbono orgânico nos solos são a absorção, adsorção e complexação com elementos inorgânicos presentes. Estudos propõem que estes fatores relacionados à estabilidade são diretamente influenciados pelo pH do solo, além da concentração de cátions no meio. Isto se deve, em parte, pela complexação dos compostos orgânicos com metais, predominantemente Al (III) e Fe (III).

Ainda, mecanismos que interferem na acessibilidade são a agregação e o fracionamento. Os agregados são compostos formados por partículas menores, orgânicas ou inorgânicas, que se unem fortemente, criando uma "capa protetora", limitando o acesso ao carbono orgânico em seu interior. Vários processos podem gerar agregados, relacionados à química, física e atividades biológicas dos solos. Já o fracionamento é o mecanismo contrário, onde partículas maiores são quebradas, aumentando a acessibilidade do carbono presente no interior das mesmas.

### **1.4 Papel dos micro-organismos do solo e recalcitrância**

Vista como um dos fatores que interferem na estabilidade do carbono orgânico em solos, a recalcitrância é reflexo do metabolismo seletivo dos micro-organismos presentes.

Em condições aeróbicas, os micro-organismos de solos utilizam substratos componentes do dito carbono orgânico como fonte de energia e carbono em seus metabolismos.

Estes micro-organismos consomem inicialmente a parcela da matéria orgânica mais facilmente degradável, estimulando seu crescimento populacional enquanto ela está presente e liberando o dióxido de carbono como produto secundário de seu metabolismo, em altos teores<sup>[5]</sup>.

Gradativamente, o meio se torna complexo e exige cada vez micro-organismos mais adaptados ao consumo de matéria orgânica recalcitrante. Assim sendo, as populações pouco ou não adaptadas tendem a sucumbir à falta de nutrientes em que são capazes de metabolizar, reduzindo a massa emitida por período de tempo. Em sistemas fechados, chegará um ponto em que nenhuma população de micro-organismos será capaz sobreviver, aproximando a massa total de carbono emitido ao seu máximo.

Ainda, pequenas modificações nas estruturas dos componentes do solo podem ocorrer, como subprodutos das reações relacionadas ao metabolismo secundário destes mesmos micro-organismos. Estas modificações incluem conjugações, oxidações e condensações para compostos quimicamente protegidos de uma nova intervenção microbiana. Este processo é chamado de humificação<sup>[4]</sup>.

Estão presentes e podem exercer estes mecanismos nos componentes de carbono orgânico dos solos as bactérias, os actinomicetos, os fungos, os protozoários e as algas<sup>[4]</sup>.

### **1.5 Contextualização ambiental**

Como formas de intervenções antropológicas macroscópicas que atuam negativamente quanto aos três fatores acima citados e que, conseqüentemente, são atitudes emissoras de carbono, podemos citar: desflorestamento, queima de biomassa, plantio convencional, drenagem de terras úmidas e a monocultura<sup>[6]</sup>. Visto que estas intervenções são convencionalmente utilizadas, a sociedade agrícola em geral é responsável por boa parte das emissões de carbono oriundas dos solos.

Atualmente, estratégias estão sendo criadas para que o quadro se inverta, ou seja, para que o manejo para agricultura seja realizado de forma a incorporar carbono aos

solos. Estão sendo abandonadas as técnicas prejudiciais, adotadas técnicas como a compostagem e rotação de culturas e, por fim, restauração de áreas já degradadas. Porém, devido à área passível de tratamento e ao grau de incorporação ser limitado, estes métodos não podem ser a resposta final ao problema das emissões exageradas de carbono para atmosfera, mas seriam um bom paliativo até uma nova resposta surgir.

Entretanto, ainda resta a dúvida se estes métodos de incorporação são realmente eficientes no decorrer do tempo. Ou seja, se o carbono incorporado se tornará resistente e estável, ou se poderá ser totalmente degradado e liberado novamente para atmosfera.

Em países desenvolvidos há modelos específicos para seus solos, baseados em estudos de décadas sobre os fatores citados acima como relevantes para a estabilidade do carbono<sup>[7]</sup>. Portanto, especificadas as condições, é possível uma estimativa da eficiência das metodologias aplicadas sobre o solo, das emissões de gases, do acúmulo de carbono orgânico, etc.

Infelizmente, devido às divergências tanto estruturais, quanto da diversidade microbiológica de solos em regiões tropicais, estes modelos tem menor capacidade de previsão quando aplicados em solos brasileiros. Na realidade, alguns dos estudos mais completos possuem trabalhos contribuintes de solos de origem tropical, mas estes são tratados de forma geral e simplista em relação aos diversos subclimas possíveis.

Assim, é importante a criação de um modelo próprio do Brasil, capaz de prever com confiabilidade o comportamento do carbono em solos tipicamente brasileiros nas mais diversas situações. Este, portanto, é um estudo piloto, em sistema fechado, do comportamento de solos quanto à sua emissão de gases e humificação de sua matéria orgânica quando mantido em condições análogas às ambientais, para evolução da microbiota natural.

Este trabalho é um estudo piloto para o comportamento de carbono nestas condições, servindo de base para estudos mais complexos onde um ou mais fatores que interfiram na estabilidade do carbono de solos sejam avaliados. Uma extensão futura para sistemas abertos e estudos *in situ* também é possível.

## 2 OBJETIVOS

**Objetivo principal:** avaliar a emissão de dióxido de carbono de solo incubado em condições análogas às ambientais e sua relação com fatores como o grau de humificação de sua matéria orgânica e sua composição elementar.

**Objetivo secundário:** elucidar as condições básicas de um projeto piloto para complementação deste estudo, com avaliação de fatores não abordados neste experimento.

### **3 DESENVOLVIMENTO**

#### **3.1 Planejamento**

Com intuito da avaliação da emissão natural de dióxido de carbono e do grau de humificação da matéria orgânica dos solos (MOS) em relação ao tempo, foi concebido o experimento apresentado a seguir.

As amostras de solo virgem foram incubadas em recipientes hermeticamente fechados sob condições controladas e, em tempos pré-determinados, as análises necessárias foram realizadas.

Foram incubadas um total de 60 amostras, além de 5 recipientes de controle, que não possuíam solo. Estas 60 amostras foram avaliadas em 12 tempos diferentes quanto à emissão de dióxido de carbono, sendo eles no decorrer de 1, 2, 4, 7, 10, 17, 24, 31, 38, 45, 52 e 77 dias de incubação. Quanto ao grau de humificação, foram analisadas as amostras em períodos análogos aos da emissão de dióxido de carbono, adicionando-se o período zero, referente ao momento inicial, imediatamente anterior ao início da incubação.

O recipiente utilizado como incubador foi composto de frasco de vidro hermeticamente fechados, com volume de  $600 \pm 1$  mL, vedados por tampa metálica adaptada com septo. Esta adaptação permitiu a inserção de agulha para captação dos gases gerados no sistema fechado quando do momento das análises. Cada frasco incubador recebeu uma numeração única.

FIGURA 1 – Foto dos frascos incubadores.



Visto que as condições da atmosfera gasosa no interior dos sistemas de incubação devem garantir um ambiente aeróbico e concentração de dióxido de carbono inferior à de saturação, após cada tempo de coleta todos recipientes foram abertos para recirculação de ar por cerca de dez minutos<sup>[4]</sup>. Novamente fechados, permaneceram nas condições estipuladas até o próximo tempo de coleta.

### **3.2 Coleta, preparação e incubação do solo**

O solo utilizado no decorrer de todo experimento foi coletado no interior das instalações da Embrapa Pecuária Sudeste, na cidade de São Carlos – SP, Brasil ([21°57'42" S, 47°50'28" W), em região de mata virgem.

O clima local é considerado como tropical de altitude, que, segundo a classificação de Koeppen, é o Cwa, clima quente com inverno seco. A precipitação total anual apresenta média de 1361,6 mm e a temperatura média anual foi de 21,5°C<sup>[8]</sup>.

Foram coletadas amostras em profundidade não inferior à 10cm da superfície, deformadas, em amostragem única. Imediatamente após a coleta, foram transportadas para as instalações da Embrapa Instrumentação, também na cidade de São Carlos – SP, Brasil, em recipiente aberto. Já dentro das instalações, o solo passou por etapas de preparação como as descritas no Manual Embrapa para Análise de Solos<sup>[9]</sup>.

Inicialmente, foi realizado um destorroamento manual e retirada de pedras, galhos, raízes, insetos ou qualquer outro material estranho ao solo. A seguir, foi realizado peneiramento com abertura de 2mm, homogeneizando o solo e retraindo qualquer resíduo que poderia ter sido desprezado pelo destorroamento manual.

Parte deste solo então foi separado e seco em estufa à 120°C por um período de 24 horas para posterior caracterização físico-química.

No restante do solo homogeneizado desprezou-se a fase de secagem descrita no manual e passou-se diretamente para a incubação com a umidade natural. Em cada um dos recipientes foi adicionado  $100 \pm 0,1\text{g}$  do solo úmido. No momento em que todos os recipientes foram preenchidos, fechou-se cada um deles em sua ordem numérica. Os recipientes foram então mantidos sob abrigo da luz e em ambiente com temperatura controlada até o momento de suas coletas.

### **3.3 Caracterização físico-química**

#### **3.3.1 Análise de pH**

Realizado como descrito no Manual Embrapa para Análise de Solos<sup>[9]</sup>.

Foi adicionado a dois béqueres de vidro o volume de 10mL de solo seco. No primeiro deles foi adicionado em seguida 25mL de água destilada, no segundo 25mL de solução 1 mol/L de cloreto de potássio (KCl). As misturas foram agitadas e deixadas em repouso por uma hora. Agitou-se novamente a mistura e foi inserido eletrodo de medidor de pH de bancada, do qual foi obtido o resultado.

#### **3.3.2 Análise da densidade de partículas e aparente**

Realizado como descrito no Manual Embrapa para Análise de Solos.

Pesou-se 10g de solo seco e transferiu-o para balão volumétrico de 50mL. Adicionou-se álcool etílico lentamente com ajuda de bureta até que o volume do

balão fosse completo. A densidade de partículas foi calculada a partir da razão entre a massa exata tomada e a diferença entre o volume do balão e o volume de álcool utilizado na bureta.

Já a densidade aparente foi calculada a partir do método da proveta. Solo seco foi depositado lentamente em proveta volumétrica com massa conhecida. Após o volume estar completo, anotou-se a massa de solo. A razão entre o volume da proveta e a massa do solo é considerada a densidade aparente.

### **3.3.3 Análise da umidade momentânea**

Realizado como descrito no Manual Embrapa para Análise de Solos<sup>[9]</sup>.

Massa conhecida de solo úmido foi transferida para recipiente tarado. O conjunto foi colocado em estufa a 105-110°C por um período de 24 horas. Retirou-se da estufa, e transferiu-se o conjunto para dessecador até o resfriamento. A diferença de massa inicial e a após o período na estufa, dividida pela massa inicial, é proporcional a umidade momentânea do solo.

### **3.3.4 Análise granulométrica e retenção de água**

Realizado por Dr. Carlos Manoel Pedro Vaz, nos moldes do Comunicado Técnico 60 (Embrapa Instrumentação, 2004)<sup>[10]</sup>, a partir de 100g de solo seco preparado.

## **3.4 Emissão de dióxido de carbono**

As análises da emissão de dióxido de carbono para os solos foram realizadas inteiramente em equipamento de FTIR do modelo VERTEX 70, marca Broker, em seu acessório específico para análise de gases.

