

CRISTIANE PEREIRA DE ASSIS

**CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DA MATÉRIA ORGÂNICA DE
LATOSSOLOS HÚMICOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do Programa de
Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para
obtenção do título de “*Doctor Scientiae*”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

BIOGRAFIA

CRISTIANE PEREIRA DE ASSIS, filha de Vandor Francisco de Assis e Luzenir Pereira de Assis, nascida na primavera de 30 de setembro de 1979, na cidade de Alto Araguaia, Estado do Mato Grosso. cursou o 1º e 2º graus em Alto Garças, Estado do Mato Grosso. Em 1997, ingressou no curso de Agronomia, na Universidade Federal de Viçosa, Estado de Minas Gerais, graduando-se em maio de 2002. Em fevereiro de 2004, obteve o título de *Magister Scientiae* em Solos e Nutrição de Plantas pela mesma instituição. Em abril de 2004 ingressou no curso de Doutorado no mesmo programa de pós-graduação, vindo a defender o título de *Doctor Scientiae* nesta ocasião.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| RESUMO | 4 |
| ABSTRACT | 6 |
| INTRODUÇÃO GERAL..... | 8 |
| I - Influência da correção da acidez, adubação fosfatada e adição de carbono lábil na matéria orgânica de um Latossolo Vermelho-Amarelo Húmico..... | 10 |
| RESUMO | 10 |
| SUMMARY | 11 |
| 1 – INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 - MATERIAL E MÉTODOS | 13 |
| 3 - RESULTADOS..... | 15 |
| 4 - DISCUSSÃO | 21 |
| 4 - CONCLUSÕES | 24 |
| 5 – AGRADECIMENTOS | 24 |
| 6 - REFERÊNCIAS CITADAS | 24 |
| II - Content and molecular composition of total lipids extracts under pasture and coffee land use in a subtropical humic Latosol | 28 |
| ABSTRACT | 28 |
| RESUMO | 29 |
| 1. INTRODUCTION..... | 30 |
| 2. MATERIALS AND METHODS | 31 |
| 3. RESULTS AND DISCUSSION | 33 |
| 4. CONCLUSIONS..... | 40 |
| 5. ACKNOWLEDGEMENTS | 41 |
| 6. REFERENCES..... | 41 |
| III - Caracterização de Ácidos Húmicos e Fúlvicos em Horizontes A Húmicos de Latossolos de Minas Gerais..... | 44 |
| RESUMO | 44 |
| SUMMARY | 45 |
| 1 - INTRODUÇÃO | 46 |
| 2 – MATERIAL E MÉTODOS..... | 47 |
| 3 – RESULTADOS..... | 50 |
| 4 – DISCUSSÃO..... | 57 |
| 4 – CONCLUSÕES..... | 60 |
| 5 - AGRADECIMENTOS | 60 |
| 6 - REFERÊNCIAS CITADAS | 61 |
| IV - Dessorção e Pirólise de Ácidos Húmicos e Fúlvicos extraídos de um Latossolo Vermelho-Amarelo húmico sob café e pastagem na Zona da Mata Mineira..... | 64 |
| RESUMO | 64 |
| SUMMARY | 65 |
| 1 - INTRODUÇÃO | 66 |
| 2 - EXPERIMENTAL | 67 |
| 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO | 69 |
| 4 – CONCLUSÕES..... | 82 |
| 5 - AGRADECIMENTOS | 82 |
| 6 - REFERÊNCIAS CITADAS | 82 |
| CONCLUSÕES GERAIS..... | 85 |

RESUMO

ASSIS, Cristiane Pereira de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2008.
Caracterização estrutural da matéria orgânica de Latossolos Húmicos. Orientador: Ivo Jucksch. Co-orientadores: Eduardo de Sá Mendonça e Julio César Lima Neves.

Este estudo teve por objetivo principal contribuir na elucidação de vários aspectos relacionados com o comportamento da matéria orgânica (MO) em solos altamente intemperizados. Foram coletadas seis amostras de Latossolos com horizonte A húmicos em três regiões de Minas Gerais: i) Sericita, (sob café, pastagem, samambaias e fragmento de Mata Atlântica); ii) Mutum (sob fragmento de Mata Atlântica); e iii) Araçuaí (sob Cerrado). Amostras compostas foram obtidas para as camadas entre 0-10 e 60-100 cm de profundidade no horizonte A. Para a região de Sericita também foram coletadas amostras da serapilheira produzida sob café, pastagem e fragmento de Mata Atlântica para a análise comparativa da composição lipídica. Os lipídios (do solo e serapilheira) foram extraídos com diclometano/metanol (3:1, v/v) utilizando sistema Soxhlet e analisados por cromatografia a gás e espectrometria de massa. As amostras de solo, coletadas em todas as regiões foram ao procedimento de extração e purificação dos ácidos húmicos (AHs) e fúlvicos (AFs), os quais foram caracterizados por análise elementar; espectroscopia no UV-visível e no infravermelho (FTIR), ressonância magnética nuclear (^{13}C -RMN) e termodegradação por dessorção (280 °C) e pirólise (610 °C). Em razão da intensa utilização dos Latossolos Húmicos com cultivos de café e pastagem na região de Sericita, avaliou-se paralelamente o impacto de práticas agrícolas como calagem, adubação fosfata e adição de fontes de carbono (C) lábeis no comportamento da MO mais ativa (biomassa microbiana) e passiva (substâncias húmicas). Para tanto, foi montado um experimento em delineamento inteiramente casualizado num esquema fatorial 5x2x2, sendo cinco níveis de calagem (0; 0,5; 1; 2 e 3 vezes a quantidade necessária para elevar a saturação de bases do solo a 60%), dois níveis de adubação fosfatada (com e sem) e dois níveis de fonte de C lábil na forma de sacarose (com e sem). Foram avaliados: CO_2 acumulado durante 136 dias, carbono da biomassa (C_{mic}) e seus índices correlatos (quocientes microbiano e metabólico), C total do solo e das frações humificadas (fúlvico, húmico e humina). Os resultados indicaram que práticas agrícolas como calagem, adubações fosfatadas e adições de resíduos na forma de C-lábil alteram a dinâmica do C, no compartimento ativo e passivo. Para o compartimento passivo observou-se redução do C na fração húmica e incremento do C da fração humina com a calagem. No geral, o C da fração fúlvica tendeu a aumentar com a adição de C lábil e reduzir na presença de fosfatos. Em

1 Sericita na camada de 0-10 cm, o solo sob mata natural apresentou maior teor de lipídios que
2 o solo cultivado. Houve preservação seletiva no horizonte húmico de biopolímeros alifáticos
3 originados da serapilheira, com acúmulo entre 60-100 cm. Detectou-se também maior
4 preservação de compostos alcanos de cadeia curta em solo sob vegetação natural. A
5 composição lipídica sobre diferentes agroecossistemas permitiu avaliar mudanças
6 relacionadas com o uso da terra. As técnicas aplicadas no estudo dos AHs e AFs foram
7 eficientes para elucidar as diferenças estruturais entre essas frações, assim como suas
8 modificações no perfil do solo. Por meio do UV-visível foi possível evidenciar a contribuição
9 de pigmentos melânicos de origem fúngica como explicação do escurecimento observado em
10 subsuperfície do horizonte A húmico. Os espectros no FTIR revelaram que os AHs extraídos
11 da região de Cerrado apresentaram menor processo de descarboxilação, desidratação,
12 condensação e aromatização que aqueles extraídos em regiões de Mata Atlântica. A
13 caracterização dos AHs através do ^{13}C –RMN indicou uma rota de humificação no sentido da
14 diminuição de grupamentos alquílicos e aumentos na região de sinal do C-aromático. Os
15 resultados da termodegradação mostraram que AHs e AFs extraídos na superfície são
16 estruturalmente mais ricos que aqueles de subsuperfície e, que sob vegetação natural há maior
17 proporção de compostos nitrogenados na estrutura húmica da MO. Os resultados também
18 indicaram que o aumento no sinal do C-aromático foi devido à presença de benzenos e
19 tolueno. Detectou-se maior proporção de estruturas ricas em polissacarídeos nos AFs
20 extraídos entre 60-100 cm de profundidade, revelando importantes movimentações desses
21 ácidos no perfil. Nos primeiros 10 cm, o uso agrícola do solo promoveu reduções nos
22 compostos alifáticos e nitrogenados na estrutura dos AHs e, de compostos fenólicos, de
23 lignina, ácidos graxos e nitrogenados na estrutura dos AFs. A termodegradação por dessorção
24 e pirólise revelou que o aumento do grau de aromaticidade (~20%) verificado por ^{13}C -RMN
25 para os AHs extraídos entre 60-100 cm, correspondeu principalmente à incorporação
26 estrutural de compostos nitrogenados heterocíclicos. Os processos que conduziram a
27 estabilização estrutural envolveram acúmulos de compostos nitrogenados, aromáticos e
28 alifáticos em AHs e de compostos aromáticos e fenólicos em AFs. A característica carboxílica
29 e fenólica dos AFs os tornam componentes chaves nos processos de complexação e
30 translocação de Fe e Al nesses horizontes tropicais húmicos.

ABSTRACT

ASSIS, Cristiane Pereira de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2008. Structural **characterization of organic matter from humic Latosol (Oxisol)**. Adviser: Ivo Jucksch. Co-advisers: Eduardo de Sá Mendonça and Julio César Lima Neves.

This study has aim to contribute in the elucidation of several aspects related with the behavior of organic matter (OM) in tropical intemperized soils. Six samples of humic Latosol were collected into humic A horizon three sites of Minas Gerais: i) Sericita, (under coffee, pasture, ferns and fragment of Atlantic Forest); ii) Mutum (under fragment of Atlantic Forest); and iii) Araçuaí (under Savanna). Composed samples were obtained for the layers between 0-10 and 60-100 cm of depth in A horizon. In the Sericita's site also sampled of the litter under coffee, pasture and fragment of Atlantic Forest for it analyzes of the lipid composition. The lipids (litter and soil) were Soxhlet-extracted with dichloromethane/methanol (3:1 v/v) and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. For the soil samples, collected in all sites were procedure the extraction and purification the humic acids (HAs) and fulvic acids (FAs), which were characterized by elemental analysis; UV-visible and infrared (FTIR) spectroscopic, nuclear magnetic resonance (^{13}C -NMR) and thermal desorption (280 °C) and true pyrolysis (610 °C). In reason the intense use of humic Latosol with coffee and pasture cultivations in Sericita's site was evaluated, parallel, the impact of this agricultural practice with liming, fertilization and addition of labile sources the carbon (C) in the behavior the more active OM (microbial biomass) and passive (humic substances). The experiment was set up in all random design in a factorial 5x2x2, with five liming levels (0; 0,5; 1; 2 and 3 times the necessary amount to elevate the saturation of bases to 60%), two levels of phosphate (with and without) and two levels of labile source of C in the sucrose form (with and without). Was evaluated the CO_2 accumulated during 136 days, carbon of the biomass (C_{mic}) and their correlates indexes (microbial and metabolic quotients), total C of soil and the humic fractions (fulvic, humic and humin). The results indicated that agricultural practices as liming, phosphate fertilization and additions of residues in labile C form alter the dynamics of C, in the active and passive pool. For the passive pool decrease of C was observed in the humic fraction and increased of C of the fraction humina with the liming. In the general, C of the fulvic fraction tended to increase with the addition of labile C and to reduce in the phosphate application. Into topsoil of Sericita's site, the soil under natural forest presented larger content of lipids that the cultivated soil. There was selective preservation of aliphatic biopolymers originate of litter with accumulation among 60-100 cm. We detected larger preservation of short straight-chain

1 alkanes in soil under natural vegetation. The lipid composition on different agroecosystem
2 allowed to evaluate of land use influence. The applied techniques in the study of HAs and FA
3 were efficient to elucidate the structural differences among those fractions, as well as their
4 modifications in the soil profile. Through the UV-visible was possible to evidence the
5 contribution of melanins pigments of fungic origin as explanation of the darkening observed
6 in subsoil of humic horizon. The FTIR spectra revealed that extracted HAs of Savanna site
7 was less decarboxilation, dehydration, condensation and aromatization process that those
8 extracted in Atlantic Forest sites. The HAs characterization by ^{13}C - RMN indicated one
9 humification route with decrease of alkyl groups and increases to C-aromatic signal area. The
10 termodegradation showed that HAs and extracted FAs in the topsoil was richness structure
11 than those of subsoil and, that under natural vegetation has more N-compounds in the humic
12 structure. The results also indicated that the increase in the signal for C-aromatic was due to
13 the benzenes and toluenes compounds. Larger proportion the polysaccharides were detected
14 in the FAs from 60-100 cm, revealing important movements of those acids in the soil profile.
15 In the topsoil, the soil agricultural use promoted reductions in the aliphatics and N-
16 compounds into HAs structure and, of phenolic, lignin, fatty acids and N-compounds into
17 FAs structure. The desorption and pyrolysis revealed that the increase of the aromatic degree
18 ($\sim 20\%$) verified by ^{13}C -RMN for extracted HAs among 60-100 cm, it corresponded mainly to
19 the structural incorporation of heterocyclic N-compounds. The structural stabilization
20 involved accumulations of N-compounds, aromatic and aliphatic compounds in AHs and,
21 aromatic and phenolic compounds in FAs. The carboxylic and fenolic characteristic of FAs is
22 the component key in the complexation translocation processes of Fe and Al in the tropical
23 humic horizons.

24

25

INTRODUÇÃO GERAL

A matéria orgânica do solo (MOS) tem papel fundamental no controle biogeoquímico do C no ecossistema global. Nos solos tropicais, onde a taxa de mineralização da MOS é maior, o conhecimento estrutural dos componentes da MOS que regem o ciclo do C é essencial.

Latossolos húmicos são caracterizados por apresentarem grande quantidade de matéria orgânica em seu horizonte A sendo, tendo a mesma como caráter diagnóstico na classificação destes solos. Contudo, até onde sabemos, essa matéria orgânica raramente tem sido “estruturalmente caracterizada”. Devido à importância da matéria orgânica na classificação destes Latossolos, o conhecimento estrutural da mesma é fundamental no entendimento dos processos de formação, assim como a própria evolução da fração orgânica nos espessos horizontes A desta unidade de solo. As mudanças estruturais induzidas por fatores antrópicos, como por exemplo, pela ocupação agrícola destes solos, necessitam ser mais investigadas. Com o objetivo de caracterizar a matéria orgânica presente em horizontes A húmico de Latossolos e avaliar o impacto do uso do solo na constituição da mesma foram elaborados quatro capítulos para esta tese.

O cultivo do solo geralmente aumenta o fluxo de CO₂ para a atmosfera, principalmente em solos tropicais onde as taxas de ciclagem da MOS são mais elevadas. O uso intensivo dos Latossolos húmicos com cafezais e pastagem na Zona da Mata Mineira, e a importância destes solos no estoque de C regional justificou a realização do trabalho descrito no Capítulo I, tratando da **“Influência da Correção da Acidez, Adubação Fosfatada e Adição de Carbono Lábil na Matéria Orgânica de um Latossolo Vermelho-Amarelo Húmico”**. Devido à baixa atividade microbiana destes solos, o estímulo da mesma acarreta importantes mudanças na dinâmica da MOS. Por outro lado, a influência das práticas agrícolas sobre a fração humificada do solo é de extrema importância, uma vez que as mesmas respondem por mais de 80% do C no horizonte A destes Latossolos. Para tanto foi conduzido ensaio de respirometria em fatorial completo com cinco níveis de calagem, dois níveis de adubação fosfatada e dois níveis de sacarose. Avaliou-se a evolução de CO₂ durante 136 dias, com subsequente análise da atividade microbiana, C do solo e das frações humificadas (fúlvico, húmico e humina).

A MOS pode ser dividida em componentes húmicos e não-húmicos. Dentro deste último existe a fração extraível com solventes orgânicos, conhecida como fração lipídica do solo. A composição lipídica de solos tropicais tem sido raramente documentada. O estudo

1 dessa fração permite avaliar a contribuição da biomassa vegetal (serapilheira e raízes) e do
2 solo (microrganismos), sendo que modificações na mesma podem ser percebidas em
3 diferentes situações de uso e manejo do solo. O Capítulo II intitulado “**Status of total lipids**
4 **extracts in a subtropical Humic Latosol under grassland and coffee land use**” objetivou
5 avaliar as diferenças na composição lipídica entre a superfície e subsuperfície de um horizonte
6 A húmico, assim como as alterações em função do uso com café e pastagem.

7 O componente húmico do solo solúvel em álcali (ácidos húmicos e fúlvicos), os quais
8 nesta tese foram extraídos com NaOH 0.1 mol L⁻¹, pode ser caracterizado através de várias
9 ferramentas analíticas: análise elementar do teor de C, N, H e O; técnicas espectroscópicas
10 (infravermelho, ultravioleta-visível, ressonância magnética nuclear,...); e técnicas
11 termodegradativas (termogravimetria, dessorção térmica e pirólise). No geral, a maioria dos
12 trabalhos utiliza combinações entre diferentes técnicas, complementando os resultados
13 obtidos de forma a elucidar a rede macromolecular complexa das substâncias húmicas. Para o
14 Capítulo III, intitulado “**Caracterização de ácidos húmicos e fúlvicos em horizontes A**
15 **húmicos de Latossolos de Minas Gerais**”, foram extraídos e purificados ácidos húmicos e
16 fúlvicos de Latossolos Húmicos de diferentes regiões de Minas Gerais. Na purificação dos
17 ácidos fúlvicos, a fração não retida em XAD-8 também foi analisada. Com o objetivo de
18 caracterizar e avaliar a participação dessas frações no processo de humificação utilizou-se de
19 técnicas analíticas como a análise elementar (CNHO), espectroscopia no uv-visível e no
20 infravermelho e ressonância magnética nuclear do ¹³C.

21 Dando continuidade no estudo da caracterização da matéria orgânica, no sentido de
22 seu desvencilhamento estrutural, elaborou-se o quarto e último capítulo desta tese, intitulado
23 “**Dessorção e pirólise de ácidos húmicos e fúlvicos extraídos de um Latossolo Vermelho-**
24 **Amarelo húmico sob café e pastagem na Zona da Mata Mineira**”. Os fragmentos gerados
25 durante a dessorção (280 °C) e pirólise (610 °C) dos ácidos húmicos e fúlvicos extraídos,
26 foram separados por cromatografia gasosa e identificados por espectrometria de massa. A
27 obtenção da “impressão digital” da estrutura desses ácidos foi utilizada para avaliar a
28 composição e origem dessas frações, sua evolução no perfil, assim como as transformações
29 promovidas pelas mudanças no uso da terra.

30

31

32

1 **I - Influência da correção da acidez, adubação fosfatada e adição de**
2 **carbono lábil na matéria orgânica de um Latossolo Vermelho-Amarelo**
3 **Húmico**

4 **RESUMO**

5 O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento da matéria orgânica do solo quando
6 da aplicação de calagem, adubação fosfatada e adição de fonte de carbono lábil. O solo
7 estudado foi um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico húmico da região de Sericita-MG,
8 sendo o experimento conduzido em laboratório com temperatura controlada a 25°C. O
9 delineamento experimental foi inteiramente casualizado num esquema fatorial 5x2x2, sendo
10 cinco níveis de calagem (0; 0,5; 1; 2 e 3 vezes a quantidade necessária para elevar a
11 saturação de bases do solo a 60%), dois níveis de adubação fosfatada (com e sem, na forma
12 de KH_2PO_4) e dois níveis de fonte de carbono (C) lábil (com e sem, na forma de sacarose).
13 Foram avaliados: o CO_2 acumulado durante 136 dias, o carbono da biomassa (C_{mic}) e seus
14 índices correlatos (quocientes microbiano e metabólico), o C total do solo e das frações
15 humificadas (fúlvico, húmico e humina). Os resultados mostraram aumentos na curva de
16 produção de C- CO_2 com a calagem associada com adições fósforo (P) e C lábil, onde os
17 fatores conjugados, P e C-lábil, foram mais eficientes que a aplicação isolada. Detectou-se
18 também decréscimo no C_{mic} com subdosagem da necessidade de calagem, sendo que sua
19 aplicação adequada aumentou o C_{mic} . A fração fúlvica do solo tendeu a aumentar com a
20 adição de C-lábil e reduzir na presença de fosfatos. Observamos também que com a
21 calagem houve redução do C da fração ácido húmico, com subsequente incremento no C da
22 fração humina. Os resultados indicaram que práticas agrícolas como calagem, adubações
23 fosfatadas e adições de resíduos na forma de C-lábil alteram a dinâmica do C, no
24 compartimento ativo e passivo, da matéria orgânica de Latossolos húmicos.