FIGURA 2 - Modelo do equipamento de FTIR utilizado.



O acessório consiste em cela de vidro cilíndrica, vedada nas extremidades por janelas de brometo de potássio (KBr), removíveis por meio de rosca e em forma de disco com dimensões 38 x 6 mm (diâmetro x espessura). A cela ainda possui duas entradas em seu corpo, fechadas por registros e septos.

FIGURA 3 – Modelo da cela de gases utilizada.



As características básicas do método utilizado para obtenção dos dados no equipamento foram as seguintes: obtenção do espectro de absorção, em 32 varreduras, na faixa de 400 aos 4000  $\text{cm}^{-1}$  em número de ondas, sob resolução de 1  $\text{cm}^{-1}$ , em modo Single Beam.

Inicialmente, foi construída uma curva de calibração com amostras padrão de dióxido de carbono a partir de pico característico, nas seguintes concentrações em

mg/L: 0,596; 4,92; 8,83; 17,7. O volume injetado para cada padrão foi de  $60 \pm 1$  mL, à 22°C e contra a pressão atmosférica. Além destes padrões injetados em volume constante, concentrações maiores e menores foram criadas a partir da manipulação do volume injetado de padrão específico, também à 22°C e contra a pressão atmosférica.

Para cada tempo de coleta, amostra da atmosfera gasosa formada em 10 dos recipientes foi analisada, sendo 5 dos frascos de menor numeração e 5 dos frascos de maior numeração, além dos frascos de controle.

Assim sendo, no primeiro tempo de coleta foram analisados os frascos de numeração entre 6 a 10 e 60 a 65, no segundo tempo de coleta os frascos de numeração entre 11 a 15 e 60 a 65, assim sucessivamente. Vale lembrar de que os frascos de numeração entre 1 a 5 foram os de controle.

O volume injetado foi ajustado por um grau de diluição de modo que os picos obtidos não ultrapassassem os atingidos pelo maior padrão, sendo o valor básico os 60 mL padronizados na curva de calibração. O ajuste era realizado por meio de amostra teste coletada em recipiente aleatório que não os dez citados acima.

Dos resultados obtidos pelo equipamento para cada tempo de coleta eram então descontados os controles e verificados estatisticamente quanto a presença de *outliers*, normalidade e erro padrão da média pelo software OriginLab 9.1. As médias apresentadas nas tabelas e gráficos adiante já estão considerando um conjunto sem *outliers* e representantes de curva de distribuição normal.

Ao final da coleta, o solo presente nos 5 frascos de menor numeração foi enviado para armazenamento e preparação para análise do grau de humificação, enquanto os 5 frascos de maior numeração foram retornados às condições controladas de incubação até novo tempo de coleta.

### **3.5 Armazenamento e preparação para análise do grau de humificação**

Para as análises posteriores quanto à humificação da MOS, foram necessárias a secagem, a preparação e o armazenamento do solo até que um número economicamente viável de amostras pudesse ser enviado aos equipamentos de análise elementar CHN e fluorescência induzida a laser (FIL)<sup>[11]</sup>.

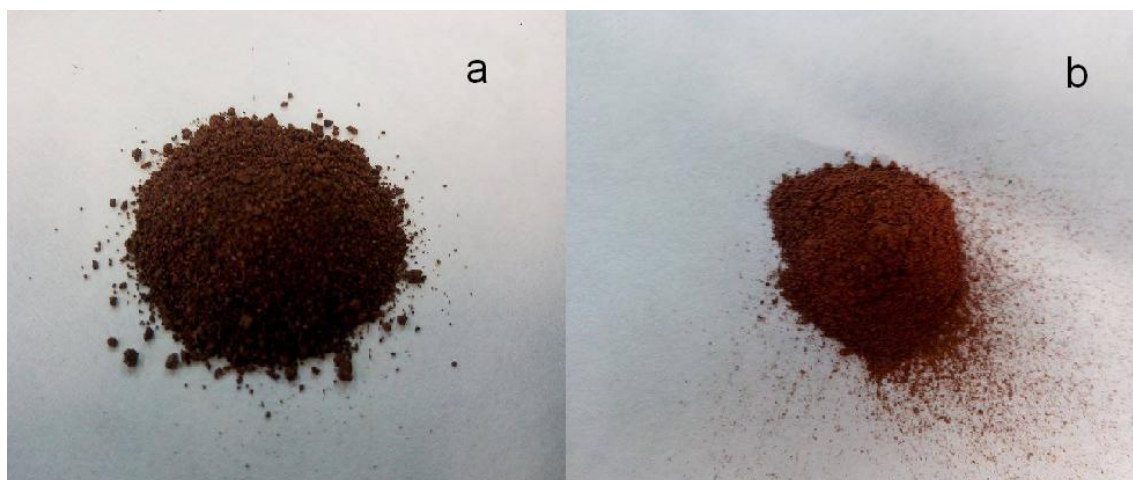
O armazenamento inicial, logo após a coleta de dados de emissão de dióxido de carbono, foi realizada em sacos plásticos inertes, acondicionadas em freezer comum, sob temperatura inferior aos  $-4^{\circ}\text{C}$ , por pelo menos uma semana.

Ainda, quando da abertura dos recipientes incubadores para transferência para as embalagens, foi avaliada a massa dos conjuntos para a estimativa da umidade momentânea nos demais recipientes. A umidade verificou-se constante durante a realização de todo experimento.

Solo congelado foi transferido para tubos de Falcon, fechados por camada de filtro de papel e transferidos para equipamento de liofilização. A secagem se deu por um período de quatro dias sob pressão reduzida a menos de 1mmHg.

O solo seco foi então macerado manualmente e peneirado em abertura de 100 *mesh*, equivalente a aproximadamente 0,145 mm.

FIGURA 4 – Foto dos solos (a) antes da preparação e (b) depois da preparação.



Após a preparação necessária para a análise elementar CHN, para análise em FIL os solos peneirados foram pastilhados por prensa manual. Uma massa de  $0,40 \pm 0,01\text{g}$  foi necessária para criação da pastilha para cada amostra de solo, prensada em força equivalente à massa de 6,5t.

### 3.6 Análise elementar CHN

Do solo peneirado e seco, foram coletadas alíquotas entre 9,5 e 10,5 mg, em duplicata, para cada amostra. Estas alíquotas foram encapsuladas em cápsulas de estanho especiais para realização da análise.

Como meio de calibração do equipamento, três replicatas entre 2 e 3 mg de padrão de acetanilida também foram pesados e armazenados nas cápsulas de estanho.

As amostras junto dos padrões foram então transferidas ao equipamento da marca Perkin Elmer, modelo 2400 Series II e analisadas por via seca. A metodologia do equipamento consiste em rampas de temperatura específicas para cada elemento, sendo elas transformadas às formas gasosas  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{N}_2$ . Posteriormente, estes gases são analisados por cromatógrafo acoplado ao próprio equipamento.

FIGURA 5 – Modelo do equipamento de análise elementar CHN utilizado.



Os resultados obtidos pelo equipamento para cada tempo de coleta foram verificados estatisticamente quanto à presença de *outliers*, normalidade e erro da média pelo software OriginLab 9.1. As médias apresentadas nas tabelas e gráficos adiante já estão considerando um conjunto sem *outliers* e representantes de curva de distribuição normal.

### 3.7 Análise em equipamento de fluorescência induzida a laser (FIL)

As pastilhas obtidas na fase de preparação foram alisadas por equipamento semelhante ao descrito em Milori *et al*<sup>[12]</sup>.

Para cada pastilha, os espectros de emissão foram adquiridos em triplicata de cada face. As características básicas do método utilizado para obtenção dos dados foram as seguintes: comprimento de onda constante de excitação de 405nm, com tempo de exposição de 0,5s e intensidade máxima do espectrômetro de 4000 u.a..

Os resultados obtidos pelo equipamento para cada tempo de coleta foram verificados estatisticamente quanto a presença de *outliers*, normalidade e erro da média pelo software OriginLab 9.1. As médias apresentadas nas tabelas e gráficos adiante já estão considerando um conjunto sem *outliers* e representantes de curva de distribuição normal.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Caracterização físico-química

Após as análises básicas de caracterização, o perfil do solo estudado segue as especificações apresentadas na TABELA 1.

TABELA 1 – Características físico-químicas.

|                                     | Valores                                            |
|-------------------------------------|----------------------------------------------------|
| <b>pH</b>                           | Em água: 6,37<br>Em KCl: 5,66                      |
| <b>Densidade de partículas</b>      | 2,273g/cm <sup>3</sup>                             |
| <b>Densidade aparente</b>           | 1,129g/cm <sup>3</sup>                             |
| <b>Umidade no momento da coleta</b> | 21% m/m                                            |
| <b>Granulometria</b>                | Areia: 63% m/m<br>Silte: 6% m/m<br>Argila: 31% m/m |

Os valores de pH nos afirmam ser este um solo levemente ácido. São realizadas tanto a medida em água quanto em solução salina. Isto se deve ao fato de que em água é somente evidente a acidez ativa. Ou seja, acidez causada pela presença de ácidos orgânicos fracos, que não se desprotonam em água pura, não poderia ser avaliada. Enquanto em solução, estes ácidos desempenham seu papel no potencial hidrogeniônico.

As densidades e a análise granulométrica nos dão indícios da capacidade de agregação do solo e de sua capacidade de retenção de água. Sendo um solo mais denso provavelmente mais compacto, assim como um solo com maior percentagem das parcelas mais finas provavelmente se agregará com maior facilidade. Este solo em questão é de características areia argilosas, com capacidade média baixa de agregação e retenção de água.

A umidade no momento de coleta é tal que o solo estava relativamente saturado, sendo a média para solos arenosos entre 20 e 30% em umidade. A diferença perante a capacidade total é causada tanto pela evaporação quanto pela infiltração e transporte de água por entre o solo.

#### **4.2 Condições de incubação**

As condições de incubação deveriam ser tais que fosse possível uma variação na estabilidade do carbono orgânico dos solos, possibilitando a emissão de dióxido de carbono e a sua humificação. Lembrando, são três os fatores que podem ser responsáveis por esta variação de estabilidade: a recalcitrância, a retenção e a acessibilidade<sup>[5]</sup>.

Visto que na preparação do solo para incubação não houve o incremento ou decremento de espécies relacionadas aos mecanismos de complexação ou capazes de adsorção e absorção, o parâmetro da retenção é considerado próximo à constante, não sendo ele o principal fator desta variação desejada na estabilidade. Do mesmo modo, o solo foi homogeneizado em tamanho e foram removidos quaisquer componentes alheios ao mesmo. Assim sendo, o fator de acessibilidade também pode ser considerado coadjuvante no processo de estabilização da matéria orgânica.

Neste caso, portanto, o principal fator de estabilização está relacionado aos mecanismos de recalcitrância. Ou seja, na atividade seletiva de micro-organismos sobre a própria matéria orgânica, consumindo-a e modificando-a a favor de seus próprios metabolismos.

Assim sendo, as condições ótimas para a variação da estabilidade da MOS, deveriam ser também as condições necessárias para o desenvolvimento microbiológico no interior do frasco incubador.

##### **4.2.1 Presença de água e nutrientes<sup>[4]</sup>**

Quaisquer micro-organismos, para sua sobrevivência, necessitam de uma fonte de água e nutrientes, principalmente carbono e nitrogênio. Estes componentes estão presentes na própria constituição das células e em reações anabólicas e catabólicas.

Os solos por si só possuem em sua composição componentes capazes de suprir as exigências nutricionais dos mais diversos micro-organismos: carboidratos, ácidos graxos, aromáticos, N-associados, sais de metais e metais traços. Assim, não foi incorporado nenhum componente nutricional ao solo incubado, sendo a nutrição dos micro-organismos totalmente assegurada pela composição do solo.

Quanto à água, experimentos são realizados nos mais diversos teores<sup>[13][14][15]</sup>. O consenso é a incubação com valores arbitrários iguais ou superiores a 50% da capacidade de campo do solo.

Segundo Veihmeyer & Hendrickson<sup>[16]</sup>, a definição de capacidade de campo é a quantidade de água que um perfil de terreno, sem vegetação e evaporação, retém contra a ação da gravidade, após plenamente inundado e deixado drenar livremente por uns poucos dias (um a quatro dias), em condições de campo.

Visto estas considerações, propôs-se a coleta das amostras de solo dia após um período chuvoso. Isto daria a certeza da proximidade da capacidade de campo, como em sua definição, além de simplificar a preparação do solo e evitar a fase de pré-incubação (para adaptação dos micro-organismos presentes às novas condições) no caso de uma secagem para posterior umidificação artificial.

Portanto, após preparação, o solo foi incubado em sua umidade natural, de campo. Esta umidade momentânea foi a calculada no item anterior.

#### **4.2.2 Temperatura<sup>[4]</sup>**

Micro-organismos podem existir nas mais diversas condições de temperatura, desde as geleiras polares, às fontes geotérmicas. Porém, apesar de toda esta abrangência, cada espécie tem sua faixa de temperatura ótima para crescimento, adaptadas ao seu habitat.

Em solos das regiões tropicais, os micro-organismos presentes são da classe mesofílica, ou seja, que suportam temperaturas amenas, entre aproximadamente 10 e 40°C.

Temperaturas acima dos limites tendem a causar a desnaturação de proteínas e a desestabilização da dupla camada lipídica de membranas celulares, causando a morte do organismo. Do mesmo modo, temperaturas abaixo dos limites tendem a reduzir a mobilidade de nutrientes, a velocidade de reações essenciais à

sobrevivência da célula e, em alguns casos, causam o rompimento celular devido ao aumento de volume do citoplasma congelado.

A incubação foi desenvolvida sob temperatura controlada de 17°C, entre os limites mesofílicos e próximo à realidade do habitat natural dos micro-organismos presentes.

#### **4.2.3 pH<sup>[4]</sup>**

Assim como a temperatura, micro-organismos podem viver em uma grande faixa de pH, porém cada espécie tem sua faixa ideal de crescimento.

Em solos, micro-organismos tendem a ser neutrófilos ou levemente acidófilos. Ou seja, as faixas de pH próximas à neutralidade ou levemente ácidas favorecem o seu crescimento.

Em pHs maiores que o limite para a espécie, não podem ocorrer os mecanismos próton motivos relacionados à respiração celular, além de o fato do RNA ser instável em condições alcalinas. Já em pHs ácidos, o DNA é instável<sup>[17]</sup>.

Os solos foram incubados com o pH natural, nos valores descritos no item anterior, levemente ácidos.

Porém, alguns processos naturais podem alterá-lo indesejavelmente. Em condições anaeróbicas, alguns micro-organismos podem recorrer às fermentações para produção de energia, produzindo ácidos orgânicos no processo. Ainda, em condições de incubação onde o dióxido de carbono produzido satura a atmosfera do frasco, este pode reagir com a água do meio, formando ácido carbônico<sup>[4]</sup>. Estes dois processos podem ser mitigados se periodicamente os frascos incubadores forem abertos por um momento, restabelecendo o oxigênio e drenando o dióxido de carbono excedente.

#### **4.2.4 Luminosidade<sup>[4]</sup>**

As condições de luminosidade são importantes quanto às análises de emissões de dióxido de carbono. Isto porque em condições em que há luz, a radiação é utilizada por micro-organismos autotróficos, capazes de produzir sua própria fonte de energia a partir de dióxido de carbono e água.

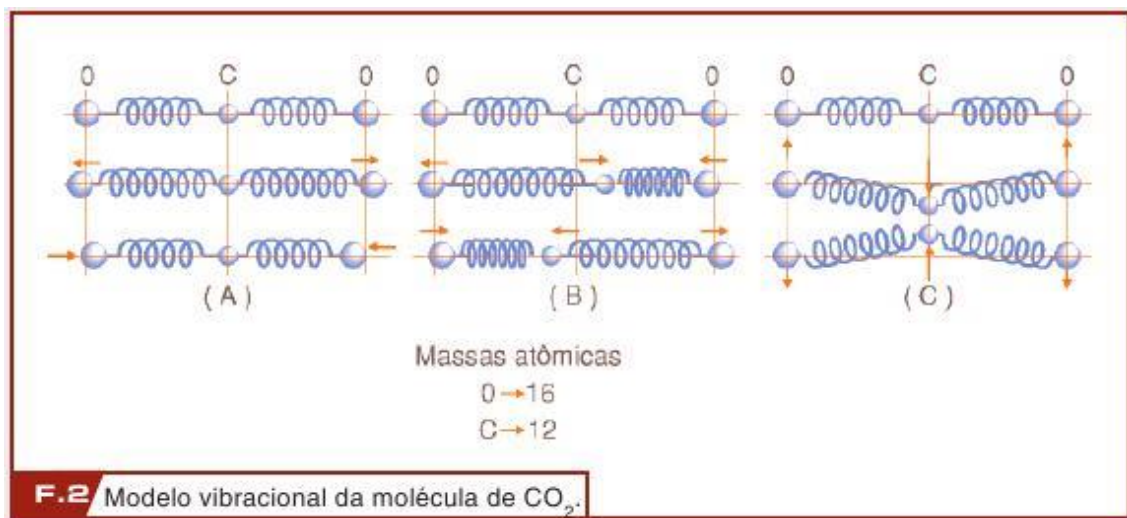
Com intenção de avaliar a emissão total de carbono, estes mecanismos são indesejados. Portanto, o solo foi incubado em condição sem luminosidade.

### 4.3 Emissões de dióxido de carbono

As análises de dióxido de carbono em equipamento de FTIR levam em conta as diferenças no momento de dipolo causadas por vibrações entre as ligações<sup>[18]</sup> carbono-oxigênio, quando excitadas por radiação na faixa do infravermelho.

As vibrações possíveis para o dióxido de carbono são a de estiramentos simétricos e assimétricos e dobramento angular. Porém, o estiramento simétrico não altera os valores de momento de dipolo molecular, não emitindo assim bandas de absorção ou emissão no espectro de infravermelho.

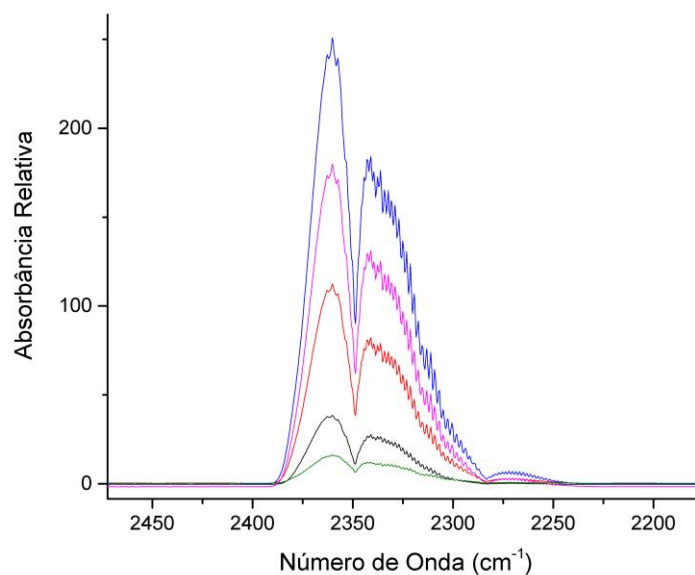
FIGURA 6 – Possíveis vibrações para a molécula de dióxido de carbono.



FONTE: <http://www.mecatronicaatual.com.br/educacao/1113-analisadores-por-absoro-de-radio-infravermelha>, acessado em 02/06/2015.

Estas vibrações formam o padrão, demonstrado na figura a seguir, quando excitadas por radiação infravermelha na faixa de 400 à 4000 cm<sup>-1</sup> nas condições explicitadas no item desenvolvimento.

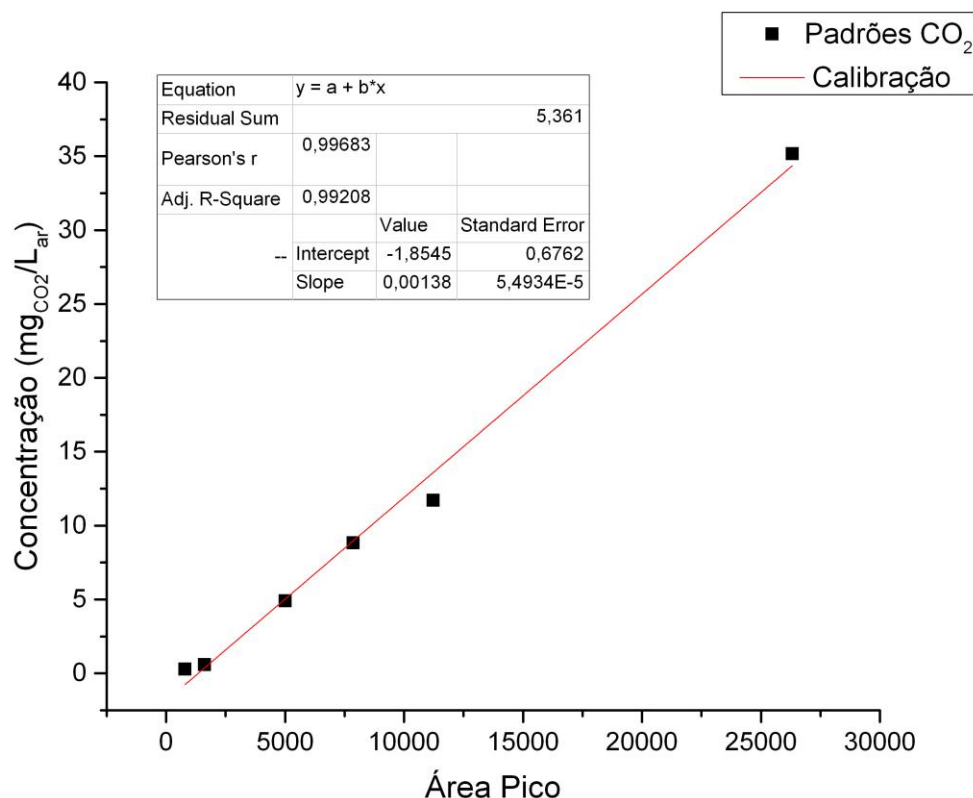
FIGURA 7 – Perfil de espectro de absorção no infravermelho de dióxido de carbono, em sua região característica, para diversas concentrações de padrão.



A banda característica do dióxido de carbono é na faixa entre 2239 à 2393  $\text{cm}^{-1}$ , isolada dos demais picos. Outra faixa de fácil observação é a entre aproximadamente 610 e 725  $\text{cm}^{-1}$ . Porém, se há água como interferente, mesmo nos padrões, esta segunda banda se encontraria muito próxima a uma banda de estiramentos OH da água. Sendo assim, foi considerada somente a primeira região para as análises quantitativas.