25
26 **Palavras chaves:** Biomassa, calagem, solos tropicais, respirometria, substâncias húmicas.
27
28

1 **SUMMARY: INFLUENCE OF LIMING, PHOSPHATE FERTIZATION AND**
2 **ADDITION OF LABILE CARBON IN ORANIC MATTER OF HUMIC**
3 **LATOSOL (OXISOL)**

4 The objective of this work was to evaluate the changes in the soil organic matter
5 through the application of liming, phosphate fertilization and addition of source of labile.
6 The soil studied was a dystrophic red yellow Latosol localized in Sericita-MG, being the
7 experiment was conducted in laboratory with temperature controlled at 25°C. The
8 experimental desing was entirely random in a factorial outline 5x2x2, being five liming
9 levels (0; 0,5; 1; 2 and 3 times the necessary amount to elevate the soil saturation of bases at
10 60%), two levels of phosphate fertilization (with and without, in form of KH_2PO_4) and two
11 levels of labile source of carbon (C) (with and without, in sucrose form).Were analyzed:
12 CO_2 accumulated during 136 days, the C biomass (C_{mic}) and their correlates indexes
13 (microbial and metabolic quotients), total C the soil and humic fractions (fulvic, humic and
14 humin). The results showed increases in the production curve of C- CO_2 with the liming
15 associated with additions phosphorus (P) and labile C, where the conjugated factors, P and
16 labile C, they were more efficient than the isolated application. It was also detected
17 decrease in C_{mic} with sublevel the liming, and increased C_{mic} with their appropriate
18 application. The fulvic fraction tended to increase with the addition of labile C and to
19 reduce in the phosphorus presence. We also observed that with liming there was reduction
20 C in the humic fraction, with subsequent increment in C the humin. The results indicated
21 that agricultural practices as liming, phosphate fertilization and additions of residues in the
22 labile C form alter the C dynamics, in active and stable pool, of SOM from humic Latosol.

23
24 **Key words:** Biomass, liming, tropical soils, humic substances, land use.
25
26

1 1 – INTRODUÇÃO

2 Práticas agrícolas como calagem, adubação fosfatada e adição de material orgânico
3 lábil podem propiciar modificações na dinâmica da matéria orgânica do solo (MOS),
4 principalmente por alterar seus compartimentos em função da entrada de energia no
5 sistema. O impacto do uso agrícola na qualidade de um agroecossistema tem sido medido
6 utilizando-se alguns atributos físicos, químicos e bioquímicos (Valarini et al., 2003; Assis
7 & Lanca, 2005).

8 Entre os atributos bioquímicos, estão a respiração, biomassa microbiana e os
9 quocientes metabólicos (qCO_2) e microbiano ($qMIC$), os quais influenciam na dinâmica e
10 estoque de carbono (C) no solo (Conceição et al., 2005). A respiração microbiana reflete a
11 atuação dos microrganismos na decomposição e ciclagem dos nutrientes no solo. A adição
12 de nutrientes e fontes de energia (carbono) aumenta a atividade biológica melhorando as
13 relações ecológicas no solo (Powlson et al. 1987).

14 A biomassa microbiana (BM), considerada como parte viva e lábil da matéria
15 orgânica, é a principal responsável pela decomposição dos resíduos orgânicos, ciclagem de
16 nutrientes e fluxo de energia dentro do solo, exercendo sua influência tanto na
17 transformação da matéria orgânica, quanto na estocagem do C e nutrientes minerais,
18 controlando a liberação e a imobilização dos mesmos na maior parte dos ecossistemas
19 terrestres (Srivastava & Singh, 1991; Wradle, 1992). A BM responde rapidamente às
20 alterações no solo, inclusive de pH e, segundo Powlson et al. (1987), sua determinação
21 pode indicar mudanças na qualidade da matéria orgânica do solo (MOS). Baixos valores de
22 BM estão geralmente associados a solos ácidos, sendo que para a atividade microbiana, a
23 importância da elevação do pH pela adição de calcário tem sido demonstrada através do
24 aumento da BM e respiração (Badalucco et al., 1992; Priha & Smolander, 1994). Nos
25 estudos de ciclagem biogeoquímica dos nutrientes, a respiração é um indicador direto da
26 influência dos microrganismos (Schinner *et al.*, 1996). Em razão da extrema
27 heterogeneidade no ambiente natural da microbiota e da sua biodiversidade, a BM deve ser
28 analisada juntamente com outros atributos como, a atividade e/ou quocientes correlatos
29 (Anderson & Domsch, 1989).

30 O qCO_2 expressa a quantidade de CO_2 emanado para a atmosfera pela quantidade
31 de C da BM ao longo do tempo, sendo uma taxa de respiração específica (Anderson &
32 Domsch, 1993). Os maiores valores desse atributo são encontrados em condições mais
33 adversas à população microbiana, ou seja, nos locais mais estressantes, ocorrendo maior

1 consumo de C oxidável para a manutenção e adaptação da microbiota à nova condição.
2 Moreira & Malavolta (2004) estudando solos sob diferentes manejos na Amazônia
3 Ocidental, encontraram menores valores de qCO_2 em solo sob floresta primária, o que
4 correspondeu a menores perdas de C nesse sistema. Por outro lado, o $qMIC$, obtido pela
5 relação entre C microbiano (C_{mic}) e C orgânico total do solo (COT), expressa a quantidade
6 de C imobilizada na BM. Muitos autores consideram esse atributo como bom indicador das
7 alterações nos processos do solo (Carter, 1986; Islan & Domsch, 1991; Sparling, 1992;
8 Alvarez et al., 1995).

9 Os Latossolos húmicos são caracterizados por apresentarem horizonte A espesso e
10 rico em C, sendo em sua maioria distróficos. Esses solos estocam, em média, 29 kg m^{-2} de
11 C, sendo preferencialmente compartimentalizado na forma de ácidos húmicos (40%),
12 humina (39%) e ácidos fúlvicos (21%) (Assis et al., dados não publicados). A natureza do
13 húmus e a distribuição das frações humificadas variam, entre outros fatores, com a acidez,
14 presença ou ausência de bases (Zech et al., 1997). Assim, podem ocorrer alterações neste
15 compartimento estável da MOS uma vez que correção da acidez e adubações são práticas
16 essenciais na obtenção de produtividades nesses solos. Tanto a calagem (Badalucco et al.,
17 1992; Smolander et al., 1994) quanto adubações podem atuar sobre a composição,
18 quantidade e atividade dos microrganismos envolvidos nas transformações orgânicas,
19 podendo influenciar indiretamente no comportamento do C presente nos frações
20 humificadas deste solo. Atualmente, grande importância está sendo dada à influência das
21 práticas agrícolas na mineralização e produção da MOS em função de afetarem a dinâmica
22 do C no solo podendo acarretar, ou não, mudanças globais no ciclo deste elemento.

23 Dentro da hipótese de que práticas agrícolas como a calagem, adição de fósforo e
24 carbono lábil aumentam a taxa de mineralização da MOS, este trabalho teve por objetivo
25 avaliar as alterações em diferentes compartimentos da matéria orgânica de um Latossolo
26 Húmico submetido à calagem, adubação fosfatada e adição de carbono lábil.

27 **2 - MATERIAL E MÉTODOS**

28 O solo utilizado foi classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico
29 húmico, franco-argiloso, pertencente à região de Sericita, Zona da Mata Mineira. Foi
30 coletada amostra composta de 15 subamostras entre 40-60 cm de profundidade no
31 Horizonte A húmico. As características físico-químicas do solo estão apresentadas na
32 Tabela 1.

1 **Tabela 1** – Características físico-químicas do Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico
 2 húmico amostrado entre 40-100 cm de profundidade

| pH (H ₂ O) | Características Químicas ^{/1} | | | | | | | Características Físicas ^{/2} | | | | | | | |
|--------------------------|--|----|------------------|------------------------------------|------------------|------|------|---------------------------------------|----------------------|-----------------|----------------------|----|----|----|--------------------|
| | P | K | Mg ²⁺ | Ca ²⁺ | Al ³⁺ | H+Al | T | P-rem | COT | NT ^c | AG | AF | S | A | Ds |
| | mg dm ⁻³ | | | cmol _c dm ⁻³ | | | | mg L ⁻¹ | dag kg ⁻¹ | | dag kg ⁻¹ | | | | g cm ⁻³ |
| 5.5 | 0.7 | 30 | 0.4 | 2.0 | 0.2 | 12.6 | 9,84 | 4.9 | 4.7 | 0.32 | 28 | 9 | 29 | 34 | 0.8 |

3
 4 ^{/1} pH em água (relação 1:2,5); P e K extraídos com Mehlich-1; Mg, Ca e Al extraídos com KCl 1 M; H+Al
 5 extraídos com Acetato de Cálcio 0,5 M em pH 7,0; T = CTC a pH 7,0; P -rem = fósforo remanescente
 6 (Alvarez V. et al (2000); COT = carbono orgânico total de acordo com Yeomans & Bremner (1988); NT =
 7 nitrogênio total, método Kjeldahl; ^{/2} AG = areia grossa; AF = areia fina, A = argila; Ds = densidade do solo,
 8 método do anel volumétrico.

9 Para a montagem do experimento, os tratamentos foram arranjados num fatorial
 10 5x2x2, sendo cinco níveis de calagem (0,0; 0,5; 1,0; 2,0 e 3,0 vezes a quantidade necessária
 11 para elevar a saturação de bases do solo a 60%), dois níveis de adubação fosfatada (com e
 12 sem aplicação de KH₂PO₄), e dois níveis de carbono lábil (com e sem aplicação de
 13 sacarose) com quatro repetições, em delineamento inteiramente casualizado. A necessidade
 14 de calagem foi determinada de forma a elevar a saturação de bases do solo à 60%, sendo
 15 utilizados 3,43 t ha⁻¹ na forma de carbonatos de cálcio (CaCO₃) e magnésio (MgCO₃) em
 16 proporção de 4:1. A aplicação do fosfato baseou-se na recomendação para a manutenção da
 17 produtividade do cafeeiro, sendo utilizados 40 kg ha⁻¹ de P (CFSEMG,1999) na forma de
 18 KH₂PO₄. Nos tratamentos sem adição de fosfato a adição de K foi compensada com
 19 aplicação equitativa de KCl. Para adição de carbono lábil utilizou-se 15 mL de solução de
 20 10 g L⁻¹ de sacarose (Högberg & Ekblad, 1996). Neste trabalho, a concentração de 10 g L⁻¹
 21 de sacarose nos forneceria 1,26 mg g⁻¹ de C lábil no solo, correspondendo
 22 aproximadamente à quatro vezes o C da biomassa do solo.

23 Após a aplicação dos tratamentos, as amostras de solo (50 cm³) foram
 24 acondicionadas em frascos de 500 cm³, hermeticamente fechados. O CO₂ liberado pela
 25 atividade microbiana do solo foi capturado em solução de NaOH e determinado por
 26 titulação com HCl 0,5 mol L⁻¹, após adição de 5 mL de solução de BaCl₂ 1 mol L⁻¹ e
 27 fenolftaleína como indicador. A quantidade total de CO₂ evoluído correspondeu ao
 28 somatório dos valores obtidos durante cada medição. Durante o ensaio a umidade do solo
 29 foi mantida em torno de 60% da capacidade máxima de retenção de água. O experimento
 30 foi conduzido durante 136 dias em laboratório com temperatura controlada a 25 °C. Em
 31 seguida foram avaliados o C da biomassa microbiana (C_{mic}), o C orgânico total do solo
 32 (COT) e das frações ácidos húmicos, fúlvicos e humina. O C_{mic} foi determinado pelo
 33 método descrito por Islam & Weil (1998) utilizando forno de microondas, aonde amostras

1 irradiadas foram submetidas a potência de 383,53 W (watts) durante 167 s (segundos) para
2 completa lise das células microbianas, conforme sugerido por Mendonça & Matos (2005).
3 Em seguida o C_{mic} foi extraído e determinado de acordo com Vance et al. (1987). O fator de
4 correção utilizado foi de 0,33 e o resultado expresso em $\mu\text{g g}^{-1}$ de C por solo seco. O qMIC
5 foi calculado pela relação do C_{mic} pelo COT usando a seguinte fórmula $(C_{mic}/COT)*100$
6 (Anderson & Domsch, 1989), expresso em porcentagem. O qCO_2 foi calculado através da
7 divisão da respiração do solo pela C_{mic} (Anderson & Domsch, 1993), expresso em $\mu\text{g h}^{-1}$
8 μg^{-1} , de C-CO₂ por C_{mic} .

9 As frações ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e humina foram extraídas de acordo
10 com a diferença de solubilidade em ácido e álcali (Schnitzer, 1982). Os teores de COT do
11 solo e das frações humificadas foram determinados por oxidação via úmida, utilizando-se
12 solução de $K_2Cr_2O_7$ em meio ácido, com aquecimento externo (Yeomans & Bremner,
13 1988).

14 Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). A comparação entre
15 as médias das variáveis foi feita utilizando-se o teste F ($P<0,05$). Para cada combinação de
16 adubação fosfatada e adição de C-lábil foram avaliados os efeito polinomiais (linear,
17 quadrático, cúbico e quartico) da calagem sobre as variáveis estudadas através de regressão
18 linear. Como auxílio computacional utilizou-se o programa SAEG[®] - UFV.

19 **3 - RESULTADOS**

20 A quantidade total de C-CO₂ produzida (calculada em relação ao COT) variou, em
21 média, de 44,15 a 96,61 ($\mu\text{g g}^{-1}$), considerando as combinações da adição de carbono lábil e
22 fosfato em cada nível de calagem. Na ausência de calagem foram obtidos valores médios,
23 expressos em C-CO₂ ($\mu\text{g h}^{-1} \text{g}^{-1}$ de COT), para respiração basal (15,1), respiração induzida
24 por fosfato (18,7) e induzida por sacarose (24,2), indicando que o C foi mais limitante para
25 a biomassa do que o P. O incremento obtido com a indução revelou que não houve
26 impedimento no consumo, tanto de P como de C, pela microbiota. Observa-se claramente
27 que as curvas de produção acumulada de C-CO₂ refletiram efeito positivo da aplicação de
28 sacarose principalmente quando associada com calagem e adição de P (Fig. 1). Os
29 resultados obtidos nos tratamentos que não receberam C-lábil (sacarose) e P refletem o
30 efeito da adição da calagem. O que se observa é que, no geral, com aplicação de calagem
31 houve tendência de aumento na respiração do solo. Estímulos na respiração com a adição de
32 calagem também foram verificados por Persson et al. (1989), Marschner & Wilczynski
33 (1991).

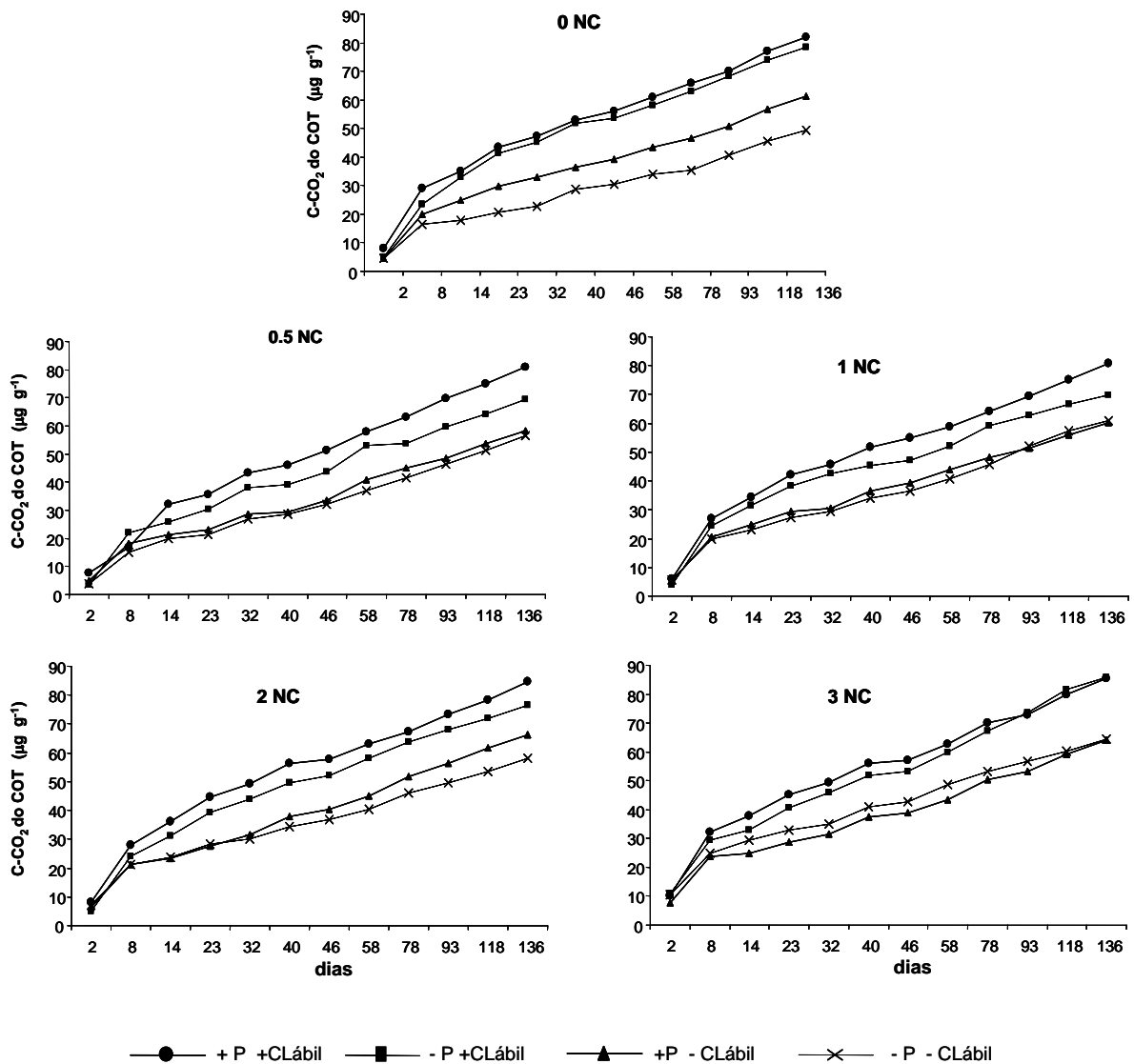


Fig. 1 – C-CO₂ acumulado em função do tempo de incubação com adições proporcionais de 0; 0,5; 1; 2; e 3 NC (Necessidade de Calagem) sob efeito da adição de P (adubação fosfatada na forma de KH₂PO₄) e C lábil (na forma de sacarose) para um Latossolo Vermelho-Amarelo húmico.

Independente da adição de P, a presença de C-lábil aumentou ($P < 0,05$) a respiração do solo. Por outro lado, a aplicação isolada de P resultou num aumento da respiração do solo apenas no tratamento sem calagem (Fig. 2), resultando que, na presença de calagem e adição de fonte lábil de C, não foram observados efeitos significativos da adição de P.