Amparado pela Lei de Beer-Lambert, pudemos correlacionar a área sob o pico característico com a concentração conhecida de padrões como os descritos na metodologia. Os resultados são demonstrados na FIGURA 8.

FIGURA 8 – Curva de calibração para concentrações de dióxido de carbono.



Assim, posteriores análises da atmosfera dos compartimentos de incubação poderiam ser avaliadas quanto à emissão de dióxido de carbono, acumulado no período, a partir da equação da reta calibrada:

$$\text{Concentração CO}_2 = 0,00138 * (A_{\text{pico}}) - 1,8545$$

A área do pico ( $A_{\text{pico}}$ ) considerada é a média das coletas dos dez frascos incubadores, já descontado o valor de controle, para cada período de coleta. Estes valores de controle são considerados devido à presença natural de concentrações de  $\text{CO}_2$  na própria atmosfera e, conseqüentemente, no interior dos frascos incubadores.

Os valores calculados a partir dos dados experimentais são apresentados na TABELA 2.

TABELA 2 – Área dos picos nos espectros de absorção de infravermelho e sua concentração calculada no diversos períodos de tempo.

| No período (horas) | $A_{\text{pico}}$ | Erro padrão da média de $A_{\text{pico}}$ | Concentração $\text{CO}_2$ (mg/L) | Erro Concentração $\text{CO}_2$ (mg/L) |
|--------------------|-------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------|
| <b>0 a 24</b>      | 11787,75          | 207,8842                                  | 14,41259                          | 0,70814                                |
| <b>24 a 48</b>     | 6662,82           | 219,9507                                  | 7,3402                            | 0,47544                                |
| <b>48 a 88</b>     | 15236,4179        | 288,33157                                 | 19,17176                          | 0,92661                                |
| <b>88 a 142</b>    | 19208,33346       | 630,8788                                  | 24,653                            | 1,36783                                |
| <b>142 a 214</b>   | 19249,33837       | 520,22634                                 | 24,70959                          | 1,27795                                |
| <b>214 a 382</b>   | 32176,49017       | 889,59959                                 | 42,54906                          | 2,1518                                 |
| <b>382 a 550</b>   | 26090,46123       | 452,37072                                 | 34,15034                          | 1,56305                                |
| <b>550 a 718</b>   | 15193,87975       | 385,58966                                 | 19,11305                          | 0,98971                                |
| <b>718 a 890</b>   | 16307,50314       | 203,80525                                 | 20,64985                          | 0,93878                                |
| <b>890 a 1054</b>  | 15377,32384       | 372,12258                                 | 19,36621                          | 0,98844                                |
| <b>1054 a 1222</b> | 6914,90381        | 330,26226                                 | 7,68807                           | 0,59326                                |

Os dados nesta tabela e em todas as figuras e tabelas subseqüentes abandonam a grandeza de tempo em dias e a apresenta em horas. Isto se deve a impossibilidade de realização dos experimentos dentro de períodos exatos em dias.

Para a estimativa da massa total de dióxido de carbono emitida por cada grama de amostra de solo levou-se em consideração o volume do frasco, da água e do solo, além de sua massa.

Ou seja, com o volume efetivo do frasco (descontando-se o volume ocupado pela água e pelas partículas de solo), em cada tempo pôde ser calculada a massa total média de dióxido de carbono em seu interior. De posse deste valor, um cálculo simples pôde ser realizado para a razão em massa de carbono emitida por grama de solo incubado. Estes valores são apresentados na TABELA 3.

TABELA 3 – Massas de dióxido de carbono e suas razões por grama de solo bruto, calculadas no diversos períodos de tempo.

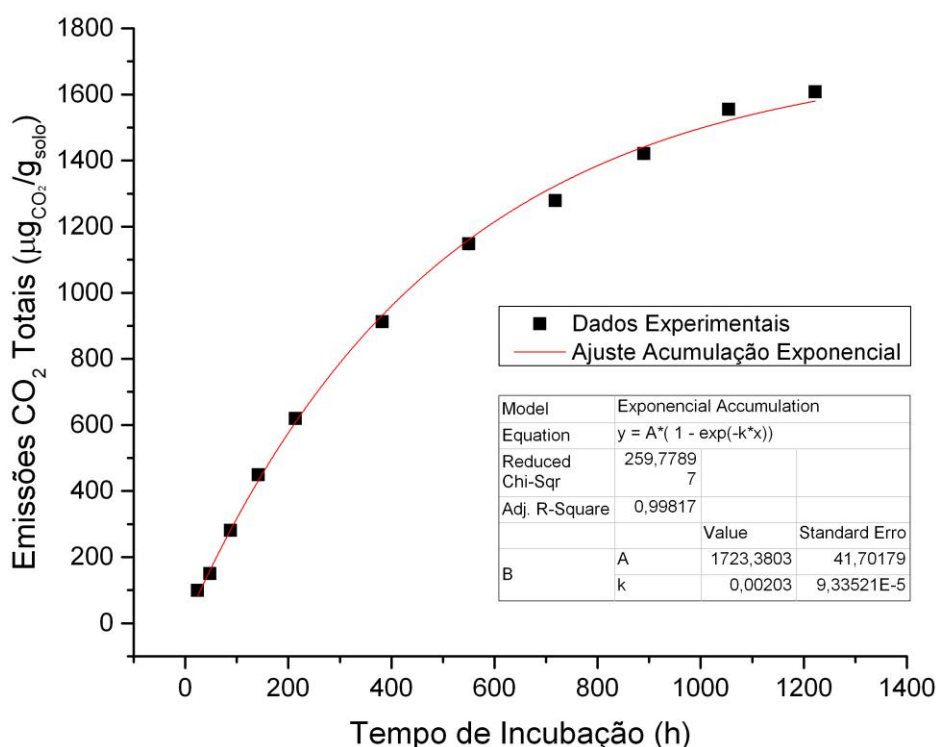
| <b>No período<br/>(horas)</b> | <b>Massa CO<sub>2</sub> (mg)</b> | <b>Erro da massa<br/>de CO<sub>2</sub> (mg)</b> | <b>Razão massa<br/>CO<sub>2</sub> por massa<br/>de solo seco<br/>(µg/g)</b> | <b>Erro da<br/>concentração CO<sub>2</sub><br/>(µg/g)</b> |
|-------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| <b>0 a 24</b>                 | 7,84016                          | 0,53307                                         | 99,24256                                                                    | 0,54232                                                   |
| <b>24 a 48</b>                | 3,99292                          | 0,4498                                          | 50,5433                                                                     | 0,45266                                                   |
| <b>48 a 88</b>                | 10,36529                         | 0,61855                                         | 131,20619                                                                   | 0,63245                                                   |
| <b>88 a 142</b>               | 13,29026                         | 0,809                                           | 168,23109                                                                   | 0,82648                                                   |
| <b>142 a 214</b>              | 13,44152                         | 0,78738                                         | 170,14584                                                                   | 0,80574                                                   |
| <b>214 a 382</b>              | 23,14584                         | 1,22865                                         | 292,98526                                                                   | 1,26344                                                   |
| <b>382 a 550</b>              | 18,5771                          | 0,92786                                         | 235,15317                                                                   | 0,95748                                                   |
| <b>550 a 718</b>              | 10,39712                         | 0,65268                                         | 131,6091                                                                    | 0,66595                                                   |
| <b>719 a 890</b>              | 11,23311                         | 0,63014                                         | 142,19124                                                                   | 0,64614                                                   |
| <b>890 a 1054</b>             | 10,53483                         | 0,65213                                         | 133,35227                                                                   | 0,66576                                                   |
| <b>1054 a 1222</b>            | 4,18215                          | 0,48948                                         | 52,93867                                                                    | 0,49236                                                   |

Assim, pudemos com estes resultados construir um gráfico para avaliar a emissão de dióxido de carbono total para cada tempo de incubação. Para tanto foram somadas as massas emitidas em cada período de tempo.

Um perfil de acumulação com amortecimento exponencial foi o esperado. Neste tipo de perfil, um valor máximo é atingido após um período de tempo, sendo o crescimento reduzido exponencialmente.

Esta consideração é válida ao imaginarmos a emissão de dióxido de carbono como diretamente relacionada ao metabolismo de degradação de matéria orgânica por micro-organismos.

FIGURA 9 – Gráfico das emissões totais de dióxido de carbono por período de tempo.



Pode ser observado claramente o padrão esperado no gráfico gerado. O coeficiente de determinação em valor muito próximo de 1 comprova o atendimento ao perfil proposto.

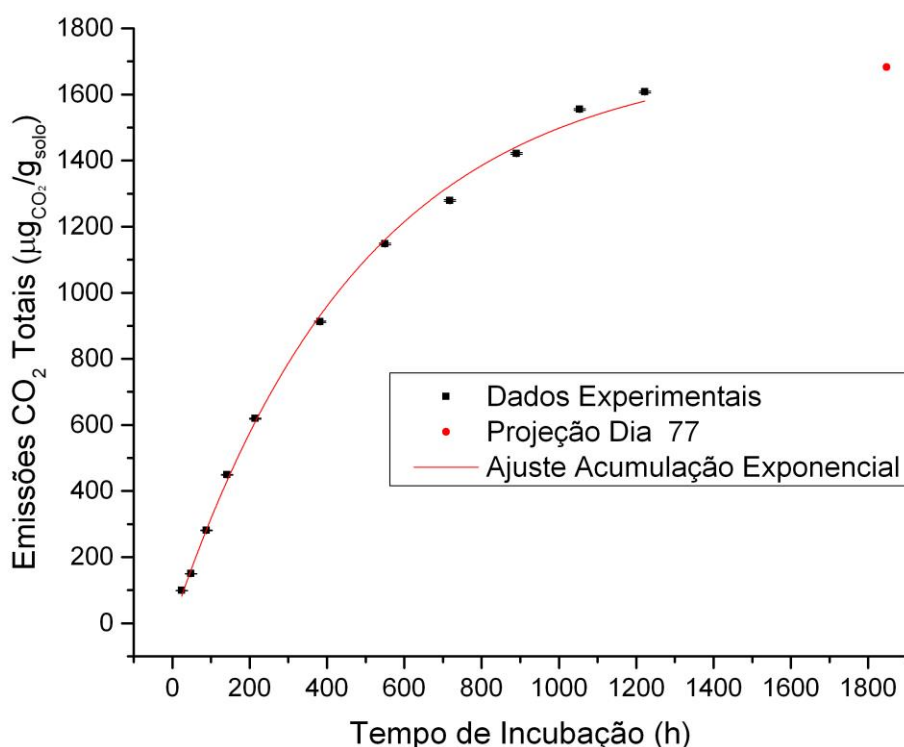
Porém, o tempo de análise não foi o suficiente para a estabilização do acumulado das emissões. Na realidade, a estabilização total desta matéria orgânica mais lábil seria alcançada somente em tempos infinitos e apenas uma estabilização relativa poderia ser observada, ou seja, uma variação muito pequena nos acumulados de emissões.

Esta estabilização relativa seria alcançada poucas semanas após o último dado deste gráfico. Autores<sup>[19][20][21]</sup> apontam tempos de estabilização relativa próximos aos 80 dias em estudos similares de incubação.