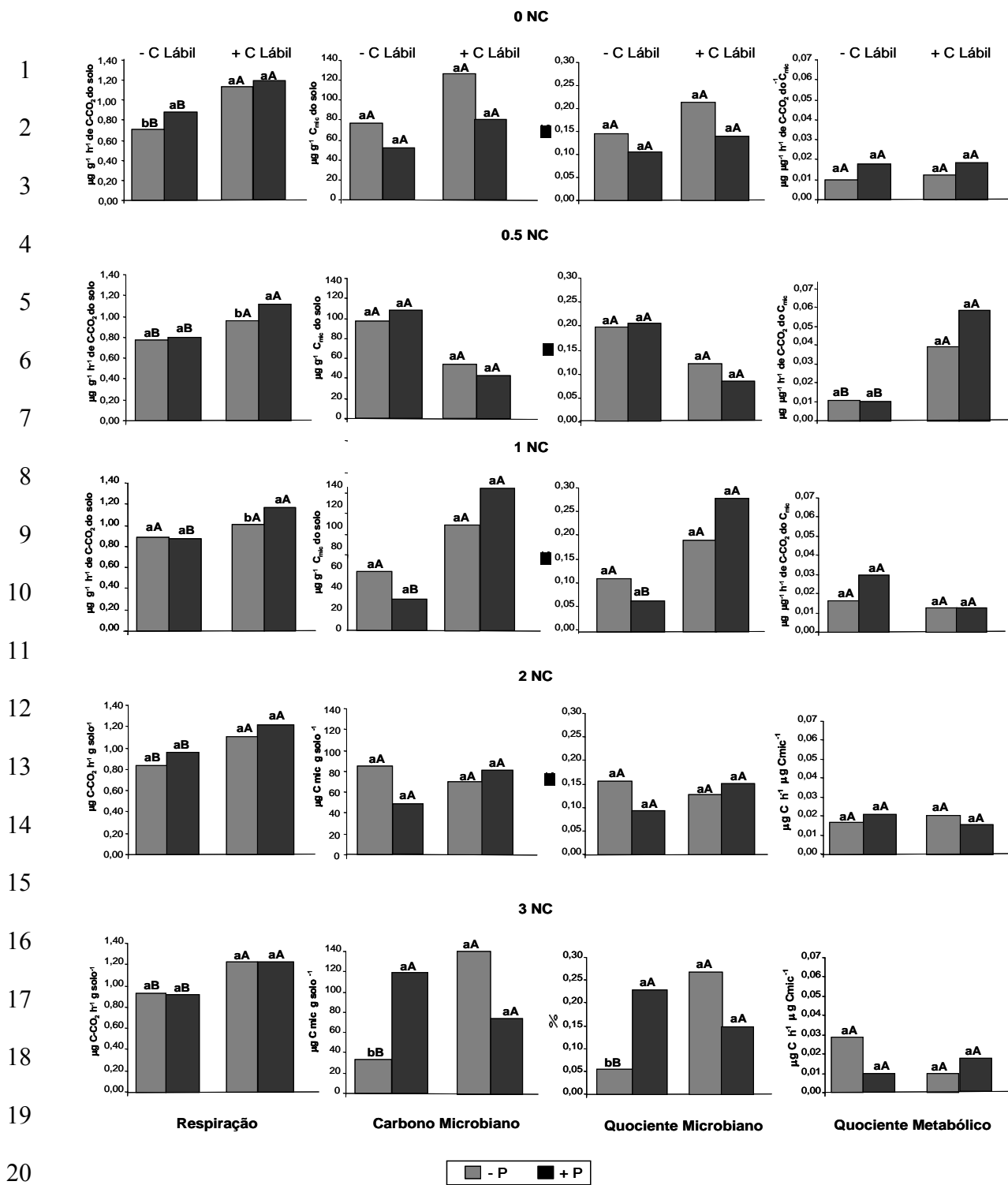


Fig. 2 – Comportamento da respiração basal, carbono microbiano, quociente microbiano e metabólico na adição de 0; 0,5, 1; 2 e 3 NC (Necessidade de Calagem do solo) e na presença e ausência de carbono lábil (C-lábil) e adubação fosfatada (P). Diferenças estatísticas encontradas usando teste F para $P < 0,05$. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula e minúscula não diferem estatisticamente para adição de carbono lábil e adubação fosfatada, respectivamente.

1 Já a adição conjunta de C-lábil e P, propiciaram aumentos significativos ($P < 0,05$) na
2 respiração para todos os tratamentos, sendo observadas reduções com ausência de P nos
3 tratamentos com 0,5NC e 1NC. Com a aplicação de 1NC não foram observadas diferenças
4 entre as adições isoladas de C- lábil e P, mostrando que o aumento obtido com a adição
5 conjunta deve-se à interação entre esses dois fatores (Fig. 1 e 2).

6 **3.1 - C da Biomassa (C_{mic}) e Índices correlatos ($qMIC$ e qCO_2).**

7 A aplicação tanto conjunta, quanto isolada de C-lábil e P não teve efeito
8 significativo no C_{mic} ($P < 0,05$) para os solos que receberam 0, 0,5 e 2 NC. Na condição de
9 subdosagem da calagem (0,5 NC) houve tendência clara de redução do C_{mic} com a
10 aplicação de C-lábil, o que concomitantemente com aumento da respiração refletiu no
11 incremento do quociente metabólico (qCO_2).

12 A adição conjunta de C-lábil e P promoveu aumento significativo ($P < 0,05$) no C_{mic}
13 para 1NC (Fig.2). Na presença de P, essa foi a única situação onde aumento na respiração,
14 devido à aplicação de fonte de C-lábil, resultou em incremento da biomassa. Com isso,
15 observamos também aumento no $qMIC$ para este tratamento. Em condições máximas de
16 calagem (3NC) constatamos aumento no C_{mic} com aplicação isolada de P, sendo esse efeito
17 suprimido quando da adição de C-lábil. Nesse mesmo tratamento (3NC) o aumento na
18 respiração com a adição de C-lábil refletiu em aumento do C_{mic} , com o diferencial de não
19 haver necessidade da presença de P.

20 **3.2 - C do solo e das frações humificadas da Matéria Orgânica**

21 Para C do solo (COT) não foram observadas diferenças significativas entre os
22 tratamentos, com exceção daqueles que receberam dosagem de 3NC, onde foi possível
23 detectar redução COT com a adição de P (Fig.3). Na fração fúlvica, definida como a menos
24 estável, observamos um pequeno, porém significativo aumento ($P < 0,05$) com a adição de
25 C-lábil nos tratamentos com 0 e 2NC. Nos demais houve tendência de aumento dessa
26 fração, principalmente quando da adição conjunta de C-lábil e P. No geral, comparando
27 tratamentos com e sem adição de P, verificamos que a presença de P tendeu a reduzir o C
28 da fração fúlvica.

29

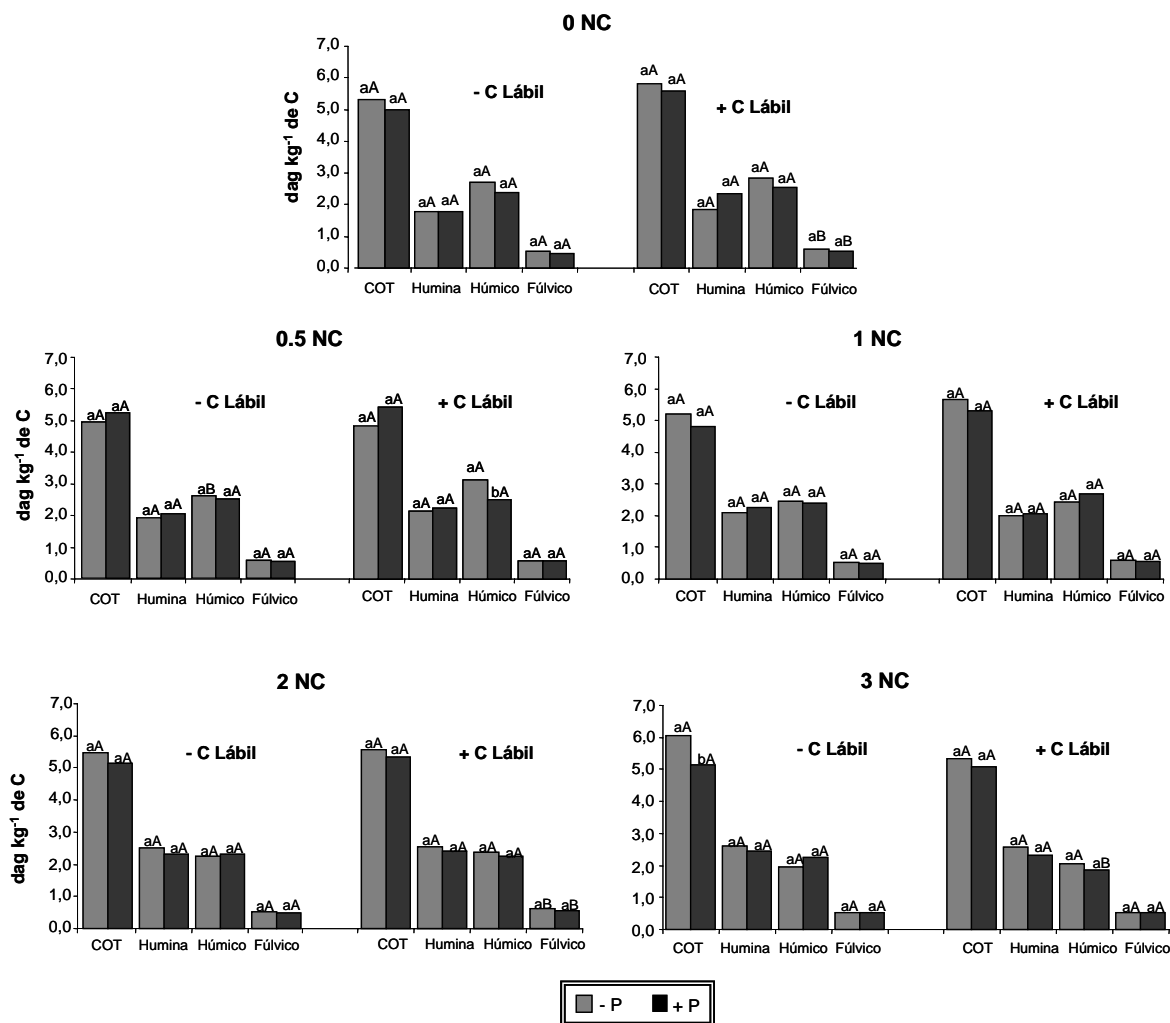
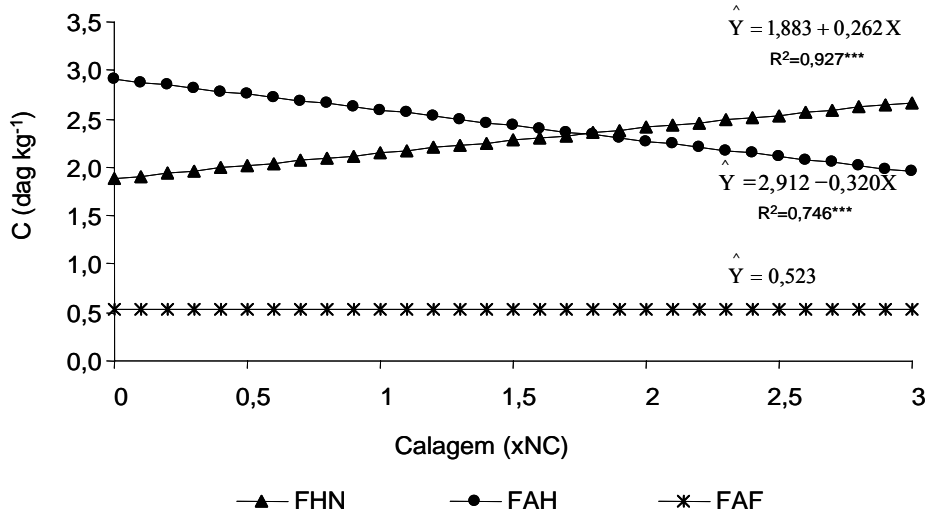


Fig. 3 – Teores de carbono orgânico total do solo (COT) e das frações humina, húmico e fúlvico após incubação por 136 dias com 0, 0.5, 1, 2 e 3NC (doses referentes à necessidade de calagem do solo) em presença e ausência de fósforo (KH₂PO₄) e C-lábil (sacarose). Diferenças estatísticas encontradas usando teste F para P<0,05, as médias apresentadas seguidas pela mesma letra maiúscula e minúscula não diferem estatisticamente para adição de C-lábil e fósforo, respectivamente.

Em situação de subcalagem (0.5 NC) a aplicação isolada de C-lábil houve aumento no C da fração húmica. Por outro lado, quando se teve supercalagem (3NC) aumento do C dessa fração foi devido à aplicação isolada de P, resultado este que pode ser coadunado com a observação de aumento do C_{mic} para este tratamento.

Através da análise de regressão constatamos incrementos no C na fração humina, com conseqüente redução no C da fração húmica, não sendo observado efeito na fração

1 fúlvica do solo (Fig.4). Destarte, observou-se clara inversão na alocação de C entre as
 2 frações húmicas e humina a partir da dose de calagem que consideramos ideal (1NC).



13 **Fig. 4** – Carbono das substancias húmicas em função da calagem. FHN= fração humina;
 14 FAH= fração ácido húmico e FAF= fração ácido fulvico. *** significativo a 1% de
 15 probabilidade.

1 **4 - DISCUSSÃO**

2 **4.1 - Atividade microbiana, C da biomassa e índices correlatos**

3 Os resultados demonstraram que o efeito isolado da aplicação de P sobre a respiração
4 microbiana só foi positivo na ausência de calagem e fonte de C lábil. Contudo esse aumento
5 refletiu condição de estresse da população, uma vez que não foi verificado incrementos no
6 C_{mic} . De acordo com Schimel & Weintraub (2003) essa condição pode ser resultado de um
7 excesso metabólico não associado com crescimento. A energia gerada com esse “excesso
8 metabólico” pode ser liberada como calor ou ser estocada como polifosfato (compostos
9 inorgânicos energeticamente ricos) Kornberg et al. (1999).

10 Com exceção do tratamento onde foi adicionado 1NC, o aumento da respiração com a
11 aplicação C-lábil não refletiu num crescimento significativo da biomassa microbiana. Nesse
12 caso podemos dizer que assimilação inicial do C foi usada preferencialmente para a respiração
13 que para o crescimento microbiano, o que reflete nessas condições uma baixa capacidade de
14 utilização do C pela biomassa em situações aquém e além da necessidade de calagem do solo.
15 A redução ($P < 0,05$) do C_{mic} com adição isolada de P no tratamento com 1NC refletiu uma
16 entrada energética estressante para a população do solo, o que também pode ser explicada
17 pela tendência de aumento do qCO_2 nesse tratamento. Devido à escassez natural desse
18 elemento em solos tropicais, o fornecimento do mesmo pode gerar uma entalpia inicial capaz
19 de promover aceleração brusca na atividade microbiana de forma a aumentar a mineralização
20 do material orgânico presente no solo.

21 Para a atividade microbiana, os resultados demonstraram maior efeito da adição
22 conjunta de Clábil e P em comparação aos seus efeitos isolados. Este resultado confirma que a
23 adição conjunta da fertilização e resíduos no solo aumenta a formação da matéria orgânica em
24 detrimento à adição isolada (Azam et al., 1985; Vanlauwe et al. 2001; Moran et al. 2005).
25 Avaliando a respiração microbiana, no tempo, depois da adição de glicose, glicose+nitrogênio
26 e glicose+fósforo em um solo tropical ácrico, Ilsted & Singh (2005) encontraram aumento na
27 respiração quando fósforo foi adicionado junto com glicose em relação à sua aplicação
28 isolada. Em situações onde se aplicou subdosagem da necessidade de calagem (0,5NC), a
29 presença conjunta de P e C-lábil foi eficiente em aumentar a respiração do solo, porém esse
30 aumento não significou aumento da biomassa microbiana como observado em situação onde
31 houve aplicação da necessidade de calagem (1NC). Observamos também que para conseguir
32 incremento no C_{mic} semelhante ao obtido para o tratamento com 1NC e adição de C-lábil foi
33 necessário aumentar em três vezes a necessidade de calagem. Este resultado evidencia a

1 importância da adição de fontes lábeis de C no incremento da biomassa de solos corrigidos,
2 uma vez que os resultados mostraram tendência de diminuição do C_{mic} com a adição de
3 calagem. Por outro lado, o aumento do C_{mic} observado com a aplicação isolada de P em
4 condições extremas de calagem (3NC) (Fig. 2) e a não observância desse efeito quando da
5 aplicação conjunta com C-lábil nos evidenciam dois fatos: a) limitação na utilização de P pela
6 biomassa do solo nessas condições extremas de calagem e; b) possível efeito supressivo com
7 a presença de C-lábil. A modificação no pH do solo pode ter favorecido comunidades
8 microbianas que têm como limitação para o crescimento a presença de P e, que na presença de
9 fontes de C prontamente disponíveis há supressão na assimilação do P. De acordo com
10 Haynes (1982) a precipitação de fosfatos como fosfato de cálcio insolúvel diminui a
11 disponibilidade do fosfato em solução, porém nossos dados mostraram que mesmo em
12 condições máximas de calagem (3NC) a possível precipitação de fosfato de cálcio insolúvel
13 não impediu efeito do P no crescimento microbiano. Para Stevenson & Cole (1999) a
14 solubilidade de fosfatos de cálcio e magnésio pode ser aumentada através da produção de
15 ácido carbônico durante a liberação de CO_2 ($CO_2 + H_2O \rightarrow H^+ + HCO_3^-$). Os valores médios
16 de pH obtidos com aplicação de fosfato no tratamento com 3NC, foram de 7,67 e 7,71 para
17 presença e ausência de C-lábil, respectivamente (dados de pH não mostrados). De acordo com
18 Sauchelli (1965) a partir de 7,5 de pH há aumento na solubilidade dos fosfatos de cálcio.
19 Assim podemos dizer que houve maior disponibilidade de fosfatos nessa condição do
20 tratamento com 3NC em presença de adubação fosfatada, o como discutido anteriormente
21 pode ter favorecido comunidades microbianas (principalmente bactérias) que apresentam P
22 como fator limitante de crescimento.

23 Como discutido anteriormente, os aumentos observados nas taxas respiratórias não
24 significaram aumento da biomassa, embora tenha havido tendências de aumento do $qMIC$.
25 Podemos dizer que num curto prazo, os organismos presentes nesse solo não foram capazes
26 de se adaptarem à alocação de C de acordo com o suprimento e demanda de fontes mais
27 lábeis. Os maiores valores de qCO_2 nos tratamentos que receberam subdosagem da
28 necessidade de calagem (0.5NC) refletem altas taxas respiratórias seguidas de diminuição da
29 biomassa (Anderson & Domsch, 1993). Neste caso a energia fornecida ao sistema não foi
30 utilizada de forma econômica, o qual segundo Odum (1969) na sua teoria do desenvolvimento
31 bioenergético dos ecossistemas, situações dessa magnitude refletem instabilidade e distância
32 do equilíbrio natural.

33 Os resultados observados que evidenciam modificações na microbiota do solo em
34 condições de sub e supercalagem são extremamente importantes para a local de estudo. Nas

1 condições de topografia onde preferencialmente ocorrem os Latossolos com horizontes A
2 húmicos, a correção do solo é efetuada à lanço. Sendo assim, esse “lançamento” pode gerar
3 condições pontuais de sub e supercalagem, podendo interferir significativamente no
4 comportamento da matéria orgânica do solo.

5 **4.2 - Efeito da calagem, adubação fosfatada e C-lábil no C do solo e substâncias húmicas**

6 O COT não foi influenciado pela calagem. Serrano et al (2003), estudando solos ácidos
7 cultivados com café em Veracruz no México, também não observaram impacto sobre o COT
8 quando utilizaram 3.6 a 9 t ha⁻¹ de CaCO₃. Contudo, para nossos resultados quando
9 comparamos o COT entre os diferentes tratamentos (presença ou não de P e C-lábil) algumas
10 tendências e significâncias observadas sugerem que durante o experimento houve
11 movimentação do C entre as diferentes frações do solo. Por exemplo, a fração fúlvica,
12 considerada menos humificada e rica em polissacarídeos (Stevenson, 1994), apresentou
13 incrementos quando da aplicação de C-lábil (Fig.3). O aumento e redução do C para a fração
14 humina e ácido húmico, respectivamente, demonstrou o impacto do pH na dinâmica dessas
15 frações humificadas no solo (Fig. 4). A intensificação na calagem pode estar causando
16 microfloculações de humatos de cálcio (Jekel, 1986), o que resultaria em pouca solubilidade
17 em álcali dessa fração, incrementando assim a fração humina. Yagi et al. (2003) também
18 constataram diminuições no conteúdo de C da fração húmica de um Latossolo Vermelho com
19 a calagem. Os processos que conduzem a esse comportamento precisam ser elucidados, uma
20 vez que se acredita ser resultado de microfloculações de humatos de cálcio e, ou, à
21 desestabilização de complexos Al-húmus.

22 Reduções nas formas trocáveis do alumínio, assim como o incremento de cálcio,
23 também podem estar favorecendo na desestabilização de complexos húmicos (Mendonça &
24 Rowell, 1994). Dessa forma, a redução (P<0,05) do C observada para a fração húmica quando
25 da aplicação máxima de calagem (3 NC) também pode ter ocorrido em função da
26 desestabilização de complexos Al-húmus, aumentando a susceptibilidade à decomposição
27 para essa fração. Dados na literatura confirmam que a calagem reduz significativamente a
28 formação de complexos orgânicos com o Al, assim como a forma trocável desse elemento no
29 solo (Mendonça & Rowell, 1994; Canellas et al. 1999; Takahashi et al. 2006).

30 Nossos resultados também demonstraram não haver efeito significativo da calagem
31 sobre a fração fúlvica do solo (Fig.4). De acordo com Mendonça & Rowell (1996) em solos
32 intemperizados e argilosos, a fração fúlvica possui maior capacidade de formar complexos
33 argilo-húmicos, o que a torna mais protegida contra a degradação. Esses autores também

1 discutem que a característica oxidica e caulinitica dos Latossolos favorece a decomposição
2 dos ácidos húmicos em detrimento aos ácidos fúlvicos. De modo geral, os dados obtidos
3 demonstraram tendência de redução da fração fúlvica quando da aplicação de P. Uma
4 explicação plausível seria a competição dos íons fosfatos pelos sítios de ligação com a fração
5 mineral, tornando os ácidos fúlvicos mais suscetíveis à degradação. A formação de fosfatos
6 de alumínio e cálcio também pode contribuir para a desestabilização do material orgânico do
7 solo (Haynes, 1982; Haynes & Naidu, 1998).

8 **4 - CONCLUSÕES**

9 1) Práticas agrícolas como calagem, adubações fosfatadas e adições de resíduos na
10 forma de C-lábil alteram a dinâmica do C, no compartimento ativo e passivo, da matéria
11 orgânica de Latossolos húmicos.

12 2) A adição conjunta de C-lábil e P aumentou a atividade microbiana do solo, sendo
13 que em situações onde não se aplicou corretamente a necessidade de calagem não foi
14 observado incremento na biomassa.

15 3) Em condições adequadas de calagem e de suprimentos como C-lábil e P, menos C
16 se perde como CO₂ e frações significativas de C são incorporadas no tecido microbiano.

17 4) A calagem em Latossolos Húmicos promove aumentos na fração humina e reduções
18 na fração húmica, não sendo observado alteração no compartimento fúlvico.

19 5) Num curto prazo (136 dias) práticas agrícolas como calagem, adição de fosfato e C-
20 lábil são capazes de alterarem a dinâmica do C mesmo em compartimentos humificados da
21 matéria orgânica do solo.

22 **5 – AGRADECIMENTOS**

23 Os autores agradecem à CAPES, FAPEMIG e CNPq pelo apoio financeiro.

24 **6 - REFERÊNCIAS CITADAS**

25 ALVAREZ, R.; DIAZ, R. A.; BARBERO, N.; SANTANATOGLIA, O.J.; BLOTTA, L.
26 1995. Soil organic carbon, microbial biomass and CO₂-C production from three tillage
27 systems. Soil Tillage Research, 33:17-28.

28 Azam, F., K.A. Malik, and M.I. Sajjad, 1985. Transformation in soil and availability to plants
29 os N15 applied as inorganic fertilizer and legume residues. Plant soil, 86:3-13.

30 ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. 1989. Ratios of microbial biomass carbon to total
31 organic carbon in arable soils. Soil Biology and Biochemistry, 21: 471-479.

- 1 ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. 1993. The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a
2 specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH,
3 on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 25: 393-395.
- 4 BADALUCCO, L.; GREGO, S.; DELL'ORCO, S.; NANNIPIERI, P. 1992. Effect of liming
5 on some chemical, biochemical, and microbiological properties of acid soils under
6 spruce (*Picea abies* L.). *Biological Fertility Soils*, 14:76-83.
- 7 CANELLAS, L.P., SANTOS, G.A., AMARAL SOBRINHO, N.M.B. 1999. Reações da
8 matéria orgânica. In: Santos & Camargo. *Fundamentos da matéria orgânica do solo:*
9 *Ecosistemas tropicais e subtropicais*. Gênese. 491p.
- 10 CARTER, M.R. 1986. Microbial biomass as an index for tillage – induced changes in soil
11 biological properties. *Soil Tillage Research*, 7: 29-40.
- 12 CFSEMG – Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. *Recomendações*
13 *para o uso de corretivos e fertilizantes em MG – 5ª Aproximação*. 1999. Eds: RIBEIRO,
14 A.C.; GUIMARAES, P.T.G.; ALVAREZ V., V.H. Viçosa – MG, 359p.
- 15 HAYNES, R.J. 1982. Effects of liming on phosphate availability in acid soils. *Plant and Soil*,
16 68: 289-308.
- 17 HAYNES, R.J., NAIDU, R. 1998. Influence of lime, fertilizer and manure applications on
18 soil organic matter content and soil physical conditions: a review. *Nutrient Cycling in*
19 *Agroecosystems*, 51:123-137.
- 20 HÖGBERG, P., EKBLAD, A. 1996. Substrate-induced respiration measured *in situ* in a C3-
21 Plant ecosystem using additions of C4-sucrose. *Soil Biology and Biochemistry*, 28:
22 1131-1138.
- 23 ILSTEDT, U., SINGH, S. 2005. Nitrogen and phosphorus limitations of microbial respiration
24 in a tropical phosphorus-fixing Acrisol (Ultisol) compared with organic compost. *Soil*
25 *Biology & Biochemistry*, 37: 1407-1410.
- 26 ISLAM, K.R. & WEIL, R.R. 1998. Microwave irradiation of soil for routine measurement of
27 microbial biomass carbon. *Soil Biology and Fertility Soils*, 27:408-416.
- 28 KORNBERG, A., RAO, N.N., AULT-RICHÉ, D. 1999. Inorganic polyphosphate: a molecule
29 of many functions. *Annual Review of Biochemistry*, 68:89-125.
- 30 MARSCHNER, B., WILCZYNSKI, W. 1991. The effect of liming on quantity and chemical
31 composition of soil organic matter in a pine forest in Berlin, Germany. *Plant and Soil*,
32 137: 229-236.

- 1 MENDONÇA, E. S.; ROWELL, D. L. 1994. Dinâmica do alumínio e de diferentes frações
2 orgânicas de um latossolo argiloso sob cerrado e soja. *Revista Brasileira Ciência do*
3 *Solo*, Campinas, 18:295-303.
- 4 MENDONÇA, E.S.; ROWELL, D.L. 1996. Mineral and organic fractions of two oxisols and
5 their influence on effective cation-exchange capacity. *Soil Science Society of America*
6 *Journal*, 60:188-192.
- 7 MORAN, K.K., SIX, J., HORWATH, W.R., Van KESSEL, C. 2005. Role of Mineral-
8 Nitrogen in Residue Decomposition and Stable Soil Organic Matter Formation. *Soil*
9 *Science Society of America Journal*, 69: 1730-1736.
- 10 MOREIRA, A., MALAVOLTA, E. 2004. Dinâmica da material orgânica e da biomassa
11 microbiana em solo submetido a diferentes sistemas de manejo na Amazônia Ocidental.
12 *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39: 1103-1110.
- 13 PERSSON, T., LUNDKVIST, H., WIRÉN, A., HYVÖNEN, R., WESSÉN, B. 1989. Effects
14 of acidification and liming on carbon and nitrogen mineralization and soil organisms in
15 mor humus. *Water, Air & Soil Pollution*, 45: 77-96.
- 16 POWLSON, D. S., BROOKES, P. C.; CHRISTENSEN, B. J. 1987. Measurement of soil
17 microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter
18 due to straw decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*. 19: 159-164.
- 19 POWLSON, D.S.; JENKINSON, D.S. 1987. A comparison of the organic matter, biomass,
20 adenosine triphosphate and mineralizable nitrogen contents of ploughed and directdrilled
21 soils. *Journal of Agricultural Science*, 97:713-721.
- 22 PRIHA, O.; SMOLANDER, A. 1994. Fumigation-extraction and substrate-induced
23 respiration derived microbial biomass C, and respiration rate in limed soil of Scots pine
24 sapling stands. *Biological Fertility Soils*, 17: 301-308.
- 25 ODUM, E.P. 1969. The strategy of ecosystem development. *Science*, 164: 262-270.
- 26 SAUCHELLI, V. 1965. Phosphate in agriculture. New York: Reinold Publishing,. 277p.
- 27 SCHIMEL, J.P., WEINTRAUB, M.N. 2003. The implications of exoenzyme activity on
28 microbial carbon and nitrogen limitation in soil: a theoretical model. *Soil Biology &*
29 *Biochemistry* 35: 549-563.
- 30 SCHNITZER, M. 1982. Organic matter characterization. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H. &
31 KEENEY, D.R., eds. *Methods of soil analysis. Part 2 - Chemical and microbiological*
32 *properties*. 2.ed. Madison, Soil Science Society of America, p.581-594.
- 33 SCHINNER, F.; FÖHLINGER, R.; KANDELER, E.; MARGESIN, R. 1996. *Methods in soil*
34 *biology*. Germany: Springer-Verlag.SRIVASTAVA, S.C.; SINGH, J.J.M.1991.

- 1 Microbial C, N and P in dry tropical forest soils: Effects of alternate land-user and
2 nutrient flux. *Soil Biology and Biochemistry*, 23:117-124.
- 3 SMOLANDER, A.; MAELKOENEN, E. 1994. Microbial Biomass C and N in limed soil of
4 Norway spruce stands. *Soil Biology and Biochemistry*, 26: 503-509.
- 5 SPARLING, G.P. 1992. Ration of microbial biomass carbon to soil organic as a sensitive
6 indicator of changes in soil organic matter. *Australian Journal of Soil Research*, 30:195-
7 207.
- 8 STEVENSON, F.J., COLE, M.A. 1999. *Cycles of soil: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur,*
9 *micronutrients.* 2ª Edição. John Wiley & Sons, INC.427p.
- 10 TAKAHASHI, T., IKEDA, Y. FUJITA, K., NANZYU, M. 2006. Effect of liming on
11 organically complexed aluminum of nonallophanic Andosols from northeastern Japan.
12 *Geoderma*, 130:26-34.
- 13 VANCE, E.D., BROOKES, P.C., JENKINSON, D.S. 1987. An extraction method for
14 measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 19: 703-707.
- 15 VANLAUWE, B., J. WENDT, AND J. DIELS. 2001. Combined application of organic
16 matter and fertilizer. P. 247-279. In: G. Tian et al. (ed) *Sustaining soil fertility in West*
17 *Africa.* SSSA and ASA, Madison, WI.
- 18 YEOMANS, J.C., BREMNER, J.M. A rapid and precise method for routine determination of
19 organic carbon in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v.19, n.13,
20 p.1467-1476, 1988.

21
22
23
24
25
26
27

1 **II - Content and molecular composition of total lipids extracts under**
2 **pasture and coffee land use in a subtropical humic Latosol**

3 **ABSTRACT**

4 Soil organic matter (SOM) characteristics of humic Latosols from Brazil under
5 different vegetations (coffee, molasses grass and native forest) have been approached by
6 analyzing the composition of litter and soil lipids. In all sites studied soil samples were
7 collected at two depths (0-10 and 60-100 cm) and litter samples from the soil surface.
8 Biomarkers from the different vegetations were identified in the lipid extracts from the top
9 soil layers (0-10 cm). The results showed the predominantly aliphatic character of the total
10 lipid extracts. Clear differences were found in the lipids composition in the top and subsoil;
11 in all sites studied a higher abundance of longer chain alkylic homologues in the *n*-alkanes
12 and *n*-fatty acids series are observed in the deeper soil layers. The soil under forest has
13 higher lipid content than cultivated soils in topsoil (0-10 cm), with larger insaturated fatty
14 acids proportion, mainly in depth. In the most conservative systems like pasture and forest
15 there is a major preservation of shorter chain *n*-alkanes with depth. This work suggests that
16 lipids composition deserve a deeper study in tropical soils and can be used as indicators in
17 these soils.

18
19 **Keywords:** soil lipid, n- fatty acids, land use, tropical soil, grass, coffee.

20
21
22
23
24

1 **RESUMO: TEOR E COMPOSIÇÃO MOLECULAR DE LIPÍDIOS TOTAIS**
2 **EXTRAÍDOS DE UM LATOSSOLO HÚMICO CULTIVADO COM**
3 **CAFÉ E PASTAGEM**

4 A matéria orgânica do solo (MOS) de um Latossolo Húmico sob café, pastagem e
5 fragmento de mata nativa foi caracterizada através da análise da composição lipídica do
6 litter e do solo, sob diferentes coberturas vegetais (café, pastagem e fragmento de mata
7 nativa). Sob cada cobertura foram coletadas amostras de solo na camada entre 0-10 e 60-
8 100 cm. Também foram coletadas amostras da serapilheira sob cada cobertura vegetal.
9 Foram identificados importantes biomarcadores referentes à vegetação de cobertura nos
10 extratos lipídicos do solo na camada entre 0-10 cm. Os resultados indicaram predominância
11 de caráter alifático para todos os extratos lipídicos. Observou-se clara diferenciação entre a
12 composição lipídica na superfície e subsuperfície do solo. Compostos alquílicos de cadeia
13 longa (alcanos e ácidos graxos) acumularam preferencialmente entre 60-100 cm. Em
14 superfície, o solo sob vegetação natural apresentou maior teor de lipídios totais que solos
15 cultivados, apresentando também predomínio de ácidos graxos insaturados entre 60-100
16 cm. Sob cobertura de mata e pastagem houve maior preservação de alcanos de cadeia curta
17 em profundidade, demonstrando maior conservação nestes sistemas de uso da terra. O
18 estudo da composição lipídica de solos sob diferentes usos fornece importantes indicadores
19 do impacto do uso da terra podendo atuar como indicadores da sustentabilidade agrícola
20 tropical.

21
22
23
24

1 1. INTRODUCTION

2 The influence of soil management systems on the contents and quality of soil
3 organic matter (SOM), and consequently on the soil properties and its ability to promote
4 carbon stabilization (sequestration), is a research subject of major interest concerning
5 subtropical Brazilian soils. The general pattern of land use in the Zona da Mata Mineira
6 zone in Minas Gerais, Brazil, is coffee (*Coffea arabica*) cropping and pastures of molasses
7 grass (*Melinis minutiflora*) (Resende *et al.*, 2002). Most of these cultivated areas are
8 supported by humic Latosols in reason of their great friability, permeability and water
9 retention capacity (Ker, 1999). Furthermore, these clay reddish-orange soils are
10 characterized by the presence of darker A horizon (7,5YR 3/4, wet) with enrichment the
11 humic fractions observable at depth of 60 cm or more (7,5YR 3/2, wet). This chromatic
12 differentiation can be consequence of pedogenetic process involving the different SOM
13 forms (high C contents) in the A horizon of humic Latosols, were different lipids
14 compounds can be trapped with the humic matrix these soils (Schnitzer *et al.*, 1986).

15 The composition of the total lipid extracts (TLEs) oil lipid fraction in both, topsoil
16 and subsoil layers, may provide additional information through the study of the compounds
17 with value as biomarkers for SOM sources and diagenesis products in the soil profile
18 (Schulten & Schnitzer, 1990; Van Bergen *et al.*, 1997; Quenea *et al.* 2004; Almendros *et*
19 *al.*, 2001, Jandl *et al.*, 2007). Zelles *et al.* (1995) observed differences between fatty acids
20 in grassland and cultivated soils when monounsaturated fatty acid fraction was considered,
21 showing that is possible evaluate changes in the land use through soil lipid composition.

22 Among the different SOM fractions, it is nowadays recognized that lipids play a key
23 role in important biogeochemical soil processes, and also in the relationship between plants
24 and their ecological environments (Amblés *et al.*, 1989; Farrimond & Flanagan, 1996;
25 Quenea *et al.*, 2004; Jansen *et al.*, 2006; Wiesenber *et al.*, 2006). There is a growing
26 interest in the determination of biology indicators which can be used to assess the land use
27 impact of agricultural soils. Furthermore, the TLEs can to inform on recent changes in the
28 trophic system structure. Por exemplo, em diferentes agroecossistemas, a composição
29 lipídica no “topsoil” pode refletir o impacto direto do uso do solo, principalmente quando

1 se relaciona a contribuição advinda do litter. Por outro lado, a preservação seletiva dos
2 compostos lipídicos liberados em superfície podem influenciar a dinâmica da matrix
3 húmica em subsuperfície were the retention of alkanes and fatty acids by humic acids in the
4 soil matrix is a well-know phenomenon reported by Schintzer & Neyroud (1975).

5 Actually, literature data concerning the molecular composition of total free lipid in
6 tropical soil are scarce, as far as we are aware. In this paper we studied TLEs with the
7 objective of: a) to assess the variations in the litter and soil lipids composition influenced
8 by cultivation with coffee and pasture and; b) to evaluate differences of lipid composition
9 between topsoil and subsoil in the humifield A horizon.

10 2. MATERIALS AND METHODS

11 2.1. Agroecologic characteristics of the area

12 The study was done in the Atlantic Forest Biome region at “Zona da Mata Mineira”,
13 Southeast Brazil, located at 20°28’26’’ S and 42°28’55’’ W, at an average altitude of 712 m
14 above sea level. The typical climate of the region is Cwb (Koppen classification), temperate
15 climate with rainy summers and dry winters. The mean annual rainfall and temperature are
16 1300 mm and 18 °C, respectively. According to the classification system of the Brazilian
17 Foundation Institute of Geography and Statistics, the vegetation in the area can be classified
18 as a Mountain Semi-deciduous Mesophytic forest (Semi-deciduous tropical forest) with
19 emergent canopy (*Fme*) (IBGE, 1993).

20 The studied soil was a Red Yellow humic Latosol (Typic Hapludox), clayey,
21 dystrophic and acid, with high content of exchangeable aluminium and organic matter.
22 These soils are derived from migmatites rocks and are typical in the higher altitude areas.

23 The selected area for this work follows the typical pattern of land use in the Zona da
24 Mata Mineira. The standard farming exploration when established at the beginning of the
25 settling caused continuous deforestation; the native tropical forest were substituted by
26 cultures that would come to be traditional in the region (coffee plantations and for other
27 farming and pastures). For this study three sites with the typical pattern of land use (coffee,
28 pasture and forest) under the same taxonomic soil units and slope were sampled.

1 The soil under coffee has been cultivated for the last 12 years and the fertilization
 2 management consists in the addition of NPK (25-10-20) fertilizer twice a year and limed
 3 every two years. Before the coffee site was established with pasture for 40 years. The
 4 pasture site was established in the 1940s after slashing and burning the forest but after a
 5 livestock crisis with low inputs in the 1960s, great part of this area was converted to coffee
 6 plantation. In the region the major area that once was devoted to pastures is nowadays
 7 degraded and farmers keep only the clean areas for cattle grazing, without much
 8 expenditure for maintenance. The molasses grass (*Melinis minutiflora*) is the predominant
 9 grass in the pasture. The generalized occurrence of this grass is indicative of low productive
 10 acid soils. For comparative purposes, soil samples under the native forest ecosystem were
 11 also sampled and studied.

12 2.2. Sampling and analysis

13 Soil sampling was carried out at the beginning of the wet season in the year 2005.
 14 Composite soil samples were taken from two depth in the A horizon at 0-10 and 60-100
 15 cm. twenty sub-samples were collected in an area of approximately 100 m² and mixed to
 16 form a single composite sample. The samples were air dried and sieved to fine earth (< 2
 17 mm). Sub-samples were taken for chemical and physical analysis. The main physico-
 18 chemical characteristics of the soils are in Table 1.

19 **Table 1**

20 Average values for physico-chemical characteristics of two layers of the A horizon of the
 21 studied humic Latosol under coffee, pasture and natural forest.
 22

| Depth (cm) | pH (H ₂ O) | Mg ²⁺ | Ca ²⁺ | CEC ^a | Al ³⁺ | H+Al | TOC ^c | TN ^d | BD ^e | Sand | Silt | Clay |
|----------------|--------------------------|---|------------------|------------------|------------------|-------------|------------------|--------------------|-----------------|-------------|------|------|
| | | -----cmol _c dm ⁻³ ----- | | | | -----%----- | | g cm ⁻³ | | -----%----- | | |
| Coffee | | | | | | | | | | | | |
| 0-10 | 5.1 | 0.53 | 2.10 | 12.40 | 1.33 | 12.40 | 3.34 | 0.26 | 0.94 | | | |
| 60-100 | 4.8 | 0.03 | 0.23 | 11.24 | 1.40 | 11.24 | 2.77 | 0.15 | 0.85 | 33 | 11 | 56 |
| Pasture | | | | | | | | | | | | |
| 0-10 | 4.9 | nd ^f | 0.53 | 12.60 | 1.40 | 12.60 | 3.55 | 0.26 | 0.96 | | | |
| 60-100 | 5.1 | nd | 0.13 | 11.03 | 0.73 | 11.03 | 3.03 | 0.18 | 0.80 | 29 | 7 | 64 |
| Forest | | | | | | | | | | | | |
| 0-10 | 4.8 | nd | 0.06 | 11.70 | 0.10 | 11.55 | 2.61 | 0.27 | 1.05 | | | |
| 60-100 | 5.0 | nd | nd | 10.24 | 1.20 | 10.23 | 2.67 | 0.21 | 0.86 | 33 | 11 | 56 |

23
 24
 25

^a Cation exchange capacity (pH 7.0); ^b H+Al = potential acidity; ^c TOC = total organic carbon; ^d TN = total nitrogen; ^e BD = Bulk density; ^f no detected.

1 Leaf litter samples were collected from the soil surface in all sites. For litter sampling
2 a 0.25 m² (0.5 x 0.5 m) metallic platform was used and four sub-samples collected in an
3 area of *circa* 100 m². The samples were thoroughly mixed to compose a single sample,
4 dried at 40 °C in an oven, milled and weighed. Litter (2 g) and soil (20 g) lipids were
5 Soxhlet-extracted at approximately 70 °C for 16 h using 200 ml of the mixture
6 dichloromethane/methanol (3:1 v/v) (van Bergen *et al.*, 1997).