O planejamento do experimento previu a obtenção de dados até aproximadamente este ponto. Mas, devido à quebra de um acessório do equipamento, os dados foram obtidos até o quinquagésimo segundo dia de incubação. Na FIGURA 10 é

apresentado um gráfico onde o ponto final de análise planejado inicialmente foi projetado, a partir do modelo ajustado para os dados obtidos.

FIGURA 10 – Gráfico das emissões totais de dióxido de carbono, adicionada de projeção para o dia 77 de incubação, por período de tempo.



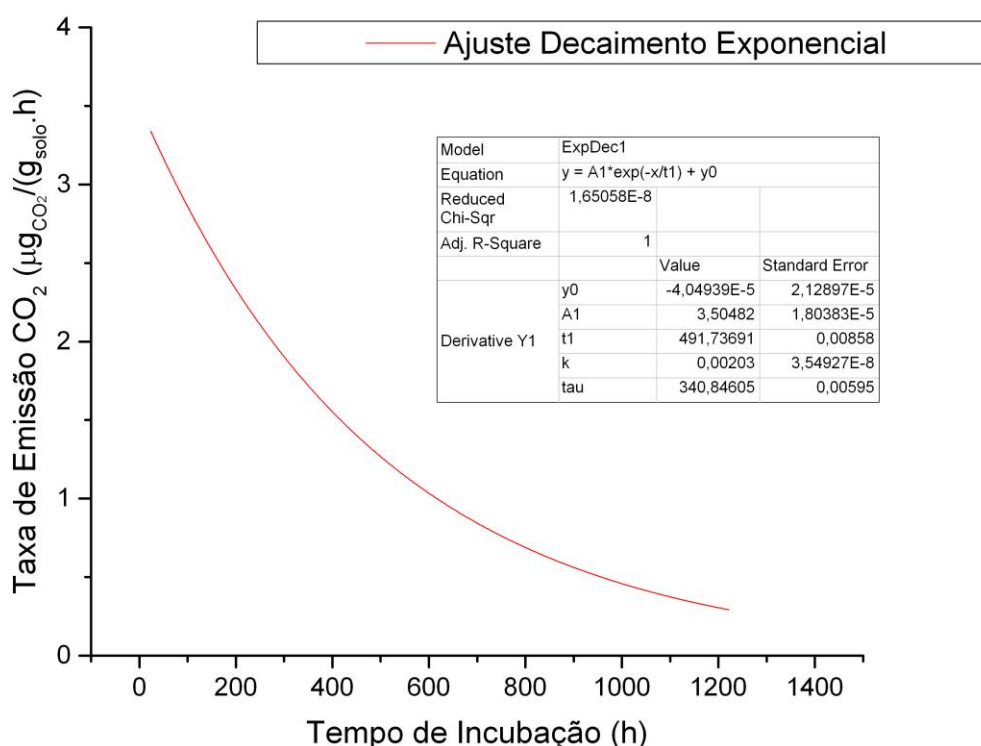
Os dados sugerem que após um tempo infinitamente grande a massa de dióxido de carbono liberado seria de aproximadamente 1,7mg por grama de solo bruto. Este valor é também condizente em grandeza com as referências citadas anteriormente, para o tempo de estabilização<sup>[19][20][21]</sup>.

É interessante também a estimativa da variação desta emissão em relação ao tempo, ou seja, a taxa de emissão de dióxido de carbono. Para tanto, uma simples derivação em relação ao tempo do modelo de acumulação foi necessária.

O perfil esperado para taxa de emissão era o de um decaimento exponencial. Do mesmo modo do perfil esperado para acumulação, este pode ser explicado caso imaginemos as emissões de dióxido de carbono como parte do ciclo metabólico de micro-organismos.

Em um primeiro momento, quando há alta degradação de matéria orgânica fresca, também há altas taxas de emissão de dióxido de carbono. À medida que este processo se torna mais escasso, diminuir-se-á a taxa de emissão. Chegará o ponto onde não será emitido dióxido de carbono por este tipo de mecanismo.

FIGURA 11 – Gráfico das taxas de emissão de dióxido de carbono por período de tempo.



Pode ser observado novamente o padrão esperado no novo gráfico gerado. O coeficiente de determinação em valor muito próximo de 1 comprova o atendimento ao perfil esperado mais uma vez.

#### 4.4 Análise Elementar CHN

A análise elementar é amplamente utilizada para caracterização dos elementos formadores de solos. Com os dados de análise elementar não é possível chegar à fórmula molecular de quaisquer moléculas presentes, mas a informações valiosas de sua composição geral, além de estimativas quanto ao grau de humificação da matéria orgânica.

Relações atômicas como C/N, C/O e C/H são utilizados como indicadores de aromaticidade e nível de decomposição de materiais orgânicos em matrizes complexas, sendo facilmente obtidos por análise elementar<sup>[22]</sup>.

Em especial, a relação C/N é capaz de fornecer previsão da taxa de decomposição de matéria orgânica. Isto se deve ao fato de que o carbono é mais rapidamente consumido por micro-organismos em relação ao nitrogênio. Assim, a relação C/N tende a diminuir conforme o processo segue e pode ser relacionado à emissão resultante desta decomposição<sup>[22]</sup>.

Os resultados das análises para todos os períodos de coleta são os apresentados na FIGURA 12, 13 e 14. Vale ressaltar que para as análises elementares CHN incluem-se os tempos de coleta zero e referente ao dia 77, os quais não são incluídos nas análises de FTIR.

FIGURA 12 – Frações elementares de carbono por período de tempo.

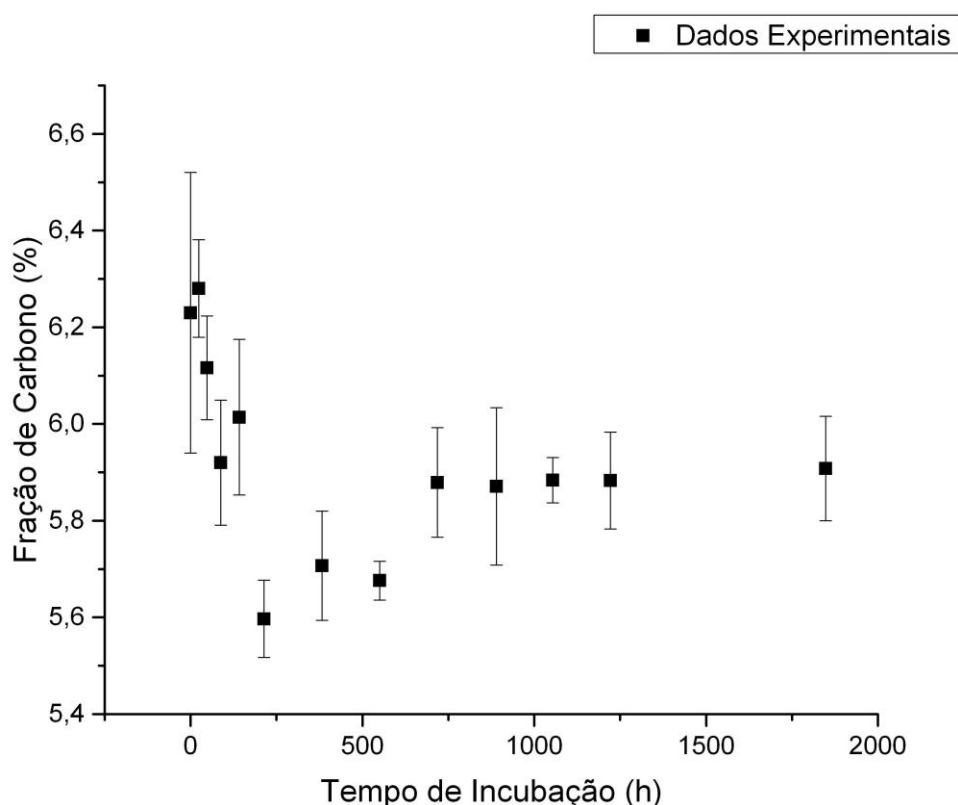


FIGURA 13 – Frações elementares de hidrogênio por período de tempo.

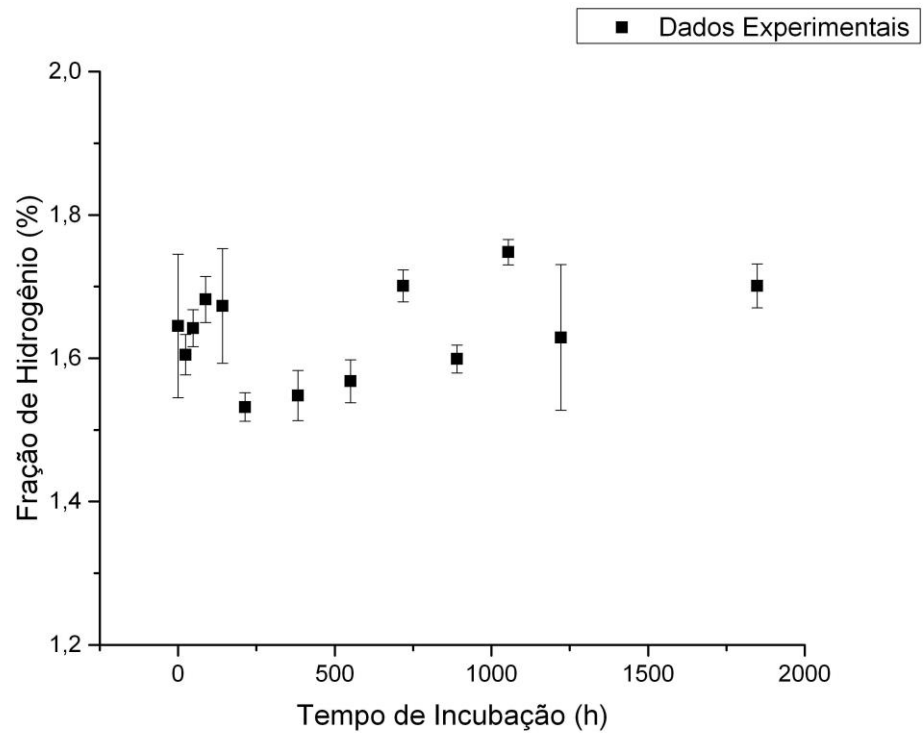
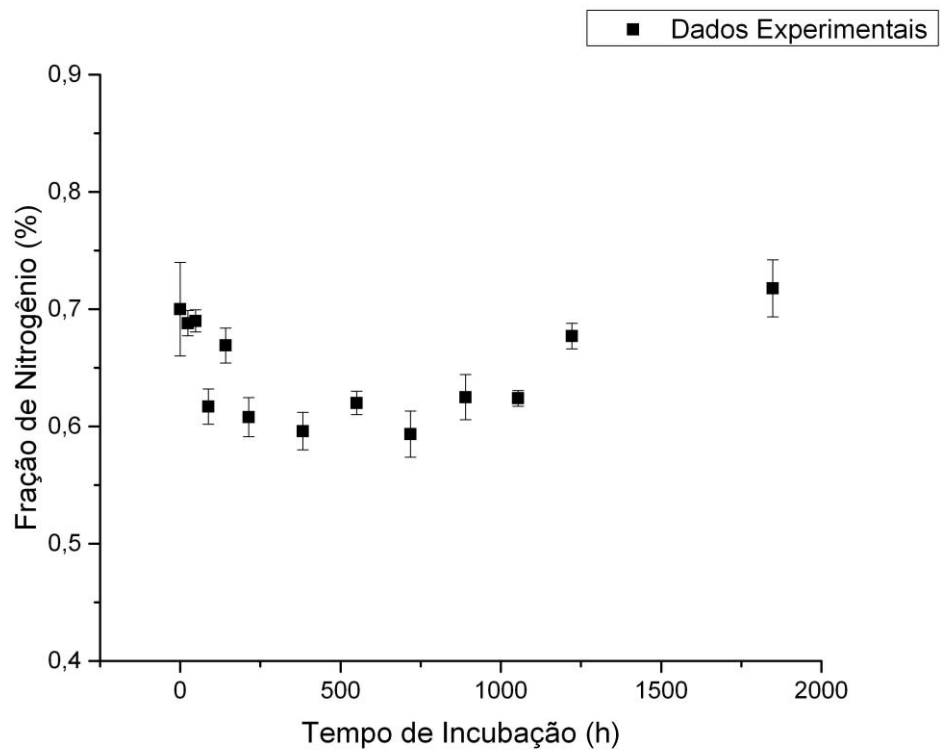


FIGURA 14 – Frações elementares de nitrogênio por período de tempo.