7 The free lipids were methylated with trimethylsilyldiazomethane and silylated with
8 *N,O*-bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide (BSTFA) before analysis by gas
9 chromatography-mass spectrometry (GC-MS) (Hewlett-Packard 5730A). Separation of
10 lipids compounds was achieved using a SE-52 fused silica capillary column (30m x 0.32
11 mm i.d., film thickness 0.25 µm). The column oven temperature was programmed to
12 increase from 40 to 100 °C at 30 °C min⁻¹ and then to 300 °C at 6 °C min⁻¹. Helium was
13 used as carrier gas at a flow rate of 1.5 mL min⁻¹. Mass spectra were measured at 70 eV
14 ionizing energy. Individual compounds were identified by inspecting mass fragments, by
15 key single ion monitoring (SIM) for the different homologous series, by low resolution
16 mass spectrometry and by comparison with published mass spectra and computerized
17 libraries (NIST and Wiley).

18 Total lipid content was gravimetrically estimated and referred as percentages of dry
19 soil. For the compound abundance we established the distribution patterns on the basis of
20 the relative abundance of the compounds in the chromatograms.

21 **3. RESULTS AND DISCUSSION**

22 Total lipids extractible (TLE) content was higher in coffee litter when compared
23 with pasture and forest (Fig. 1-A). Although extractable lipids content was low under
24 forest, its accumulation was higher than in the tilled topsoil (Fig. 1-B). Higher lipid
25 proportion in 60-100cm depth under coffee may indicate that much of the lipid compounds
26 from litter are easily leached down the soil profile, once they are not completely
27 hydrophobic.(Nierop *et al.*, 2005). However, the possibility exists that deep coffee roots
28 exude higher lipid contents than roots under forest or pasture.

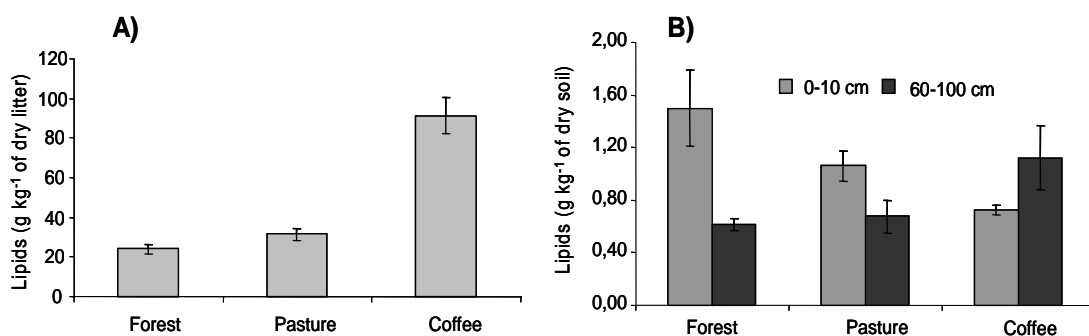


Fig. 1. Total lipid extracts from litter (A) and topsoil and subsoil (B) from humic Latosol under coffee and pasture land use.

The lowest values found for the forest litter indicate that higher preservation of lipids is observed in the soil profile. Thus, our results suggest that litter under forest effectively contributes to topsoil lipid content when compared to pasture and coffee.

Overall, saturated fatty acids were the most abundant class of compounds in the lipid soil fraction, with a dominance of long-chain over short chain compounds (Fig. 2). This result seems to be a general soil characteristic (Amblés *et al.*, 1998; Bull *et al.*, 1998; Marseille *et al.*, 1999; Chefetz *et al.*, 2002, Jandl *et al.*, 2004; Quenea *et al.*, 2004), and confirmed the predominantly aliphatic character of the extracts. Homologous series of saturated fatty acids from C₈ (octanoic acid) to C₃₀ (triacontanoic acid) with a predominance of even numbered C-chain lengths were observed both in the litter and soil extracts. Similar values were previously reported by Jandl *et al.* (2005) for Ap horizon of a Phaeozem with long-term cropping of rye and maize. The most abundant fatty acids present in the samples were C₁₆, C₂₄, C₂₆ and C₂₈. The chromatograms of the extracts from litter showed maxima at C₁₆ and C₁₈ and, the presence of these in the upper soil layer (0-10 cm) is indicative of a direct contribution from the above vegetation (litter) to the soil lipidic composition (Fig. 2). Unsaturated C_{18:1} and C_{18:2} fatty acids were only observed in litter samples and soil samples under forest (0-10 cm) that may be indicative of a lower degradation rate. In fact, these aliphatic biopolymers can selectively be preserved in the soil with little or no alteration (Almendros *et al.*, 1996). Short chain (C₁₅ and C₁₇) fatty acids were observed both in the

1 litter and the surface soil layers (0-10 cm). The occurrence of short chain alcanoic acids in
2 the 60-100cm depth under forest suggests higher microbial activity under this land use
3 system once, the presence of these compounds, generally considered as bacterial markers
4 (Meyers & Ishiwatari, 1993).

5

6

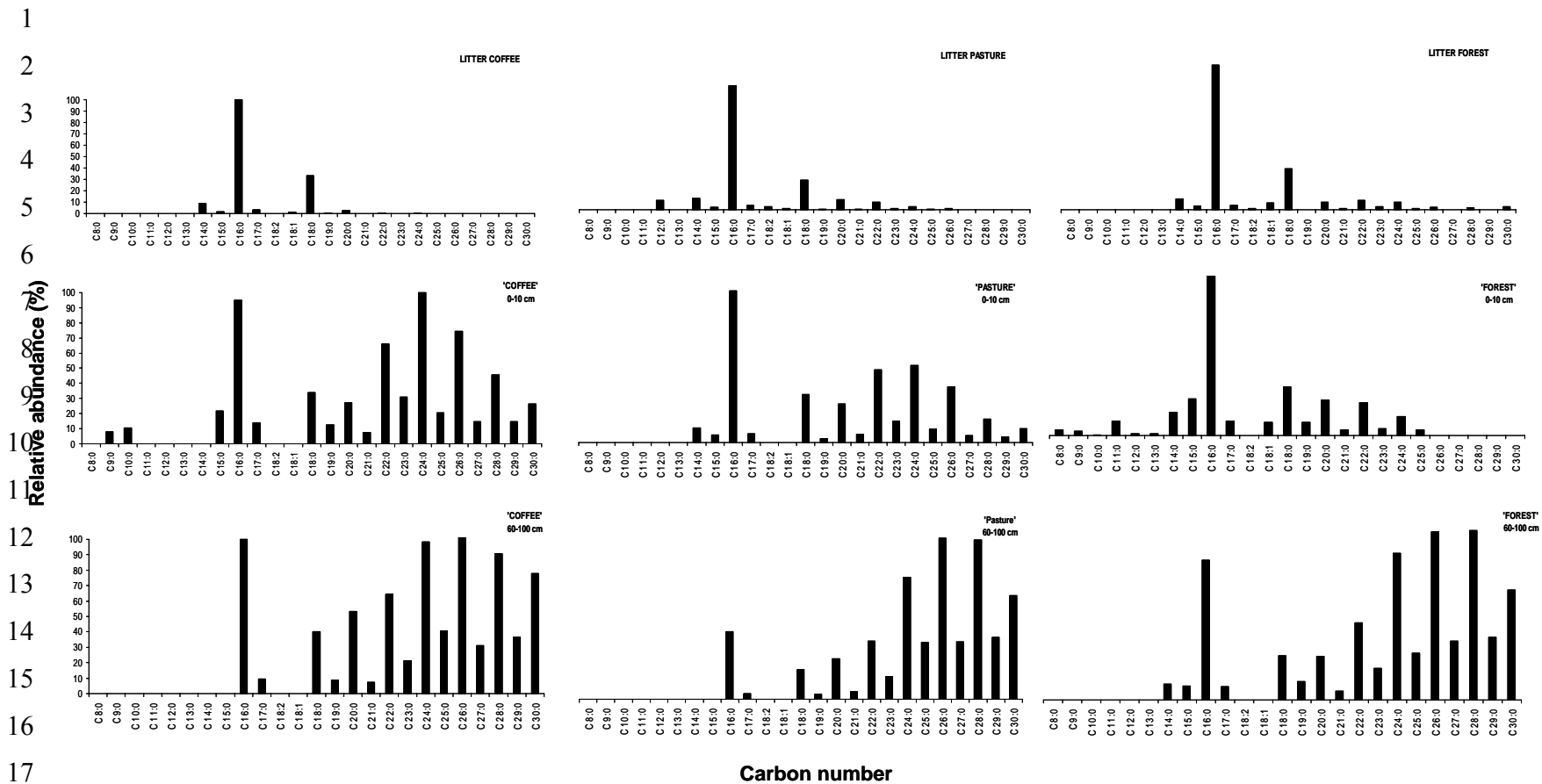


Fig. 2. Relative distributions of carboxylic acids extracted from litter and soils analysed, normalized to the most abundant compound.

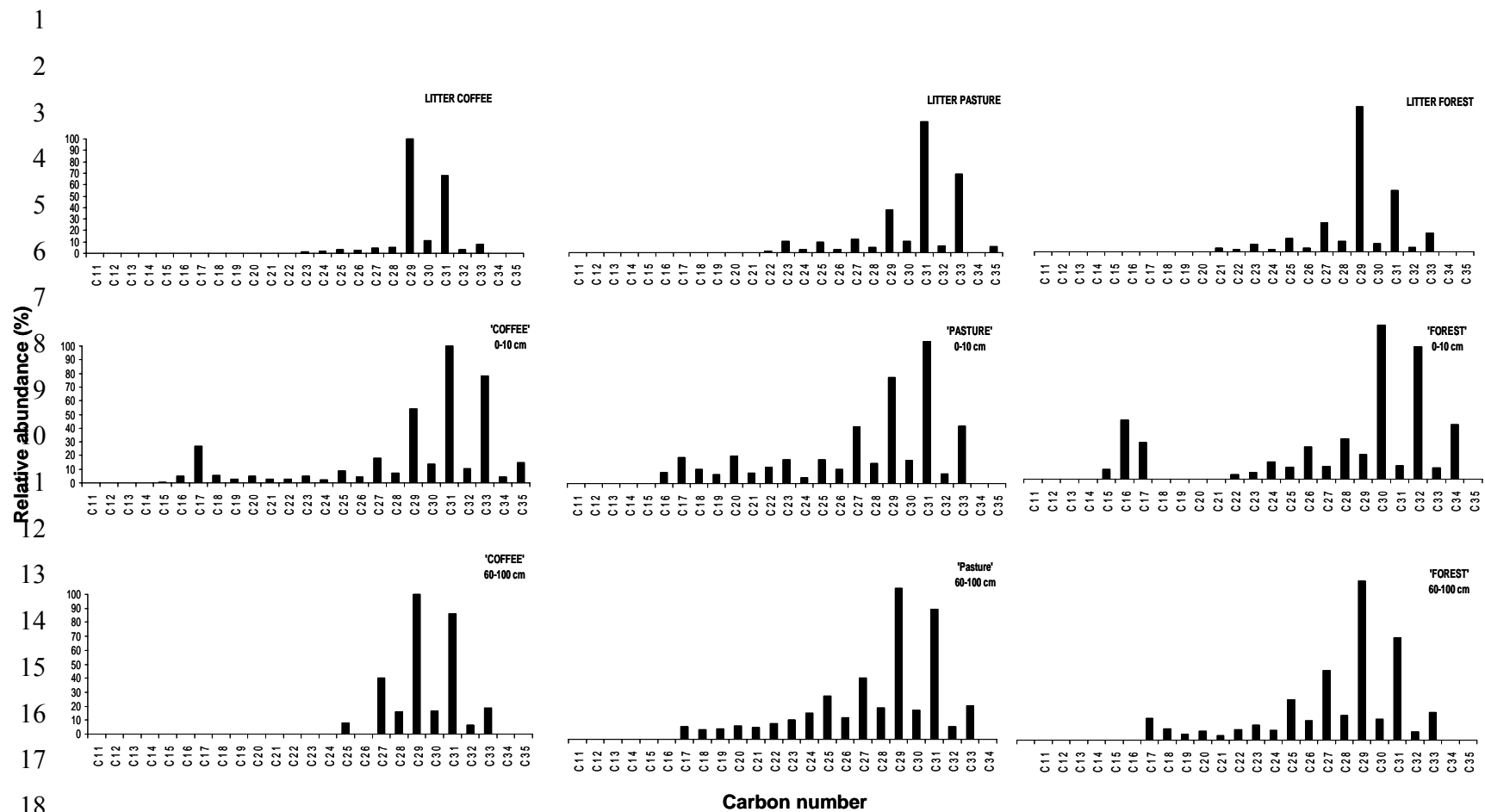


Fig. 3. Relative distributions of *n*-alkanes extracted from litter and soils analysed, normalized to the most abundant compound

1 In contrast with the litter lipid composition the soil fatty acids presents a bimodal
2 distribution in the range C₁₈ - C₃₀, which is more evident in the deeper layers (60-100 cm).
3 Thus, there was higher long chain fatty acids content in the 60-100cm depth and those are
4 typical biomarkers of higher plants (Kolattukudy 1980). According to Nierop et al. (2005),
5 alcanoic acids in soils may originate from a) plants and/or insects, once bacteria and fungi
6 preferentially produce short chain fatty acids; b) oxidation of long chain alcohols, and; c)
7 leaching down the soil profile.

8 The increase in total lipid contents in the soil under coffee at 60-100 cm depth (Fig. 1-
9 B), may be a consequence of increase in lipid compounds of longer chain length (Figs. 2 and
10 3).

11 The distribution of the n-alkanes was determined by selective detection of the
12 m/z=71. This compounds constitute a vastly complex mixture whose distribution pattern from
13 C₁₄ – C₃₅ (Fig.3). In soil samples, at 0-10 cm, the distribution of n-alkanes is bimodal with
14 maxima at C₁₅, C₁₇ and C₂₉, C₃₁. The long chain compounds in the C₂₃-C₃₅ range exhibit an
15 odd-over-even C number. This pattern distribution has been previously found in soils
16 (Amblès et al., 1989; Bull et al., 1998). The predominance of the long chain n-alkanes odd-
17 carbon-numbered indicate a typical contribution from higher plant waxes and, the short chain
18 C-compounds are commonly used as bacterial biomarkers (Moucawi et al., 1981; Amblès et
19 al., 1989; Tan 2003). Several authors have frequently used the alcanoic acids C_{15:0} and
20 C_{17:0} as biomarkers for soil bacteria (Tunlid and White, 1992; Vestal and White, 1989;
21 Zelles et al., 1995). This way, it is possible to observe that, in both depths of 0-10cm and 60-
22 100cm, there is higher bacterial activity in the soil profile under forest when compared to
23 tillage systems (Fig 2). This suggests there may be differences in the microbial community
24 composition when soil use changes.

25 The differences in the n-fatty acids and n-alkanes distributions in relation to the
26 different soil uses (mainly at 0-10 cm) (Figs. 2 and 3), indicates that variations in soil lipidic
27 composition is associated to vegetation type. In lipids extracted the forest and coffee litter, we
28 observed that C₂₉ and C₃₁ were predominant while C₃₁ and C₃₃ compounds dominated
29 pastures. The C₂₉, C₃₁ and C₃₃ distribution along the soil profile evidence a clear vegetation
30 (litter) contribution concerning n-alkanes. In the soil under pasture a higher contribution of
31 the homologue C₃₁ is observed, whereas in the soil under coffee the C₂₉ is more abundant.
32 The dominance C₃₁ n-alkanes observed (at 0-10 cm) is indicative of an important contribution
33 by (grass) roots (Naafs et al., 2004). However, there is the possibility that n-alkanes
34 compounds at 60-100cm depth in soil under pastures does not originate directly from present

1 grass vegetation but from previous (40-50 years ago) forest cover. Our data also suggest that
 2 in the most conservative systems like pasture and forest there is a major preservation of
 3 shorter chain *n*-alkanes with depth (Fig.3). As a result, the *n*-alkanes distribution in the less
 4 altered systems is indicated by a better preservation of compounds derived from microbial
 5 degradation.

6 We observe in Fig. 2 that the highest contribution of saturated alkanolic acids in litter
 7 comes from the compounds C_{16:0} and C_{18:0} (palmitic and stearic, respectively). Soil under
 8 forest presented higher proportion of unsaturated alkanolic acids as compared to soils under
 9 pasture and coffee (Table 2).

10
 11
 12
 13
 14
 15

Table 2

Semi-quantitative analysis of main compounds of soil and litter lipids extractable of humic
 Latosol under coffee, pasture and natural forest. (percentage of total peak area of the
 chromatogram)

| Compounds | Coffee | | | Pasture | | | Forest | | |
|--|------------------------------------|-------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|---------------------|-----------------------|-------|--------|
| | Litter | 0-10 ^a | 60-100 ^a | Litter | 0-10 ^a | 60-100 ^a | Litter | 0-10 | 60-100 |
| Saturated <i>n</i> -alkanoic acids | 66.36 | 64.20 | 51.45 | 59.31 | 49.14 | 56.43 | 33.45 | 65.63 | 63.91 |
| Unsaturated alkanolic acids | 11.42 | 1.85 | 1.51 | 29.74 | 8.45 | 0.71 | 15.50 | 15.65 | 4.48 |
| <i>n</i> -Alkanols | 2.99 | 4.21 | 9.26 | 0.97 | 6.22 | 4.23 | 2.53 | 2.51 | 5.65 |
| <i>n</i> -Alkanes | 3.74 | 3.27 | 14.07 | 3.03 | 2.88 | 15.04 | 31.61 | 2.31 | 7.17 |
| Aldehydes | 3.36 | 1.09 | 1.58 | - | 2.80 | 0.88 | 0.40 | 0.06 | 3.27 |
| Ketones | 1.94 | - | 3.44 | 1.87 | 0.21 | 1.66 | 0.39 | 0.47 | 2.64 |
| Other Compounds | 10.19 | 27.24 | 18.69 | 5.08 | 30.30 | 21.05 | 16.12 | 13.37 | 12.88 |
| <i>n</i> -alkanoic C ₂₀₊ / C ₂₀₋ | 0.04 | 1.20 | C ₂₀₊ / nd | 0.07 | 0.10 | 3.40 | 0.12 | 0.37 | 2.30 |
| <i>n</i> -alkanes C ₂₀₊ / C ₂₀₋ | C ₂₀₊ / nd ^b | 7.20 | C ₂₀₊ / nd | C ₂₀₊ / nd | 4.10 | 10.76 | C ₂₀₊ / nd | 1.90 | 10.00 |

16 ^a Depth in cm; ^b no detected.

17

18 Forest litter displayed a narrower proportion between saturated and unsaturated
 19 alkanolic acids, probably due to characteristics and biodiversity of plants in natural
 20 environments. Under pasture we observed similar behavior, what may be explained by an
 21 intrinsic characteristic of *Melinis minutiflora* and, or, by the presence of weeds in these
 22 degraded pastures. Although litter under pasture unsaturated alkanolic acids in a similar
 23 proportion to that observed under forest, we did not find an effective contribution of these
 24 compounds to the content in soil, that means that under forest there was a better preservation
 25 of this compounds originated from litter, even at 60-100cm depth. On the other hand, the litter
 26 from *Coffea arabica* was characterized by higher proportions (66.36%) of saturated alkanolic
 27 acids relative to the unsaturated compounds (11.42%) (Table 2)

1 The lower ratio of long-chain vs short-chain fatty acids (Table 2) with depth is
2 explained by the occurrence of a selective degradation of short chain homologous (Tan, 2003;
3 Jandl *et al.*, 2005). The increase in this ratio reflect differential contributions of higher plant
4 acids (Quenea *et al.*, 2004) whereas the accumulation of long-chain compounds in depth 60-
5 100 cm (Fig. 2 and Fig. 3) can be attributed to pedogenetics processes.

6 The silylated lipid fractions reveal the presence of n-alkanols in the samples from litter
7 and soil (Table 2), and their accumulation in depth. These n-alkanols are present in
8 epicuticular waxes and commonly observed in soil lipids (van Bergen *et al.*, 1997; Quenea *et*
9 *al.*, 2004). In the case of soil under *M. minutiflora*, we observed considerable contribution
10 from superficial root system in the accumulation of n-alkanols at 0-10 depth. The deepest root
11 system of coffee, similar to that of forest trees, contributed to the building of those
12 compounds at 60-100cm depth. It is observed that in the soil under forest the distribution is
13 more homogeneous being indicative of a more stable biogeochemical cycle.

14 The increase in free ketones at 60-100cm may indicate vertical transport of these
15 compounds down the soil profile. This behavior was also observed for n-alkanes (Table 2).
16 Thus, we observed that n-alkanes and ketones are considerably mobile in these humic
17 Latosols. Nevertheless, these ketones can be considered as humification products but a
18 mechanism responsible for their formation has not yet been elucidated (Quenea *et al.*, 2004).

19 4. CONCLUSIONS

20 The lipid data obtained provide new detailed molecular insights into the no-humified SOM
21 the humic Latosols. The differences in lipids content and composition between the forest,
22 pasture and coffee can be ascribed to differences input of fresh organic materials. The
23 incorporation of stable long-chain compounds in depth was indicated by lipid analysis,
24 highlighting the importance of aliphatic biopolymers in the bulk structure of soil organic
25 matter. This process suggested occurrence of selective preservation of such molecules during
26 humification, mainly how no-humified alkylic material (waxes). Qualitative changes in free
27 lipid assemblages were also observed under different land uses were in the most conservative
28 systems like pasture and forest there is a major preservation of shorter chain n-alkanes with
29 depth.

1 **5. ACKNOWLEDGEMENTS**

2 This work has been financed in part by The National Council for Scientific and Technological
3 Development (CNPq) and The State of Minas Gerais Research Foundation (FAPEMIG),
4 Brazil. We would also like to express our thanks to Trinidad Verdejo (IRNAS-CSIC) for an
5 excellent technical assistance.

6 **6. REFERENCES**

- 7 Almendros, G., M.E. Guadalix, F.J. Gonzalez-Villa, Martin, F., 1996. Preservation of
8 aliphatic macromolecules in soil humin. *Organic Geochemistry* 24, 651–659.
- 9 Almendros, G., Tinoco, P., González-Vila, F.J., Lüdemann, H.D., Sáenz, J., Velasco, F., 2001.
10 ¹³C-NMR of forest soil lipids. *Soil Science* 166, 186-196.
- 11 Amblès, A., Magnoux, P., Jambu, P., Jacquesy, R., Fustec, E., 1989. Effects of addition of
12 bentonite on the hydrocarbon fraction of a podzol soil (A1) horizon. *Journal of Soil*
13 *Science* 40, 685-694.
- 14 Bull, I.D., van Bergen, P.F., Poulton, P.R., Evershed, R.P., 1998. Organic geochemical
15 studies of soils from the Rothamsted classical experiments-II. Soils from the Hoosfield
16 Spring barley experiment treated with different quantities of manure. *Organic*
17 *Geochemistry* 28, 11–26.
- 18 Chefetz, B., Tarchitzky, J., Deshumukh, A.P., Hatcher, P.G., Chen, Y., 2002. Structural
19 characterization of soil organic matter and humic acids in particle-size fractions of an
20 agricultural soil. *Soil Science Society of America Journal* 66, 129-141.
- 21 Chen, J., Ferris, H., Scow, K.M., Graham, K.J., 2001. Fatty acid composition and dynamics of
22 selected fungal-feeding nematodes and fungi. *Comparative Biochemistry and Physiology*
23 *- Part B* 130, 135–144.
- 24 Jandl, G., Leinweber, P., Schulten, H., Eusterhues, K., 2004. The concentrations of fatty acids
25 in organo-mineral particle-size fractions of a Chernozem. *European Journal of Soil*
26 *Science* 55, 459–469.
- 27 Jandl, G.; Leinweber, P., Schulten, H. R., Ekschmitt, K., 2005. Contribution of primary
28 organic matter to the fatty acid pool in agricultural soils. *Soil Biology & Biochemistry* 37,
29 1033-1041.
- 30 Jandl, G., Leinweber, P., Schulten H. R., 2007. Origin and fate of soil lipids in a Phaeozem
31 under rye and maize monoculture in Central Germany. *Biology Fertility Soils* 43, 321-
32 332.

- 1 Jansen, B., Nierop, K.G.J., Hageman, J.A., Cleef, A.M., Verstraten, J.M., 2006. The straight-
2 chain lipid biomarker composition of plant species responsible for the dominant biomass
3 production along two altitudinal transects in the Ecuadorian Andes. *Organic*
4 *Geochemistry* 37, 1514-1536.
- 5 Ker, J. C., 1999. Latossolos do Brasil: uma revisão. *Geonomos* 5, 17-40.
- 6 Kolattukudy, P.E., 1980. Biopolyester membranes of plants: cutin and suberin. *Science* 208,
7 990–1000.
- 8 IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1993. **Mapa de vegetação do Brasil.**
9 Rio de Janeiro. (Map). <http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/>
- 10 Marseille, F., Disnar, J.R., Guillet, B., Noack, Y., 1999. n-Alkanes and free fatty acids in
11 humus and A1 horizons of soils under beech, spruce and grass in the Massif-Central
12 (Mont-Lozère), France. *European Journal of Soil Science* 50, 433–441.
- 13 Meyers, P.A., Ishiwatari, R., 1993. Lacustrine organic geochemistry – an overview of
14 indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. *Organic*
15 *Geochemistry* 20, 867–900.
- 16 Naafs, D.F.W., van Bergen, P.F., Boogert, S.J., Leeuw, J.W., 2004. Solvent-extractable lipids
17 in an acid andic forest soil; variations with depth and season. *Soil Biology &*
18 *Biochemistry* 36, 297-308.
- 19 Moucawi, J., Fustec, E., Jambu, P., Amblès, A. and Jacquesy, R., 1981. Bio-oxidation of
20 added and natural hydrocarbons in soils: effect of iron. *Soil Biology and Biochemistry* 13,
21 335-342.
- 22 Quenea, K., Derenne, S., Largeau, C., Rumpel, C., Mariotti, A., 2004. Variation in lipid
23 relative abundance and composition among different particle size fractions of a forest soil.
24 *Organic Geochemistry* 35, 1355-1370.
- 25 Schulten, H.-R., Schnitzer, M., 1990. Aliphatics in soil organic matter in fine-clay fractions.
26 *Soil Science Society American Journal* 54, 98–105.
- 27 Tan, K.H., 2003. *Humic matter in soil and environment*, Marcel Dekker, New York.
- 28 van Bergen, P.F., Bull, I.D., Poulton, P.R., Evershed, R.P., 1997. Organic geochemical
29 studies of soils from the Rothamsted classical experiments – I. Total lipid extracts,
30 solvent insoluble residues and humic acids from Broadbalk Wilderness. *Organic*
31 *Geochemistry* 26, 117–135.
- 32 Resende, M., Lani, J.L.; Rezende, S.B., 2002. Pedossistemas da Mata Atlântica:
33 considerações pertinentes sobre a sustentabilidade. *Revista Árvore*, **26**: 261-269.

1 Tunlid, A., White,D.C., 1992. Biochemical analysis of biomass community structure,
2 nutritional status, and metabolic activity of microbial communities in soil. In: Stotzky, D.
3 G., Bollag, J.M.(Eds), Soil Biochemistry. Marcel Dekker, INC New York, pp. 229-262.
4 Vestal, J.R., White, D.C., 1989. Lipid analysis in microbial ecology. Bioscience 39, 535-541.
5 Weisenber, G.L.B., Schwark, L., 2006. Carboxylic acid distribution patterns of temperate C₃
6 and C₄ crops. Organic Geochemistry 37, 1973-1982.
7 Zelles, L., Rackwitz, Q.Y. Bai, Beck, T., Beese, F., 1995. Discrimination of microbial
8 diversity by fatty acid profiles of phospholipids and lipopolysaccharides in differently
9 cultivated soils. In: Collins, H.P., Robertson, G.P., Klug, M.J. (Eds.), The significance
10 and regulation of soil biodiversity. Kluwer Academic Publishers, pp. 115-122.
11
12
13
14
15

1 III - Caracterização de Ácidos Húmicos e Fúlvicos em Horizontes A Húmicos
2 de Latossolos de Minas Gerais.

3 **RESUMO**

4 O objetivo deste trabalho foi estudar as mudanças estruturais de substâncias húmicas
5 envolvidas no processo de humificação em Latossolos com horizonte A húmico. Para tanto,
6 ácidos húmicos e fúlvicos (fração não adsorvida e adsorvida em resina XAD-8) foram
7 isolados de seis Latossolos Húmicos de Minas Gerais sob diferentes coberturas vegetais.
8 Foram coletadas amostras superficiais (0-10 cm) e subsuperficiais (60-100 cm) dentro do
9 horizonte A húmico. As amostras purificadas foram caracterizadas através da análise
10 elementar, espectroscopia no visível, espectroscopia no infravermelho com transformada de
11 fourier (FTIR) e dos estudos do ^{13}C - NMR em polarização cruzada (CP) e *spinning* do ângulo
12 mágico (MAS). Estruturalmente a fração fúlvica não adsorvida em XAD-8 (AFs-1)
13 diferenciou-se dos ácidos fúlvicos retidos nesta resina (AFs-2), apresentando maiores teores
14 de H e O e, maior razão E_4/E_6 . Ácidos húmicos (AHs) possivelmente apresentam diferentes
15 graus de pigmentações no perfil, sendo que a 60-100 cm os pigmentos melânicos podem ser
16 de origem fúngica. Espectros de FTIR revelaram que AFs-1 está composta principalmente por
17 polissacarídeos e compostos de lignina. Os AHs extraídos da região de cerrado apresentaram
18 menor processo de descarboxilação, desidratação, condensação e aromatização que aqueles
19 extraídos em regiões de mata atlântica. Diferenças estruturais em função da textura do solo
20 foram observadas nos espectros de FTIR e ^{13}C NMR. Os AH apresentaram rota de
21 humificação no sentido da diminuição de grupamentos alquílicos e aumentos em aromáticos.
22 As técnicas de caracterização utilizadas permitiram verificar diferenças na distribuição do
23 compartimento humificado desses solos, principalmente com relação à profundidade no perfil,
24 onde para cada compartimentos húmicos houve diferentes processos de movimentação e
25 transformação.

26
27
28
29
30
31

Palavras Chaves: Substâncias húmicas, solos tropicais, FTIR, ^{13}C , humificação

1 SUMMARY: CARACTERIZAÇÃO DE ÁCIDOS HÚMICOS E FÚLVICOS EM
2 HORIZONTES A HÚMICOS DE LATOSSOLOS DE MINAS GERAIS.

3 The aim of this paper was to study the structural changes of humic substances involved in
4 the humification process into humic Latosol horizon. Humic and fulvic acids (fraction
5 adsorbed and no-adsorbed at XAD-8 resin) they were isolated from six humic Latosol of
6 Minas Gerais, Brazil, under different vegetable coverings. Topsoil samples were collected (0-
7 10 cm) and subsoil (60-100 cm) into humic horizon. The purified samples were characterized
8 through the elemental analysis, UV-visible spectroscopic, Fourier transformed infrared
9 (FTIR) and by studies the nuclear resonance of ^{13}C in crossed polarization and spinning of the
10 magic angle (^{13}C – NMR). The results revealed that the fulvic fraction no-adsorbed in XAD-
11 8 resin (FAs-1) was structurally differed the fulvic acids adsorbed in this resin (FAs-2). The
12 FAs-1 presenting larger contents of H and O and larger E4/E6 ration. Humic acids (HAs)
13 possibly present different degrees of pigmentations in the profile, and at 60-100 cm the
14 melanins pigments can being of fungi origin. The FTIR spectra revealed that FAs-1 is
15 composed mainly the polysaccharides and lignin compounds derived. The HAs extracted of
16 Savanna presented less process the descarboxilation, dehydration, condensation and
17 aromatization, that those extracted in Atlantic Forest site. Structural differences in function
18 the soil texture were observed in the FTIR and ^{13}C NMR spectra. The ^{13}C -NMR results
19 showed one humification route in the direction the decrease of alkylic groups and increase of
20 aromatic groups. The analytical techniques used in this study allowed to verify differences in
21 the humified compartment those humic Latosol, mainly regarding the depth in the profile,
22 where for each humic compartments presented different movement processes and
23 transformation.

24
25
26 **Key words:** Humic substances , tropical soils, FTIR, ^{13}C -NMR, humification
27
28
29
30
31

1 1 - INTRODUÇÃO

2 Em solos tropicais, há a necessidade de se conhecer melhor as mudanças estruturais da
3 matéria orgânica do solo (MOS) decorrentes dos processos de humificação. Latossolos
4 Húmicos são solos altamente intemperizados que apresentam horizonte A espesso (de até 200
5 cm), ricos em matéria orgânica, sendo encontrados principalmente nas regiões Sudeste e Sul
6 do Brasil (Ker 1999). A ocorrência desses solos está quase sempre relacionada a ambientes
7 distróficos, álicos, áreas de relevo movimentado e de altitude. O horizonte A desses solos
8 estoca em média 30,26 kg m⁻² de C (Andrade et al. (2003), sendo que, se considerarmos
9 variações na profundidade desse horizonte entre 60-200 cm, os mesmos podem ser
10 considerados importantes reservas de C nos trópicos. A hipótese de serem solos
11 remanescentes de superfícies estáveis e antigas, submetidos a vários ciclos de intemperismo,
12 de pedogênese, de ação da fauna do solo e de cobertura vegetal, é suportada por Silva &
13 Vidal-Torrado (1999). Esses mesmos autores concluíram que o espessamento desses
14 horizontes húmicos resulta da adição, transformação e a translocação de materiais orgânicos
15 no perfil do solo pela ação da fauna. Assim, por se tratarem de solos profundos,
16 intemperizados e ricos em C, são relictos chaves para o conhecimento das rotas de
17 humificação em ecossistemas tropicais.

18 A natureza do húmus e a distribuição das frações humificadas variam com o clima,
19 cobertura vegetal, acidez, presença ou ausência de bases, drenagem e textura do solo (Zech et
20 al., 1997; Volkoff & Cerri (1988), fatores esses que influenciarão um conjunto de reações de
21 descarboxilação, desidratação, oxidação e hidrólise em diferentes fases do processo de
22 humificação. Essas fases podem ser estudadas através das modificações estruturais do húmus
23 ao longo do perfil no solo principalmente com relação às distintas distribuições das espécies
24 de carbono (C) (Zech et. al., 1997). Podemos dizer, que o entendimento desses processos em
25 Latossolo Húmicos poderia contribuir significativamente para elucidar vários aspectos
26 relacionados com a humificação da MOS nos trópicos.

27 O avanço das análises instrumentais, principalmente os métodos espectroscópicos, tem
28 possibilitado caracterizações mais definidas da estrutura da MOS. A técnica ¹³C CP-MAS
29 NMR (ressonância magnética nuclear do ¹³C com polarização cruzada e rotação em torno do
30 ângulo mágico) tem sido amplamente usada nos estudos das substâncias húmicas, permitindo
31 avanços consideráveis na compreensão da composição estrutural de ácidos húmicos e fúlvicos
32 (González-Vila et al., 1976; Preston, 1996; Knicker et. al., 2006). Em complementação aos

1 dados por ¹³C NMR, as análises de FTIR tem contribuído para a identificação de grupos
 2 funcionais, como carboxílicos, hidroxílicos, polissacarídeos, aminas e outros (Stevenson
 3 1994; Piccolo & Stevenson 1982). Nos estudos de FTIR, recentemente tem sido usado a
 4 análise de cluster para identificação e diferenciação de grupos de compostos (Pappas et al.,
 5 2008). Van Dijk & Van Hulle apud Krier et al. (2007) propuseram o uso de agrupamentos
 6 hierárquicos em função da similaridade mutua entre as variáveis espectrais. Muitos autores
 7 têm utilizados índices derivativos provenientes da espectroscopia do UV-Visível para avaliar
 8 o grau de humificação de substâncias húmicas extraídas de materiais orgânicos de diversas
 9 origens (Chen et al., 1977; Plaza et al., 2007)

10 Para este trabalho foram caracterizados ácidos húmicos (AH) e fúlvicos (AF) de
 11 horizontes A húmicos de Latossolos, com o objetivo de comprovar a hipótese de que existem
 12 diferenças na distribuição de formas de C no perfil de solo em função dos processos
 13 humificação.

14 2 – MATERIAL E MÉTODOS

15 2.1 – Solos

16 O trabalho foi realizado com amostras de Latossolo Húmico, coletado em seis áreas no
 17 Estado de Minas Gerais (Tabela 1). Características físico-químicas do solo estão apresentadas
 18 na Tabela 2. Em função da policromia apresentada por esses horizontes, foram coletadas
 19 amostras superficiais (0-10 cm) e subsuperficiais (60-100) de forma a caracterizar o material
 20 orgânico no perfil, contemplando o gradiente de pigmentação apresentado. As amostras foram
 21 secas ao ar, peneiradas a 2 mm e submetidas ao procedimento de extração e purificação das
 22 substâncias húmicas.

23

24 **Tabela 1** – Características e identificação das áreas estudadas

| Amostras ^a | Vegetação | Localização | Altitude a.s.l. (m) | Clima (Köppen) | Litologia |
|-----------------------|---|--------------|------------------------|-------------------|-------------------|
| LH1 | Café (<i>Coffea arabica</i> – 12 anos) | Sericita –MG | 750 | Cwb | Migmatito |
| LH2 | Pastagem (<i>Melinis minutiflora</i> – 40 anos) | Sericita-MG | 750 | Cwb | Migmatito |
| LH3 | Fragmento de Mata Atlântica | Sericita-MG | 750 | Cwb | Migmatito |
| LH4 | Samambaia (<i>Pteridium aquilinum</i>) | Sericita-MG | 1100 | Cwb | Migmatito |
| LH5 | Fragmento de Mata Atlântica | Mutum-MG | 620 | Cwa | Gnaisse-Migmatito |
| LH6 | Cerrado | Araçuaí-MG | 750 | Aw | Gnaisse-Quartzito |

25 ^a LH = Latossolo húmico

26

27

28

1

2 **Tabela 2** – Características físico-químicas dos solos estudados

| Amostras ⁽¹⁾ | pH (H ₂ O) | COT (%) | NT (%) | CTC (cmol _c kg ⁻¹) | Areia | Silte | Argila |
|-------------------------|--------------------------|------------|-----------|--|-------|-------|--------|
| 0-10 cm | | | | | | | |
| LH1 | 5,1 | 3,34 | 0,26 | 12,40 | 33 | 11 | 56 |
| LH2 | 4,9 | 3,55 | 0,26 | 12,60 | 29 | 7 | 64 |
| LH3 | 4,8 | 2,61 | 0,27 | 11,70 | 33 | 11 | 56 |
| LH4 | 5,67 | 4,23 | 0,36 | 15,52 | 37 | 29 | 34 |
| LH5 | 5,37 | 4,74 | 0,29 | 15,45 | 59 | 12 | 29 |
| LH6 | 4,23 | 5,11 | 0,24 | 16,86 | 41 | 6 | 53 |
| 60-100 cm | | | | | | | |
| LH1 | 4,8 | 2,77 | 0,15 | 11,24 | 33 | 11 | 56 |
| LH2 | 5,1 | 3,03 | 0,18 | 11,03 | 29 | 7 | 64 |
| LH3 | 5,0 | 2,67 | 0,21 | 10,24 | 33 | 11 | 56 |
| LH4 | 5,47 | 4,66 | 0,30 | 14,65 | 37 | 29 | 34 |
| LH5 | 5,53 | 3,67 | 0,25 | 15,72 | 61 | 12 | 27 |
| LH6 | 4,33 | 2,70 | 0,09 | 11,03 | 40 | 4 | 56 |

3 ⁽¹⁾ Para identificação das amostras ver Tabela 1.

4

5 **2.2 – Extração e purificação dos ácidos húmicos e fúlvicos**

6 Os solos foram submetidos a tratamento prévio com diclorometano/metanol para
7 remoção dos compostos lipídicos livres, de forma a evitar sua extração conjunta com as
8 frações alcalinas solúveis. Em seguida, para extração e purificação dos AHs e AFs foi
9 utilizado método proposto pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS –
10 sigla em inglês) de acordo com Hayes (1985) e Swift (1996). Foram adicionados 200 mL de
11 NaOH 0.1 mol L⁻¹ em frascos contendo 20 g de amostra de solo sob presença de N₂ e agitados
12 por 18 h a 25 °C. Solo e solução foram separados por centrifugação (10.000 rpm a 20 min) e a
13 solução sobrenadante foi transferida para béquer de vidro. Esse processo de basificação e
14 separação foi repetido cinco vezes. Para separar os AH dos AF, todo o sobrenadante foi
15 acidificado a pH 1-1.5 com HCl. Os AF obtidos após centrifugação e filtragem foram
16 reservados para posterior purificação. Os AH precipitados foram redissolvidos adicionando
17 KOH 0.1 mol L⁻¹ sob presença de N₂ e, adicionando KCl sólido até a concentração de 0,3 mol
18 L⁻¹. Em seguida foram centrifugados por 30 min a 12.000 rpm. Após reprecipitados com HCl
19 e o sobrenadante descartado, seguiu-se com processo de purificação dos AH através da
20 redissolução durante 2 h com NaOH 0.1 mol L⁻¹ seguido por centrifugação por 20 min a
21 12.000 rpm. O processo foi repetido três vezes. Os AH precipitados foram resuspenso em
22 solução 0.5% HCl / 10% HF (w/v) e agitados durante 2 h a 25 °C. Em seguida foram
23 centrifugados por 10 min a 5.000 rpm, sendo o processo repetido cinco vezes. Os AH
24 purificados foram transferidos para tubos de diálise D-0405 (Sigma-Aldrich) e dializados

1 contra água destilada até teste negativo para cloretos com AgNO_3 . Após diálise foram
2 congelados e liofilizados.