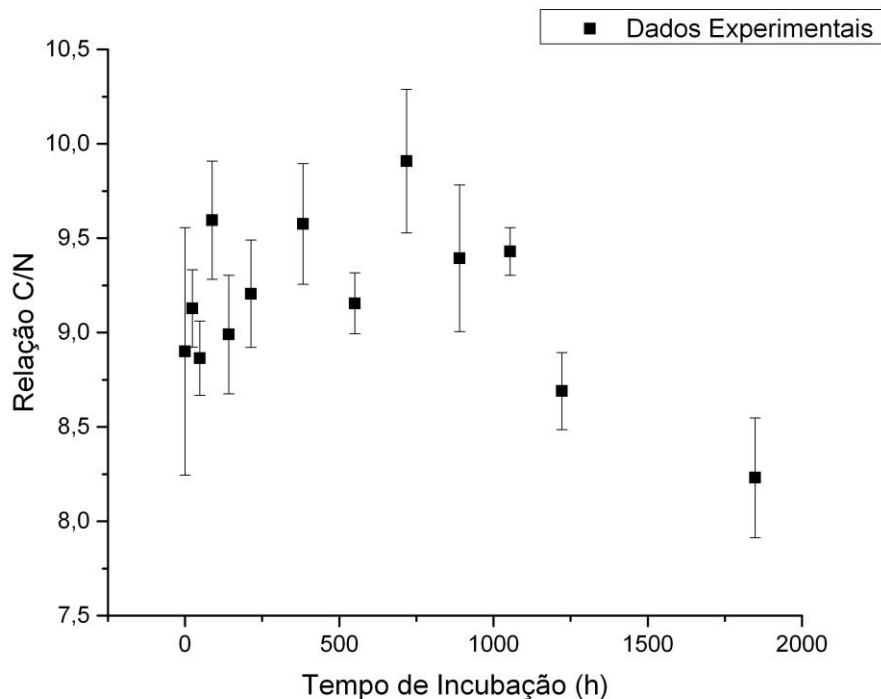


Como pode ser observado, os teores de nitrogênio e hidrogênio são muito próximos à constante, enquanto os teores de carbono diminuem conforme o tempo em um padrão próximo ao decaimento exponencial. Assim, pode se supor uma relação direta entre as emissões de dióxido de carbono e a composição elementar do solo.

Os níveis de carbono são condizentes a áreas de mata virgem e florestas. Nestes sítios, os teores de carbono se encontram na faixa entre 5 e 6%, delineando um perfil onde há grande quantidade de matéria orgânica presente. Em regiões de cultivo, raramente estes teores ultrapassam os 3%<sup>[6]</sup>. Além da região, o fato da amostragem ser realizada apenas com a fração superior do solo pode explicar os elevados teores. Nesta fração há maior presença de matéria orgânica fresca e atividade de organismos.

Visto os teores de carbono e nitrogênio, a razão C/N (apresentada no gráfico a seguir) apresenta um ligeiro decréscimo quando um modelo linear é criado a partir dos dados experimentais. Este é o primeiro indicativo do maior grau de humificação da matéria orgânica presente no solo.

FIGURA 15 – Relação C/N por período de tempo.



De um modo geral, os perfis tanto dos elementos, quanto da relação C/N, são ruidosos e os erros padrões da média dos dados são relativamente grandes. Isto pode ser explicado pela complexidade quanto à homogeneização dos solos. Cada parcela de análise, apesar de todos os esforços, poderia ser ligeiramente diferente das demais em sua composição elementar. Entretanto, os padrões podem ser observados e, com a devida confirmação, nos fornecer dados valiosos.

#### **4.5 Grau de Humificação a Partir de FIL**

Muitos sistemas químicos podem ser excitados por radiação eletromagnética e reemití-la no mesmo ou em comprimentos de onda distintos. Estes sistemas são chamados de fotoluminescentes, dos quais se destacam os fluorescentes.

A fluorescência molecular consiste no processo onde ocorre a emissão de fótons quando um elétron excitado volta ao seu estado fundamental. Pode ocorrer em sistemas tanto simples quanto complexos, em matrizes gasosas, líquidas ou sólidas. Porém, devido à perda de energia para a vibração ou conversão para sistemas vizinhos, o comprimento de onda emitido é geralmente maior que o de excitação<sup>[22]</sup>.

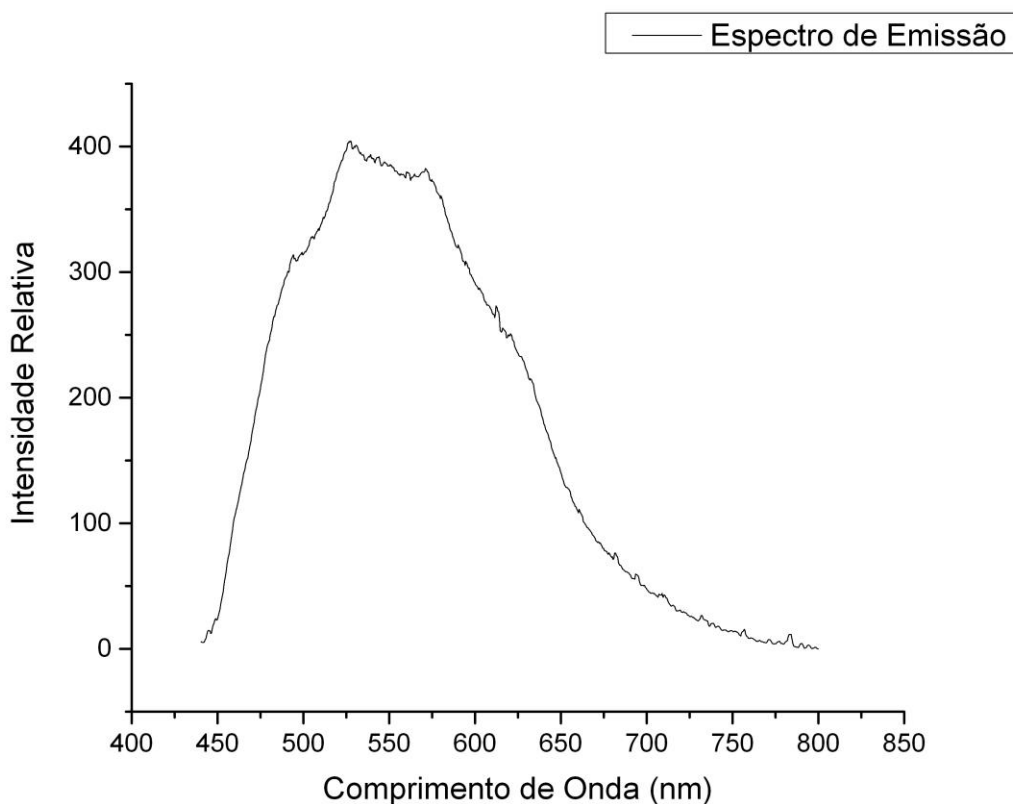
No caso de componentes do solo, o aumento do tamanho molecular interfere na intensidade e deslocamento da fluorescência, sendo que em compostos maiores há maior tendência ao deslocamento para o vermelho<sup>[24]</sup>. Assim como a extensão de sistemas eletrônicos pi de anéis aromáticos, em reflexo ao tipo e o número de substituintes dos mesmos.

Visto que os solos são uma mistura complexa de componentes com potencial fluoróforo, o seu perfil de emissão fluorescente depende de vários fatores independentes, sendo este uma soma do perfil individual de cada molécula passível de fluorescência. Nas substâncias húmicas, os principais fluoróforos presentes são sistemas de alto grau de conjugação, como anéis aromáticos e grupos quinona.

Dentre as diversas formas de fluorescência, destaca-se a técnica de FIL, fluorescência induzida a laser, na qual não há a necessidade de fracionamento ou extração dos fluoróforos do solo, sendo possível a análise em amostra bruta.

O padrão de fluorescência para os solos após a incubação é o apresentado na FIGURA 16.

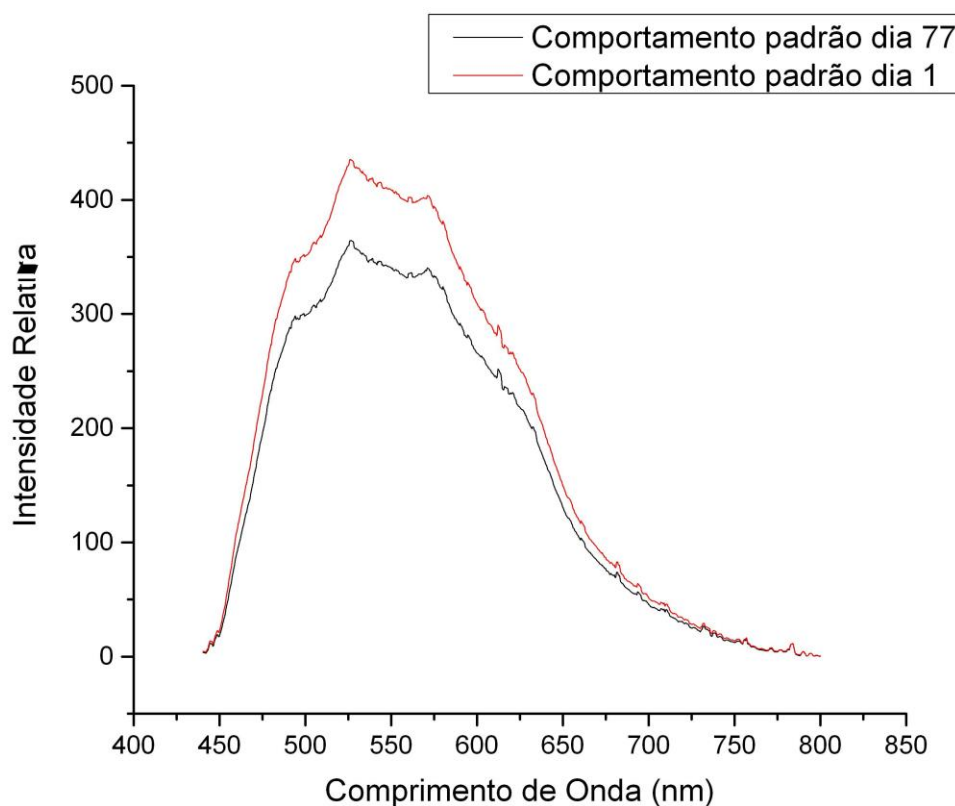
FIGURA 16 – Perfil de espectro de emissão de fluorescência para amostra de solo após incubação, sob excitação de 405nm.