3 Para a purificação dos AF foi preparada uma coluna de vidro (30 mm d.i., 300 mm
4 altura) preenchida com resina Amberlite XAD-8 (Rohm & Hass, Co), previamente lavada
5 com metanol, NaOH 0.1 mol L^{-1} , HCl 0.1 mol L^{-1} e água destilada, respectivamente. Os AF
6 (100 mL) foram aplicados na coluna. A fração não adsorvida (AF-1) foi coletada e reservada,
7 não sendo descartada como comumente é feita nos métodos tradicionais. Em seguida, a
8 coluna foi lavada sequencialmente com 100 mL de HCl 0.1 mol L^{-1} e 100 mL de água
9 destilada. Em seguida, os ácidos fúlvicos adsorvidos (AF-2) foram eluídos com 100 mL de
10 NaOH 0.1 mol L^{-1} sendo coletados imediatamente em um béquer contendo resina de troca
11 catiônica, Dowex-50 (Dow Chemical Co.) em quantidade suficiente para manter o pH
12 controlado entre 1 e 2. A fração AF-1 foi dialisada em sacolas de celofane, contra água
13 destilada até teste negativo com AgNO_3 . As frações AF-1 e AF-2 foram concentradas em
14 rotavapor, congeladas e liofilizadas.

15 **2.3 - Caracterização dos AH e AF**

16 As amostras purificadas de AH, AF-1 e AF-2 foram caracterizadas usando Análise
17 Elementar, Espectroscopia no Visível, FTIR (infravermelho com transformada de Fourier),
18 NMR do ^{13}C (ressonância magnética nuclear do ^{13}C – somente AH). A composição elementar
19 (C, N e H) foi determinada em um microanalisador Perkin Elmer CHNS-O 2400, usando
20 aproximadamente 2 mg da amostra. Os valores para Oxigênio (O) foram calculados por
21 diferença.

22 As densidades ópticas de absorção no visível foram obtidas a partir de solução de
23 NaOH 0.1 mol L^{-1} contendo a amostra em concentração de 200 mg L^{-1} (Chen et al., 1977;
24 Kononova, 1982) em espectrômetro Shimadzu UV-160. Para determinar a presença de
25 máximos espectroscópicos de baixa intensidade obteve-se a 2ª derivada do espectro, aonde as
26 mudanças na pendente apareceram em formas de vales bem definidos cujas intensidades são
27 proporcionais à dos picos originais.

28 Os espectros de infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro Bruker IFS28 com
29 transformada de Fourier usando pastilhas de brometo de potássio obtidas através de pressão
30 uniforme de misturas de 2 mg de amostra com 200 mg de brometo de potássio. O intervalo de
31 aquisição dos espectros foi de 4000 a 400 cm^{-1} . Para facilitar o reconhecimento de padrões
32 espectrais foi aplicado um procedimento matemático, para aumentar a resolução, baseado na

1 subtração digital do espectro original do múltiplo de sua segunda derivada (Rosenfeld & Kak,
2 1982; Starsinic et al., 1984; Almendros & Sanz, 1992; Filho et al., 1996).

3 Os espectros de ^{13}C NMR dos ácidos húmicos foram adquiridos com um Bruker DSX
4 200, operando a uma frequência de ^{13}C de 50.3 MHz, sob polarização cruzada (CP) com
5 rotação no ângulo mágico (MAS) de 6.8 kHz, utilizando um rotor de zircônio de 7 mm, com
6 cavidade dupla aonde foram colocados os 300 mg da amostra. O tempo de aquisição foi de
7 12,4 ms com um tempo de contato na rampa CP de 1 ms (Knicker & Skjemstad, 2000).

8 3 – RESULTADOS

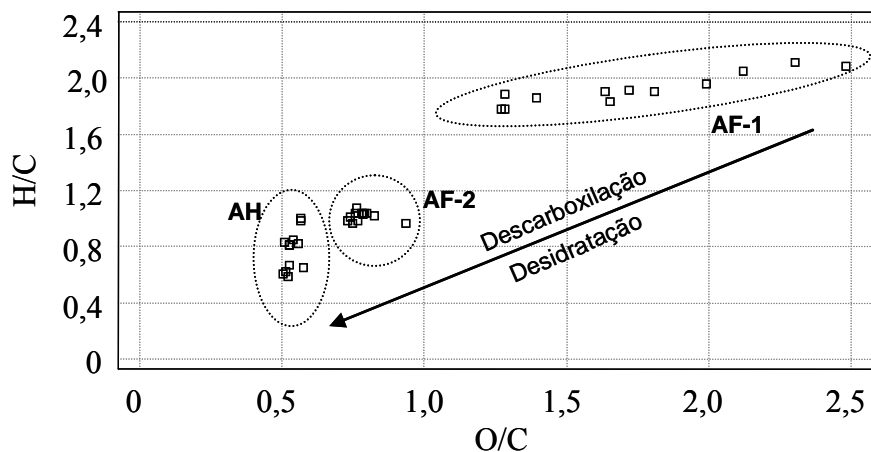
9 3.1 – Análise Elementar

10 A composição elementar e as razões atômicas (C/N, H/C e O/C) dos AHs, AFs estão
11 demonstrados na Tabelas 3. Os AHs e AFs-2 extraídos da superfície apresentaram maiores
12 valores de C, H e N. Dentre as frações analisadas, a AFs-1 caracterizou-se por apresentar
13 menor teor de C e N, possuindo mais H e O em sua estrutura. Os AFs-1 e AFs-2 apresentam
14 composição elementar distintas principalmente no conteúdo de C e H. Os valores mais baixos
15 de AHs para a razão H/C corroborando com o fato de que são compostos mais aromáticos,
16 condensados e descarboxilados, concomitante ao fato de apresentarem baixa razão atômica de
17 O/C. Em detrimento à AFs-2, a fração fúlvica não adsorvida pela XAD-8 (AFs-1), apresentou
18 maiores valores de O/C revelando presença de grupos oxigenados tais como hidroxilas,
19 carboxilas, carbonilas, ésteres e éteres.

20 **Tabela 3** – Análise Elementar de amostras de AHs (Ácidos Húmicos), AFs-1 (Fração Fúlvica
21 não adsorvida em XAD-8) e AFs-2 (Ácidos Fúlvicos). Valores médios de diferentes
22 Latossolos Húmicos. Valores entre parênteses representam o erro padrão da média.

| | C (%) | H (%) | N (%) | O (%) | C/N | H/C | O/C | Cinzas (%) |
|------------------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 0-10 cm | | | | | | | | |
| AHs | 53,8 (±1,10) | 3,65 (±0,52) | 4,52 (±0,45) | 37,99 (±0,80) | 14,03 (±1,52) | 0,82 (±0,13) | 0,53 (±0,02) | 1,05 (±0,45) |
| AFs-1 | 27,87 (±3,84) | 4,53 (±0,44) | 1,75 (±0,38) | 65,85 (±4,55) | 18,95 (±3,22) | 1,96 (±0,10) | 1,81 (±0,36) | |
| AFs-2 | 46,77 (±0,90) | 3,95 (±0,07) | 1,96 (±0,36) | 47,32 (±0,66) | 28,73 (±5,66) | 1,01 (±0,03) | 0,76 (±0,02) | |
| 60-100 cm | | | | | | | | |
| AHs | 54,20 (±1,97) | 3,25 (±0,57) | 3,69 (±1,04) | 38,86 (±0,90) | 18,46 (±5,70) | 0,73 (±0,15) | 0,54 (±0,03) | 1,12 (±0,71) |
| AFs-1 | 29,74 (±5,10) | 4,62 (±0,55) | 1,77 (±0,33) | 63,8 (±5,73) | 20,13 (±4,74) | 1,88 (±0,12) | 1,68 (±0,48) | |
| AFs-2 | 45,37 (±1,68) | 3,85 (±0,25) | 1,86 (±0,47) | 48,92 (±1,94) | 30,20 (±8,48) | 1,02 (±0,04) | 0,81 (±0,06) | |

1 O diagrama de Van Krevelen obtido a partir das relações entre as razões moleculares
2 de H/C e O/C mostra clara diferenciação entre as frações de acordo com o grau de
3 descarboxilação e desidratação das mesmas (Fig.1).



18 **Fig. 1** – Diagrama de Van Krevelen obtido a partir da composição elementar dos ácidos
19 húmicos (AH), AF-1 (Fração Fúlvica não adsorvida em XAD-8) e AF-2 (Ácidos Fúlvicos).

22 3.2 – Espectroscopia no Visível

23 Dado que a feição espectral das substâncias húmicas no uv-visível seja monotoma e
24 disforme em função da sobreposição de picos relativos aos grupos cromóforos (MacCarthy &
25 Rice, 1985), obtivemos a segunda derivada de nossos espectros, avaliando a intensidade dos
26 vales apresentados (Figura 2). Assim, os espectros apresentaram vales bem definidos a
27 aproximadamente 458, 570 e 620 nm. O decréscimo da intensidade de absorção para AHs
28 extraídos na região de Mutum e Araçuaí, indicou diferenças na origem da matéria humificada
29 para esses locais quando comparado à região de Sericita.

30 As amostras de ácidos húmicos apresentaram razão E_4/E_6 (dados não mostrados)
31 dentro do intervalo de 3,6-5,2, em concordância com os valores aportados por [Stevenson](#)
32 [\(1994\)](#), sendo que os valores tenderam a aumentar com a profundidade. Valores médios de
33 17,6 e 9,9 foram encontrados para AF-1 e AF-2, respectivamente.

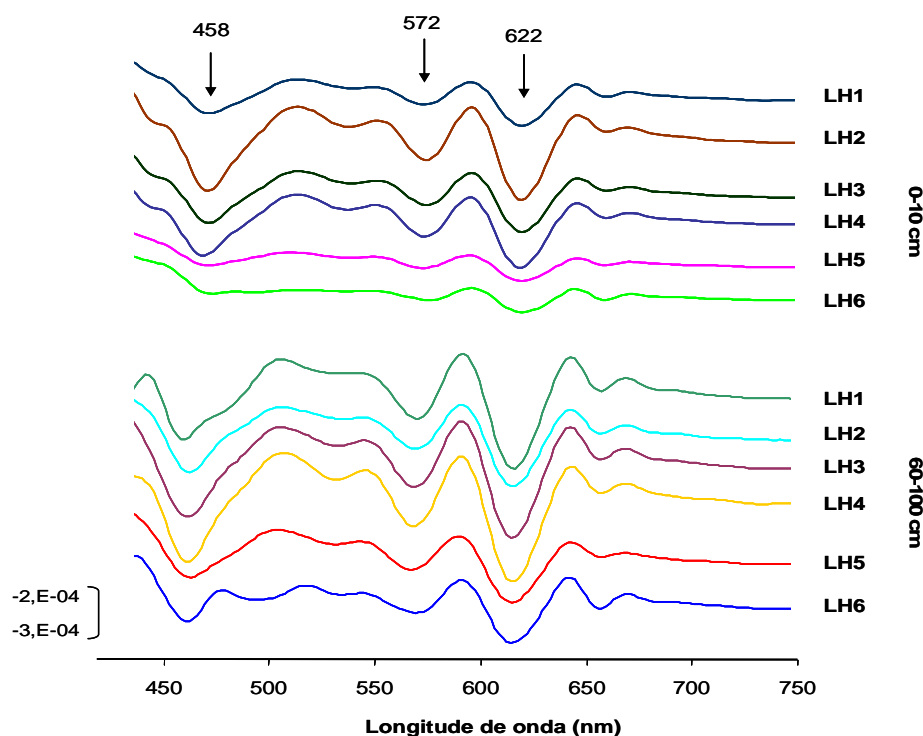
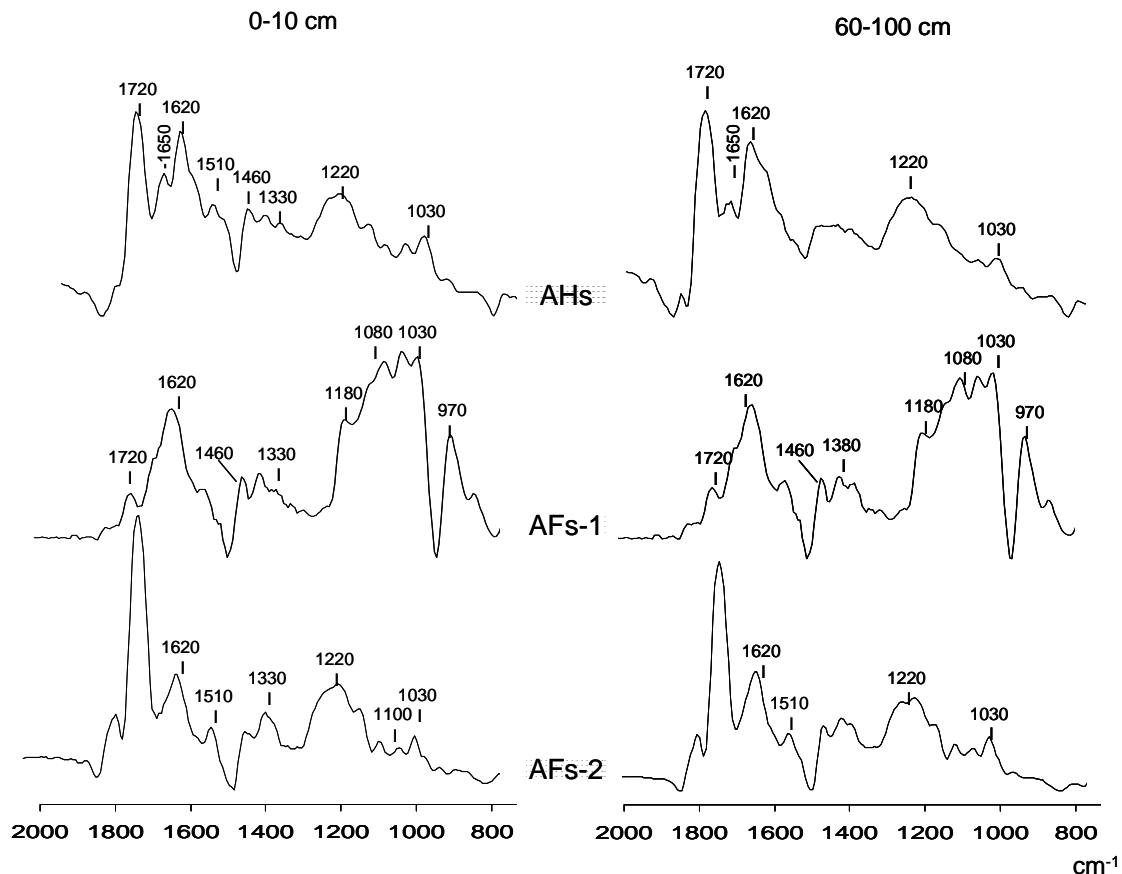


Fig. 2 – Segunda derivada do espectro visível de ácidos húmicos extraídos de Latossolos Húmicos a diferentes profundidades (Concentração de 0,2 mg C mL⁻¹). Para identificação das amostras ver Tabela 1

3.3 – Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)

No geral, os espectros de infravermelho dos AHs, AFs-1 e AFs-2 apresentaram certa similaridade espectral entre si, de forma que optamos por apresentar os espectros referentes para cada fração para uma amostra representativa (Fig. 3). Evidenciamos neste trabalho apenas a região entre 2.000 e 800 cm⁻¹, por ser mais diagnóstica das feições características das substâncias húmicas. A identificação das bandas de absorção foi baseada em dados publicados por MacCarthy & Rice (1985), Stevenson (1994) e Tan (2003). Os espectros mostraram diferenças entre as frações, principalmente para AFs-1, que representa aquela fração fúlvica não adsorvida em XAD-8. Para esta fração observamos absorções em regiões correspondentes a carboidratos (1.180 e 970 cm⁻¹) e, redução de absorção na região 1.720 cm⁻¹, referente à presença dos grupos carboxílicos. Observamos que os AHs apresentaram feições espectrais semelhante os AFs-2 entre as regiões de 1.500 e 800 cm⁻¹. Porém, os AFs-2 apresentaram maior intensidade de absorção em 1.720 cm⁻¹ (Fig. 3 e Tabela 4). Absorções

1 próximas a 1010 cm^{-1} revelaram presença significativa de carboidratos e grupos metoxílicos
2 na AF-1.



31 **Fig. 3** – Espectros de Infravermelho de ácidos húmicos (AHs), fração fúlvica não adsorvida
32 em XAD-8 (AFs-1) e ácidos fúlvicos (AFs-2) de um Latossolos Húmicos sob vegetação
33 nativa extraídos nas profundidades de 0-10 e 60-100 cm, Sericita-MG. Espectros com
34 resolução melhorada através da subtração do múltiplo de sua segunda derivada.

35
36
37 De acordo com **Tan (2003)** a absorção em $\sim 1.000\text{ cm}^{-1}$ em AHs usualmente é atribuída
38 a impurezas relacionadas com a formação de quelatos orgânicos com sílica, podendo estar
39 relacionado a presença de argilas que não foram removidas completamente durante o processo
40 de purificação ($\sim 1.06\%$ de cinzas). Observamos também absorções centradas em $\sim 1.220\text{ cm}^{-1}$,
41 referentes a tensões de ésteres e fenóis. Para os AFs-2 esse sinal aparece como uma banda
42 mais larga, estando relacionado com deformações axiais de C-OH dos grupos carboxílicos. A

1 absorção centrada em 1440 cm⁻¹ faz referência as ligações alifáticas C-H, sendo possível
 2 constatar redução da alifacidade nos AHs extraídos entre 60-100 cm (Fig. 3).

3
 4 **Tabela 4** – Densidade óptica relativa ⁽¹⁾ das principais bandas do espectro de infravermelho de
 5 ácidos húmicos (AHs), fração fúlvica não adsorvida em resina XAD-8 (AFs-1) e ácidos
 6 fúlvicos (AFs-2) extraídos de Latossolo Húmicos a 0-10 cm de profundidade

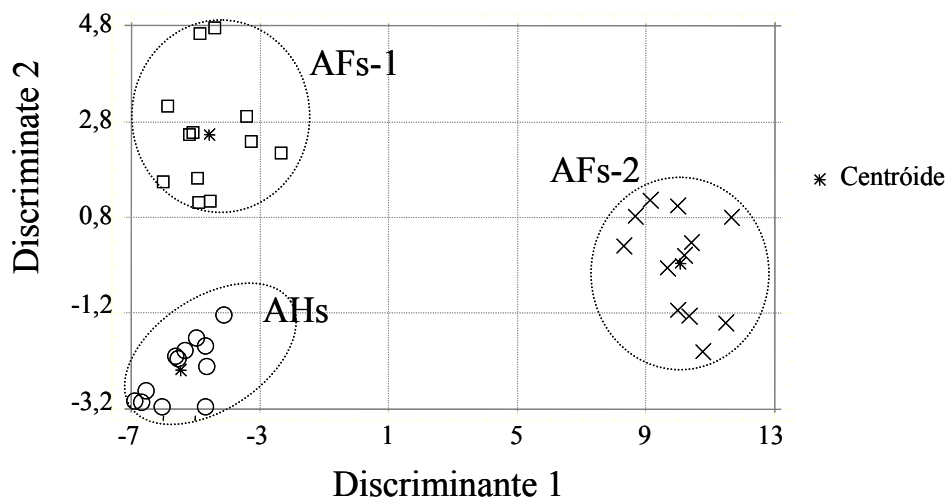
7

| Amostras ⁽²⁾ | 3400 | 2920 | 1720 | 1620 | 1460 /1510 | 1330 | 1270 | 1380 | 1030 | 3400 2920 | 1380 2920 | 1330/1270 |
|-------------------------|------|------|-------|------|---------------|------|------|------|------|--------------|--------------|-----------|
| AHs | | | | | | | | | | | | |
| LH1 | 1,26 | 1,47 | 2,22 | 1,69 | 0,64 | 0,85 | 1,11 | 0,96 | 0,64 | 0,85 | 0,65 | 0,76 |
| LH2 | 1,39 | 1,55 | 2,41 | 1,59 | 0,38 | 0,91 | 1,08 | 0,97 | 0,62 | 0,90 | 0,63 | 0,84 |
| LH3 | 1,36 | 1,36 | 2,29 | 1,61 | 0,62 | 0,89 | 1,03 | 0,95 | 0,64 | 1,00 | 0,70 | 0,86 |
| LH4 | 1,23 | 1,35 | 2,34 | 1,66 | 0,86 | 0,93 | 1,20 | 1,09 | 0,70 | 0,91 | 0,80 | 0,78 |
| LH5 | 1,63 | 1,39 | 1,51 | 1,51 | 0,12 | 0,67 | 0,76 | 0,79 | 0,58 | 1,18 | 0,57 | 0,88 |
| LH6 | 1,71 | 1,85 | 2,57 | 2,28 | 0,90 | 0,99 | 1,36 | 1,12 | 0,73 | 0,92 | 0,61 | 0,73 |
| AFs-1 | | | | | | | | | | | | |
| LH1 | 3,53 | 1,89 | 1,08 | 3,60 | 0,86 | 1,05 | 0,61 | 1,87 | 2,63 | 1,87 | 0,99 | 1,73 |
| LH2 | 4,02 | 2,09 | 1,45 | 4,12 | 1,47 | 1,12 | 0,62 | 1,82 | 3,91 | 1,93 | 0,87 | 1,80 |
| LH3 | 3,75 | 1,82 | 1,49 | 3,87 | 1,05 | 1,14 | 0,79 | 1,85 | 4,18 | 2,06 | 1,01 | 1,45 |
| LH4 | 3,89 | 1,96 | 1,61 | 3,85 | 0,99 | 1,40 | 1,07 | 1,70 | 5,11 | 1,98 | 0,87 | 1,31 |
| LH5 | 3,21 | 1,52 | 1,43 | 3,01 | 1,14 | 0,96 | 0,58 | 1,33 | 2,98 | 2,11 | 0,87 | 1,65 |
| LH6 | 4,50 | 2,19 | 1,49 | 4,26 | 1,12 | 1,30 | 0,83 | 1,98 | 3,89 | 2,06 | 0,90 | 1,56 |
| AFs-2 | | | | | | | | | | | | |
| LH1 | 6,54 | 5,45 | 15,39 | 6,65 | 1,71 | 2,55 | 5,03 | 4,00 | 2,55 | 1,20 | 0,74 | 0,51 |
| LH2 | 6,11 | 5,22 | 14,30 | 5,96 | 3,47 | 2,79 | 4,87 | 4,46 | 2,79 | 1,17 | 0,85 | 0,57 |
| LH3 | 2,68 | 2,32 | 5,65 | 2,98 | 0,51 | 1,28 | 1,98 | 2,10 | 1,28 | 1,15 | 0,90 | 0,65 |
| LH4 | 3,01 | 2,54 | 6,25 | 3,00 | 0,18 | 1,07 | 2,06 | 1,99 | 1,07 | 1,18 | 0,78 | 0,52 |
| LH5 | 2,92 | 2,24 | 5,78 | 3,09 | 0,28 | 1,27 | 1,97 | 1,84 | 1,27 | 1,30 | 0,82 | 0,65 |
| LH6 | 4,34 | 3,33 | 8,47 | 5,24 | 2,11 | 1,88 | 3,25 | 2,82 | 1,71 | 1,30 | 0,85 | 0,58 |