Pode ser observado um padrão com ombros e picos locais o que indica a composição de mais de um fluoróforo atuando em conjunto, sendo o de maior intensidade em 526–527nm, semelhantes aos valores encontrados por outros autores<sup>[11]</sup>. Caso houvesse alguma mudança drástica na composição do meio, algum destes perfis de ombros ou picos se deslocaria.

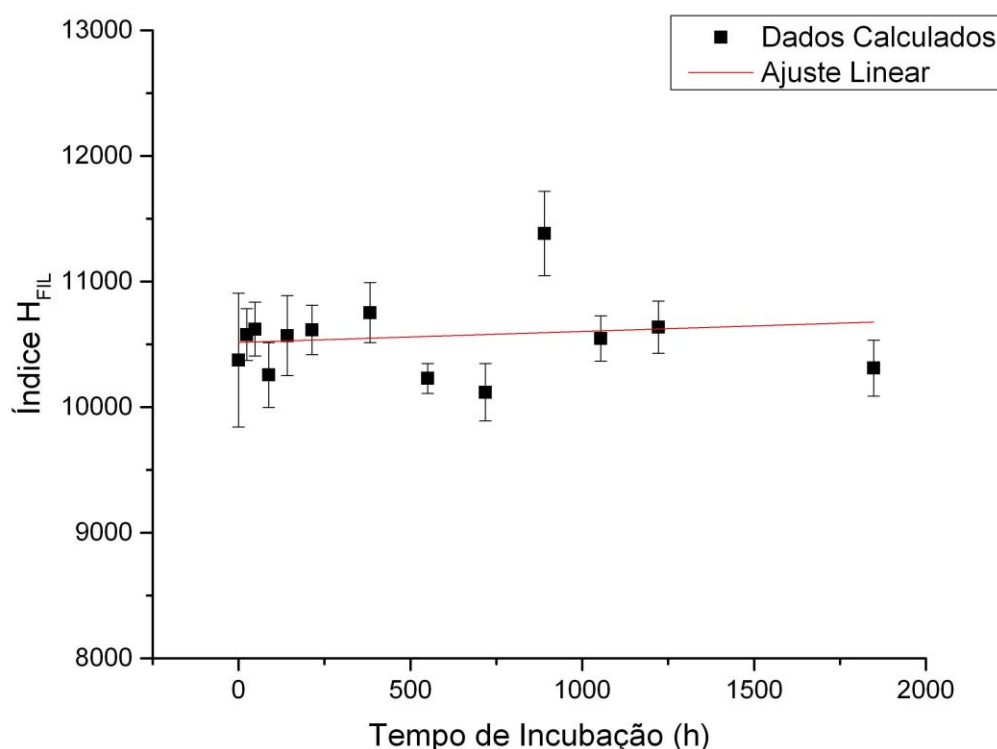
Mas, se considerarmos o tempo de incubação, não há deslocamento nítido ou variação do perfil de fluorescência, o que pode indicar que o perfil de fluoróforos que gera esta emissão permanece semelhante. Se considerarmos o comprimento de excitação utilizado (capaz de interagir com as parcelas mais humificadas dos solos), há um indicativo de que a matéria orgânica degradada é a de menor grau de humificação, ou seja, a mais lábil e fresca.

FIGURA 17 – Comparação entre os perfis de espectros de emissão de fluorescência para solos incubados no primeiro e no septuagésimo sétimo dia, sob excitação de 405nm.



Apesar destes perfis de emissão, é possível propor a fluorescência como parâmetro para estudar processos de humificação. A proposta de cálculo para um índice de humificação ( $H_{FIL}$ ) é a razão entre a área de fluorescência nos espectros de emissão e o valor de carbono total presente no solo, este último como normatizador.

Vale ressaltar que para as análises de FIL e do grau de humificação  $H_{FIL}$  incluem-se os tempos de coleta zero e referente ao dia 77, os quais não são incluídos nas análises de FTIR.

FIGURA 18 – Índice de humificação  $H_{FIL}$  por período de tempo.

O modelo linear ajustado para os dados calculados nos supõe um leve acréscimo no índice  $H_{FIL}$ . Apesar de este acréscimo ser pequeno para sozinho sugerir uma humificação real, os dados quanto à relação C/N corroboram o fato.

Os dados, então, nos levam a crer que, juntamente da emissão de dióxido de carbono, os micro-organismos transformam a matéria orgânica presente para situações de maior índice de humificação durante seus metabolismos, na forma de conjugações e incorporações nos componentes dos solos. Entretanto, estas modificações ocorrem em nível muito pequeno, sendo um tempo de experimento maior necessário para, em longo prazo, variações nítidas neste índice e no perfil de emissão serem observadas.

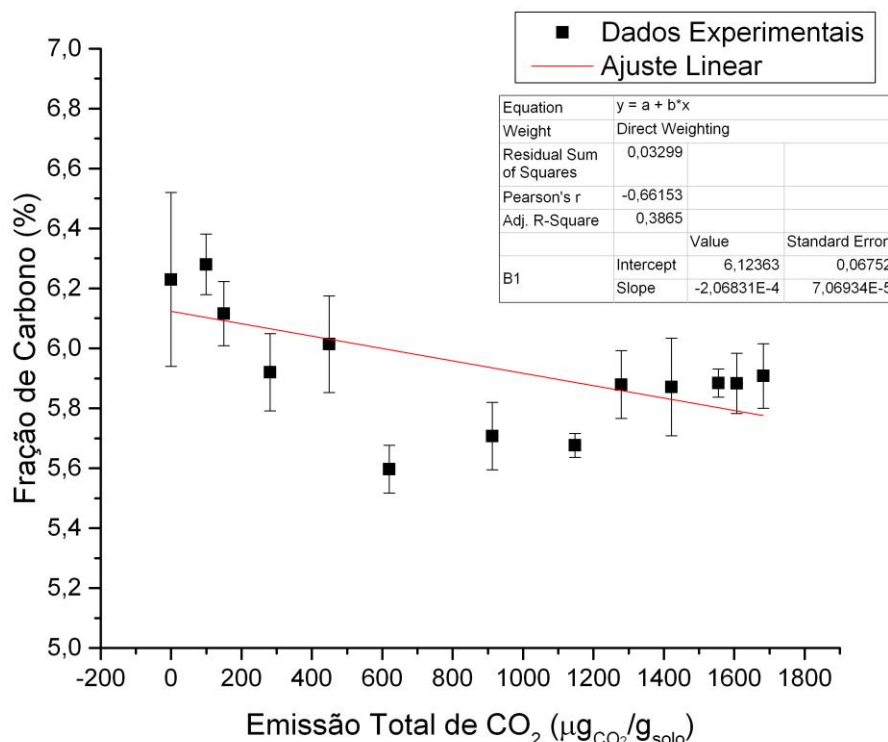
## 4.6 Relações entre o $H_{FIL}$ calculado, emissões de carbono e composição elementar

É interessante também avaliar as relações entre todos os parâmetros analisados, a fim de encontrar tendências e comportamentos entre estes fatores. Para tanto foram construídos gráficos correlacionando a emissão de dióxido de carbono e sua taxa de emissão com os graus de humificação e a composição elementar.

### 4.6.1 $CO_2$ X Composição Elementar

Para esta relação, é esperada uma relação linear entre as emissões totais de carbono e a composição elementar do solo em relação também ao carbono. Ora, se o carbono emitido é o mesmo que abandona o solo, esta é uma dedução lógica. Assim, foi ajustada uma reta correlacionando estes dois fatores, a partir dos dados experimentais.

FIGURA 19 – Relação entre a fração elementar de carbono pela emissão total de dióxido de carbono.

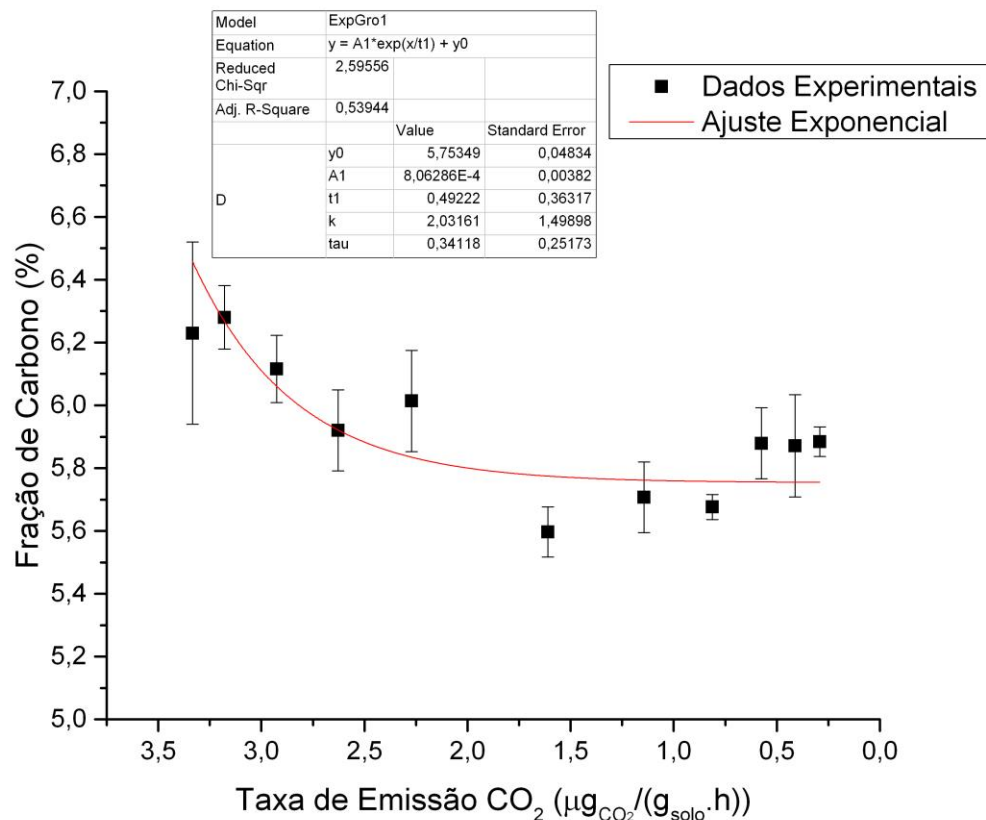


Pode ser observado um padrão de decaimento, sendo que a cada 1000µg de carbono emitido há um decréscimo de aproximadamente 0,2% na fração de carbono para este solo. Porém, este padrão não deve ser assumido até o final do processo.

Se a emissão de dióxido de carbono está relacionada à atividade de micro-organismos, haverá um ponto a partir do qual ocorrerá a estabilização na fração de carbono no solo.

Do mesmo modo, foram relacionados à taxa de emissão e a composição elementar em relação ao carbono. Porém, neste caso a relação esperada é exponencial. Ou seja, quando maior a taxa de emissão, mais rápido deve ser o decaimento na fração de carbono dos solos.

FIGURA 20 – Relação entre a fração elementar de carbono pela taxa de emissão de dióxido de carbono.



O padrão esperado pode ser observado. No modelo criado a partir dos dados experimentais pode-se supor uma fração mínima de carbono, a partir da qual não haveria mais emissões para esta fase de degradação, quando em 5,75% do solo. Este ponto pode ser assumido como ponto de estabilização para a relação anterior.

Sabe-se que em situações reais, não há limite inferior para fração de carbono nos solos. Porém, há diversos mecanismos que podem influenciar em sua estabilidade, como discutidos anteriormente. Assim, estes modelos, por apresentar um limite

inferior, podem estar relacionados somente à recalcitrância, ou seja, na capacidade de decomposição da matéria orgânica por micro-organismos do solo. Esta idéia é válida, se imaginarmos que em certo ponto o carbono presente estará em formas não metabolizáveis.

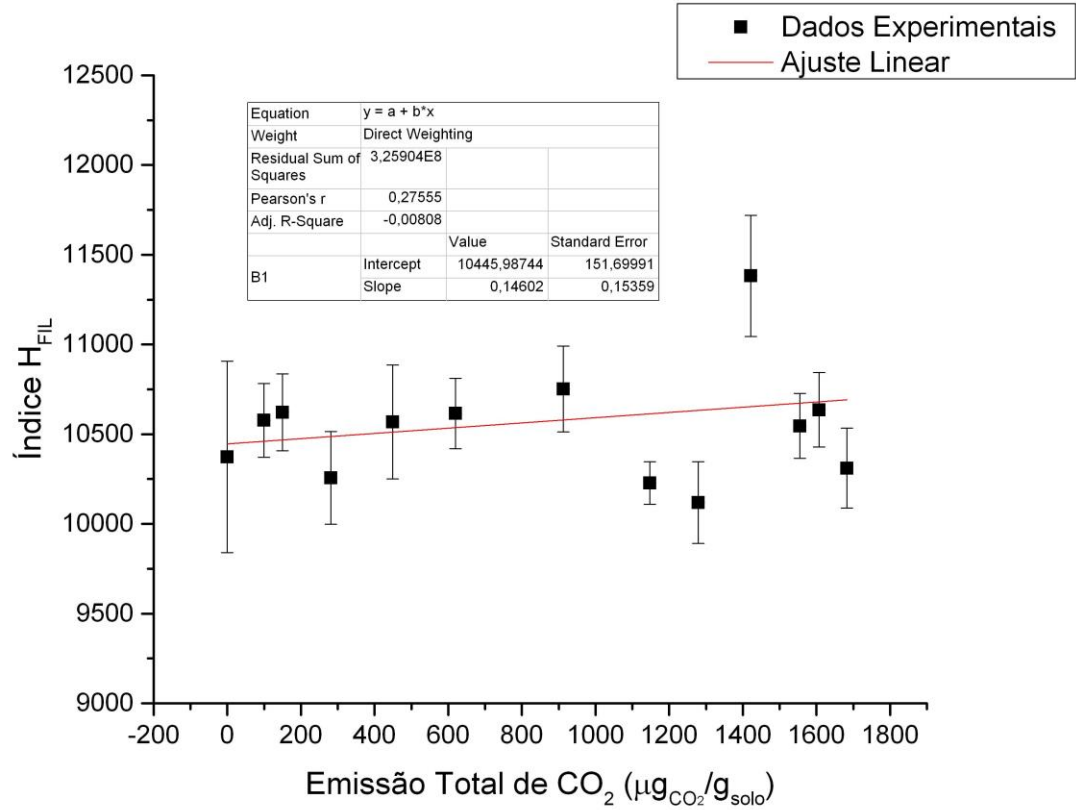
Novamente, a dificuldade de homogeneização do solo pode ter contribuído para a variação não esperada das frações elementares do solo, gerando os erros também nestas relações. Os valores reais podem ser ligeiramente diferentes, mas o padrão é válido.

#### **4.6.2 $\text{CO}_2 \times H_{\text{FIL}}$**

Para estas relações, é esperada uma relação de acréscimo entre a emissão total de carbono e o grau de humificação  $H_{\text{FIL}}$ . O metabolismo de micro-organismos aumenta a complexidade dos componentes do solo, sendo mineralizando compostos de fácil degradação, sendo sintetizando metabólitos essenciais à sua vida.

Mas como discutido anteriormente, no tempo estipulado para este experimento, a variação no índice  $H_{\text{FIL}}$  criada a partir dos dados experimentais é muito pequena. Assim, é de difícil interpretação o padrão para a relação entre estes dois fatores. Portanto, foi assumida uma relação linear entre a emissão total de dióxido de carbono e o grau de humificação a partir do índice  $H_{\text{FIL}}$ , por sua simplicidade de observação.

FIGURA 21 – Relação entre o índice de humificação  $H_{FIL}$  pela emissão total de dióxido de carbono.



No modelo proposto, é observado um leve acréscimo no grau de humificação. Porém, como discutido, experimentos de longo prazo devem ser realizados para compreensão do melhor modelo a ser utilizado.

## 5 CONCLUSÃO

Este trabalho obteve sucesso no cumprimento de seu objetivo primário: foram verificados os padrões de emissão de dióxido de carbono por solos, e de sua taxa, nos períodos de tempo estipulados; foram encontrados indicativos da humificação da matéria orgânica presente nestes mesmos solos; e puderam-se supor relações entre estes fatores.

Quanto às emissões de dióxido de carbono, os resultados obtidos estão de acordo com as previsões propostas e em mesmo nível de grandeza que experimentos similares de incubação. Visto as características do planejamento experimental, conclui-se que estas emissões estão diretamente relacionadas ao metabolismo dos micro-organismos presentes nos solos.

O grau de humificação da matéria orgânica, apesar de acréscimo pequeno no decorrer do tempo de estudo, pode ser evidenciado por duas metodologias distintas. O tempo, portanto, se torna crucial para uma melhor visualização destes efeitos, sendo este experimento curto para acompanhar variações maiores nos índices de humificação.

Com os dados em mãos, relações entre os quesitos analisados puderam ser traçadas. As relações entre emissão de dióxido de carbono e a fração elementar de carbono no solo seguiram os padrões esperados de comportamento, comprovando a relação de transporte do carbono dos solos para a atmosfera do frasco incubador. Já a relação entre as emissões de dióxido de carbono e o grau de humificação não são tão explícitas, provavelmente devido à pequena variação do índice  $H_{FIL}$ .

As condições de preparação e armazenamento do incubador demonstraram ser ideais para a metodologia utilizada. Assim, podem caber novos estudos avaliando a interferência destas condições no andamento da emissão de gases. Fatores tanto físicos (temperatura, luminosidade, umidade, granulometria), químicos (nutrientes, pH), biológicos (cobertura verde, microrganismo dominante), quanto procedimento (amostragem, metodologia de preparação) podem ser estudados.

Quanto ao objetivo secundário, as dificuldades e sucessos deste trabalho podem se tornar motivações para estudos posteriores. O tempo demonstrou ser o maior

empecilho, sendo que próximos estudos devem ser planejados com prazos maiores de análise.

Por fim, o estudo deste solo é somente um passo para a criação de um modelo que possa projetar o comportamento dos solos tipicamente brasileiros. Mais áreas, analisadas no máximo de fatores possíveis, podem enfim criar a base necessária para seu desenvolvimento.

## 6 REFERÊNCIAS

- [1] – IPCC. Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 1535 pp
- [2] - BAIRD, Colin. Química Ambiental; trad. Maria Angeles Lobo Recio; Luiz Carlos Marques Carrera. Edição 5. Porto Alegre: Bookman, 2011.
- [3] - KHASNIS, Atul A. et al. Global Warming and Infectious Disease. Archives of Medical Research , Volume 36 , Edição 6 , 689 - 696. 2005.
- [4] KILLHAM, Ken. Soil Ecology. Edição 3. Cambridge: Cambridge University Press, 1996.
- [5] - SOLLINS, Phillip et al. Stabilization and destabilization of soil organic matter: mechanisms and controls. Geoderma, Volume 74, Edições 1-2, 65 - 105. 1996.
- [6] - MARTINS, Márcio R. Plantas na agregação e no acúmulo de carbono orgânico em latossolo. 2012. Tese Doutorado em Agronomia – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP.
- [7] UNIVERSITY OF SYDNEY. Managing the soil-plant system to mitigate atmospheric CO<sub>2</sub>. Sydney, 2011. 55p.
- [8] EMBRAPA – PECUÁRIA SUDESTE. Condições meteorológicas – Estação da Embrapa Pecuária Sudeste. Aba: Caracterização. São Carlos. Disponível em <<http://www.cppse.embrapa.br/meteorologia/index.php?pg=caracterizacao>>. Acesso em junho de 2015.
- [9] EMBRAPA – CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SOLOS. Manual de métodos de análise de solo. 2ª ed. rev. atual. – Rio de Janeiro, 1997.
- [10] EMBRAPA - INSTRUMENTAÇÃO. Comunicado Técnico 60 - Programa para Estimativa Indireta da Curva de Retenção da Água no Solo. São Carlos, 2004. 3p.
- [11] TADINI, Amanda. Caracterização das substâncias húmicas extraídas de solos da região amazônica. Tese (Doutorado) – Embrapa – Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Instrumentação Agropecuária. São Carlos, 2015.
- [12] SEGNINE, Aline; MILORI, Débora *et al.* Spectroscopic Assessment of Soil Organic Matter in Wetlands from the High Andes. Soil Science Society of America Journal, Vol. 74 no. 6.

- [13] REIS, T. C.; RODELLA, A. A. Cinética de degradação da matéria orgânica e variação do pH do solo sob diferentes temperaturas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, vol. 26, núm. 3, 2002. p 619-626.
- [14] LOPES, Nilva Pereira; QUEIROZ, Maria Eliana L. R.; NEVES, A. A.; ZAMBOLIM, L. Influência da matéria orgânica na adsorção do fungicida triadimenol pelo solo. *Quím. Nova*, vol.25, n.4, 2002. p. 544-547.
- [15] JÚNIOR, N. R. S. *et al.* Incubação de solo com o fornecimento de cálcio e magnésio na proporção 4:1 a fim de elevar o pH natural para 6,2-6,3. Alta Floresta, Universidade Estadual de Mato Grosso. 2009, 2p. (Relatório Técnico).
- [16] VEIMEHYER, F.J. & HENDRICKSON, A.H. The moisture equivalent as a measure of the field capacity of soils. *Soil Science* 32, 1931. p181-193.
- [17] DUNLAP; MADIGAN; MARTINKO. *Microbiologia de Brock*. 12ª Ed. Editora: Artmed. 2010.
- [18] SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A.. *Principles of Instrumental Analysis*, Harcourt College Publishers, 1984.
- [19] SCHENDENMANN, L.; PENDALL, E.; POTVIN, C. Surface soil organic carbon pool, mineralization rates and CO<sub>2</sub> efflux under different land-use types in Central Panama. Springer, Berlin Heidelberg. Nova York, 2003, p 109-131.
- [20] ZHANG, X.H.; LI, L.Q.; PAN, G.X. Topsoil organic carbon mineralization and CO<sub>2</sub> evolution of three paddy soils from South China and the temperature dependence. *Journal of Environmental Sciences* 19, 2007. p 319–326.
- [21] WANG, G.; ZHOU, Y.; XU, X.; RUAN, H.; WANG, J. Temperature Sensitivity of Soil Organic Carbon Mineralization along an Elevation Gradient in the Wuyi Mountains, China. *PLoS ONE*, 8(1), e53914. 2011.
- [22] FAVORETTO, Célia Mara. Caracterização da matéria orgânica humificada de um latossolo vermelho distrófico através da espectroscopia de fluorescência induzida por laser. Tese (Mestrado) – Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, 2007.