8 ⁽¹⁾ em cm⁻¹, ⁽²⁾ Para identificação das amostras ver Tabela 1

9
 10 A partir dos espectros foram medidas as densidades ópticas relativas das bandas em
 11 3400, 2920, 1720, 1620, 1460, 1330, 1270, 1380, 1030 cm⁻¹ fazendo relação das mesmas com
 12 a intensidade em 1510 cm⁻¹, referente à banda aromática (Tabelas 4). A razão 3400/1510
 13 (OH/C=C vibrações aromáticas) foi maior para os AFs-2, seguido pelos AFs-1 e AHs. A
 14 razão de intensidade das bandas 2920/1510 (C-H/C=C vibrações aromáticas) e 1720/1510
 15 (C=O/C=C vibrações aromáticas) também foram menores para AHs quando comparado a
 16 AFs-2. A relação entre as estruturas siringil e guaiacil (1330/1270 cm⁻¹) demonstrou que a
 17 frequência de siringil para AF-1 foi praticamente duas vezes maior que para AF-2, indicando
 18 ser uma fração que possui preferencialmente estrutura química de lignina menos condensada
 19 (Tabela 4). Esse resultado corrobora com o fato de que as estruturas da unidade siringila, por
 20 não possuírem o carbono reativo C5 disponível para reação na etapa de polimerização da
 21 biossíntese da lignina, são estruturas menos condensadas e mais favoráveis à deslignificação
 22 (Gomide et al., 2005).

1 As funções discriminantes obtidas a partir dos valores de densidade óptica mostraram
2 que a ferramenta analítica FTIR foi eficiente em classificar e analisar as diferentes frações
3 estudadas (Fig. 4). Nesse caso, sete variáveis foram significativas ($P > 0,05$) na distinção entre
4 as frações AHs, AFs-1 e AFs-2, sendo as bandas em 1720 , 1030 , 1270 , 1330 cm^{-1} e as razões
5 $3400/2920$, $1330/1270$ e $1380/2920$.



24 **Fig. 4** – Funções discriminantes considerando as variáveis do espectro de infravermelho.

26 3.4 – Espectroscopia do ^{13}C -NMR

27 A integração das áreas dos picos, a partir de espécies de carbono selecionadas
28 (Malcom, 1989; Knicker 2006), está apresentada na Tabela 5. Os sinais dominantes foram
29 devidos ao C-aromático e C-carbonila. Com exceção de LH5, o aumento na região aromática
30 (110-160 ppm) em profundidade foi devido a ressonância de um pico simples e largo em 132
31 ppm (espectros não mostrados).

Tabela 5 – Valores de integração (% total da intensidade do sinal em ^{13}C -NMR) das principais regiões no espectros dos ácidos húmicos e suas razões.

| Amostras | $\delta^a \leq 40$ Região Alquila | $40 < \delta \leq 110$ O- e N-Região Alquila | $110 < \delta \leq 160$ Região Aromática | $160 < \delta \leq 220$ Região Carbonílica | Ar ^d /Al | GA ^e |
|-----------|---|--|--|--|---------------------|-----------------|
| 0-10 cm | | | | | | |
| LH1 | 17,6 | 17,3 | 43,5 | 21,6 | 2,5 | 55,5 |
| LH2 | 19,9 | 19,7 | 40,1 | 20,4 | 2,0 | 50,3 |
| LH3 | 15,1 | 14,2 | 40,3 | 30,5 | 2,7 | 57,9 |
| LH4 | 14,5 | 19,5 | 42,1 | 23,9 | 2,9 | 55,3 |
| LH5 | 17,5 | 30,3 | 31,9 | 20,3 | 1,8 | 40,0 |
| LH6 | 20,4 | 18,0 | 40,4 | 21,2 | 2,0 | 51,3 |
| 60-100 cm | | | | | | |
| LH1 | 6,7 | 10,7 | 60,0 | 22,5 | 8,9 | 77,5 |
| LH2 | 8,7 | 13,0 | 58,6 | 19,7 | 6,7 | 73,0 |
| LH3 | 8,1 | 11,8 | 56,4 | 23,7 | 7,0 | 73,9 |
| LH4 | 6,4 | 13,1 | 60,2 | 20,3 | 9,3 | 75,5 |
| LH5 | 14,7 | 26,3 | 35,8 | 23,2 | 2,4 | 46,6 |
| LH6 | 10,2 | 12,8 | 53,6 | 23,4 | 5,3 | 70,0 |

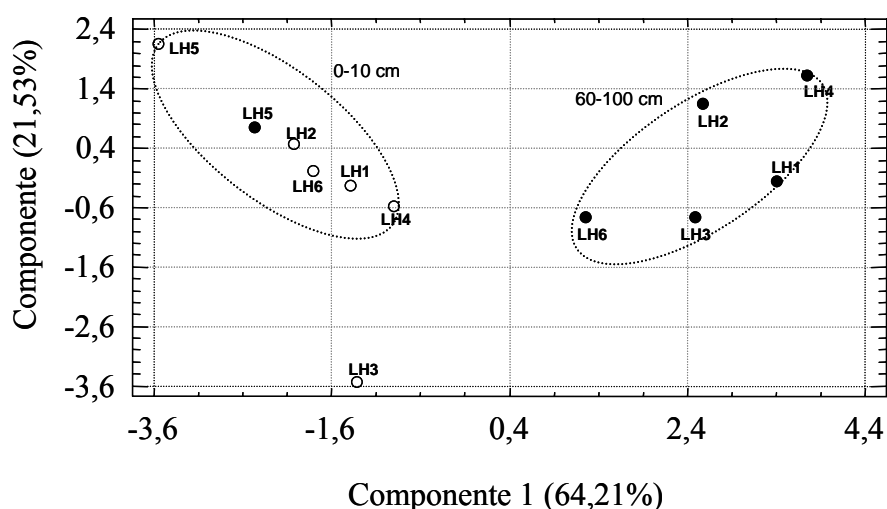
^a Deslocamento químico em ppm; ^b O- alquila C; ^c C-Alquila; ^d C-Aromático; ^e GA: grau de aromaticidade = (% C-aromático*100)/(% C-alquílica + C-aromático).

As amostras encontram-se identificadas no Tabela 1.

Os espectros de ^{13}C -NMR CPMAS dos AH extraídos de horizontes A Húmicos de Latossolos apresentaram diferenças estruturais em profundidade, principalmente devido a reduções na intensidade dos sinais na região entre 110-0 ppm. Os AHs extraídos de amostras de solo provenientes da região de Mutum (LH5) apresentaram sinais típicos de lignina com ressonância em 150, 130, e 56 ppm e, maiores proporções entre C-carboxílico e C-aromático. Na região de Sericita, a distribuição das diferentes espécies de C não foi influenciada pelo uso da terra com café (LH1) e com pastagem (LH2) quando comparados com solo sob ecossistema natural (LH3 e LH4) (Espectros não mostrados). Por sua vez, os AHs provenientes de Mutum (LH5) apresentaram mais estruturas O-alquílicas. As contribuições para essa região do espectro são devido a carboidratos da celulose (62-112 ppm), grupos nitrogenados e lignina (145-160 ppm).

Os valores da relação Ar/Al evidenciaram caráter alifático dos AHs em superfície. Para todas as localidades analisadas houve aumento em aproximadamente 20% no grau de aromaticidade dos AHs com a profundidade, com exceção para a região de Mutum, onde o incremento foi de apenas 7%.

A análise das componentes principais demonstrou que os AH se diferenciaram estruturalmente ao longo do perfil do solo (Fig. 5). O *outline* para LH3 foi devido ao forte sinal para carbonilas no horizonte superficial dessa amostra. Os ácidos húmicos a 60-100 cm de LH5 apresentam similaridades estruturais com aqueles de superfície.



1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20 **Fig. 5** – Componentes principais da variância das amostras de AH considerando variáveis do
21 espectro de ^{13}C -NMR CPMAS. Peso Componente 1 = região 160-110 ppm e razão
22 Aromático/Alquílicos; peso Componente 2 = região 110-60 ppm e razão O-Alquil/Alquílicos.
23 Identificação das amostras na Tabela 1.

24 4 – DISCUSSÃO

25 Os estudos comparativos entre técnicas analíticas apropriadas possibilitaram
26 identificar mudanças na composição estrutural e molecular da matéria orgânica do solo
27 (MOS). Os resultados para composição elementar dos ácidos húmicos (AHs) e fúlvicos (AFs-
28 2) estão de acordo com valores obtidos para substâncias húmicas (Stevenson, 1994; Tan,
29 2003, Steelink & Muester, 1985). De acordo com valores usuais de N para substâncias
30 húmicas (0.8-4.3% para AH e 0.9-3.3% para AF) podemos dizer que ácidos húmicos
31 extraídos de Latossolos Húmicos apresentaram mais N em sua composição, assim como
32 verificado para outros Latossolos brasileiros (Dick et al., 1999; González Pérez et al., 2004).
33 O maior enriquecimento relativo ao nitrogênio (N) para os AHs, evidencia o acúmulo de
34 compostos nitrogenados com a humificação. Lima et al. (2001) associa que o aumento do N
35 está associado à presença de núcleos aromáticos. Por outro lado, KUMADA (1987) relaciona
36 o aumento no conteúdo de N como indicador do processo de evolução dos AHs, com
37 transformações químicas mais intensas. A diminuição da relação O/C observado no sentido
38 AF-1 → AF-2 → AH pode estar relacionada como a evolução das substâncias húmicas nesses

1 solos, principalmente porque foi acompanhada com o aumento na aromaticidade das mesmas
2 (Schnitzer & Khan, 1972). De fato, quando as mudanças são plotadas no diagrama de Van
3 Krevelen (1950), observamos que as amostras de AH são mais descarboxiladas e desidratadas
4 (Fig. 1).

5 Os resultados obtidos com a aplicação da segunda derivada nos espectros de UV-
6 visível (Fig. 2) permitiram observar diferentes intensidades em vales específicos (458, 572 e
7 622 nm), os quais em muitos trabalhos têm sido relacionados ao comportamento de melaninas
8 fúngicas do tipo dihidroxiperilenquinona (DHPQ) (Kumada, 1955; Valmaseda et al., 1989). A
9 intensificação dos vales entre 60-100 cm corrobora com o ligeiro escurecimento observado
10 em profundidade nesses horizontes húmicos. Os Latossolos da região de Sericita
11 apresentaram diferenças mais marcantes entre as profundidades analisadas o que pode ser
12 resultado das condições climáticas de maior precipitação e temperaturas mais amenas. Por
13 outro lado, Silva & Vidal (1999) propuseram que a decomposição do carvão em material
14 plásmico bruno-escuro contribui significativamente para melanização (escurecimento) em
15 profundidade nesses horizontes húmicos. Todos os horizontes húmicos estudados
16 apresentaram consideráveis quantidades de carvão vegetal no perfil, porém para este trabalho
17 os mesmos não foram quantificados ou analisados qualitativamente. Dessa forma,
18 consideramos o fato de que a natureza das substâncias que possa estar atuando na
19 pigmentação ainda não está de toda esclarecida.

20 A razão de absorção entre 465 nm e 665 nm (E_4/E_6) providencia informações sobre o
21 conteúdo de radicais livres, C, O, COOH, acidez total; sendo influenciada pelo peso
22 molecular (Chen et al., 1977). Comparando os resultados da razão E_4/E_6 dos AH com os
23 valores obtidos para grau de aromaticidade por ^{13}C - RMN, observamos correlação negativa
24 ($r=-0,75^{***}$, dados não mostrados) entre esses fatores, demonstrando que quanto menor o valor
25 de E_4/E_6 maior foi a aromaticidade das amostras húmicas. De acordo com Anderson (1979) e
26 Stevenson, (1994), a razão E_4/E_6 também pode ser usada para medir o grau de humificação da
27 amostra. Os valores de E_4/E_6 para as nossas amostras confirmaram maior
28 humificação/aromaticidade para AHs, AFs-2 e AFs-1, respectivamente. Por sua vez, Chen
29 et.al.1 (1977) não encontraram relação entre a razão E_4/E_6 com o grau de aromaticidade.

30 Os espectros de infravermelho (FTIR) obtidos para AHs e AFs-2, respectivamente,
31 enquadraram-se nos tipos I e II de acordo com a classificação proposta por Stevenson & Goh
32 (1971). Neste sentido, consideramos a fração AFs-1 como não-húmica pelo fato de não ter
33 sido enquadrada em nenhum dos tipos considerados por estes autores. No geral, a análise no
34 FTIR permitiu de forma efetiva discriminar as diferentes frações húmicas do solo através de

1 informações como o grau de oxidação, alifacidade e presença de grupos metóxi da lignina
2 (Fig.4). Observamos a participação de produtos originados da alteração oxidativa da lignina
3 através do reconhecimento de bandas típicas desta macromolécula a 1510, 1460 e 1330 cm^{-1}
4 (Farmer & Morrison, 1960; Yonebayashi & Hattori, 1989). No caso dos AHs a proximidade
5 com a superfície do solo favoreceu mais a definição dessas bandas no espectro, o que nessa
6 condição mostra contribuição mais efetiva da biomassa na origem dessa fração. As
7 densidades relativas das principais bandas do espectro do FTIR (Tabela 3) refletiram menor
8 processo de descarboxilação, desidratação, condensação e aromatização dos AHs
9 provenientes da região de Araçuaí, seguida por Sericita e Mutum. Em se tratando das
10 condições climáticas esperaríamos resultado contrário para a região de Araçuaí (Aw), onde
11 temperaturas mais elevadas poderiam favorecer a humificação. No caso da região de Mutum
12 podemos considerar que a textura do solo possa ter influenciado nos menores valores
13 observados para essa região, uma vez que os AHs provêm de solo com característica mais
14 arenosa que as demais regiões (Tabela 2). A proteção física dada pela fração argila do solo às
15 substâncias húmicas (SHs) tem sido bastante documentada na literatura (Hassink & Whitmore
16 1997; Feller & Beare, 1997).

17 O complexo argilo-húmico é favorecido positivamente pela presença de grupamentos
18 carboxílicos na estrutura das SHs (Hamblin & Greeland, 1977), sendo de grande importância
19 nos processos geoquímicos do solo. A maior expressão da banda a 1720 cm^{-1} , característica
20 de grupos carboxílicos, no espectro de AFs-2 confirmou a importância dessa fração nos
21 processos de interação argilo-húmus. Mendonça & Rowell (1996) trabalhando com
22 Latossolos encontraram que os ácidos fúlvicos possuem maior capacidade de formar
23 complexos argilo-húmicos, sendo importantes agentes na estabilização da estrutura desses
24 solos. Com relação aos ácidos húmicos, Fontes (1990) observou forte interação entre ácidos
25 húmicos extraídos de Latossolos húmicos com a goethita sugerindo mecanismos de ligação
26 entre grupamentos carboxílicos desses ácidos com hidroxilas deste mineral.

27 A não observância de bandas definidas para amidas primárias (1340-1360 cm^{-1}) e
28 amidas secundárias (1540-1560 cm^{-1}) demonstra que as mesmas possam estar sobrepostas
29 com seus correspondentes aromáticos a 1620 ou 1510 cm^{-1} e, ou, que grande parte dos 4% de
30 N obtido para os AHs referem-se a compostos aromáticos nitrogenados.

31 Como, *a priori* da extração e purificação dos AHs, os componentes lipídicos foram
32 extraídos do solo podemos considerar que a maior proporção de C-alquílico observada nos
33 AHs extraídos entre 0-10 cm, refere-se a estruturas parafínicas ligadas aos AHs, resultado da

1 preservação seletiva de biopolímeros de plantas, como cutina e suberina. Resultado esse que
2 evidencia participação de biopolímeros alifáticos nos processos de humificação.

3 O aumento entre 60-100 cm do sinal para a região aromática (espectros não
4 mostrados) foi devido a ressonância de um pico simples e largo a 132 ppm. Esse
5 comportamento foi atribuído por Preston (1996), como resultado da conversão dos picos de
6 grupos aromáticos e aromáticos oxigenados em grupos C aromáticos substituídos. Essa
7 conversão leva a crer que as estruturas aromáticas recalcitrantes, presentes devem ter origem
8 diferente da lignina (Guggenberger et al., 1994) ou são produtos de uma via metabólica que
9 conduziu a perdas de oxigênio em grupamentos aromáticos.

10 **4 – CONCLUSÕES**

- 11 1. A policromia apresentada nos horizontes húmicos desses Latossolos pode ser
12 explicada pela presença em profundidade de ácidos húmicos com maior
13 concentração de pigmentos melânicos de origem microbiana.
- 14 2. A análise de FTIR revelou importantes diferenças entre AF-1 e AF-2, sendo
15 que a primeira mostrou-se composta preferencialmente por polissacarídeos e
16 grupamentos metoxílicos do tipo siringilo. Por sua vez, a AF-2 apresentou-se
17 mais rica em grupamentos carboxílicos e estruturas químicas de lignina
18 condensadas do tipo guaiacilo.
- 19 3. A análise do ^{13}C por NMR permitiu determinar importantes diferenças
20 quantitativas na distribuição dos ácidos húmicos em profundidade, com uma
21 rota de humificação em profundidade no sentido da diminuição de
22 grupamentos alquílicos e aumentos na região de sinal do C-aromático.
- 23 4. Ácidos húmicos provenientes da região de Mata Atlântica apresentam maior
24 descarboxilação, desidratação e aromaticidade quando comparados aos da
25 região de Cerrado.

26 **5 - AGRADECIMENTOS**

27 À FAPEMIG pelo apoio financeiro e ao CNPq pela concessão da bolsa. Agradecemos
28 também ao Dr. Gonzalo Almendros do CSIC/CCMA de Madri pelo auxílio com as análises
29 de UV-Visível e FTIR e, a Dra. Heike Knicker da Universidade Técnica de Munique pelo
30 apoio com as determinações do ^{13}C NMR.

1 6 - REFERÊNCIAS CITADAS

- 2 Almendros G., González-Vila J.F. y Martín F. 1990. Fire-induced transformation of soil
3 organic matter from an oak forest. An experimental approach to the effects of the fire on
4 humic substances. *Soil Science*. 149: 158- 167.
- 5 Almendros, G., Sanz, J. 1992. A Structural study of alkyl polymers in soil after perborate
6 degratation of humin. *Geoderma* 53: 79-95.
- 7 Anderson, D.W. 1979. Processes of humus formation and transformation in soils of Canadian
8 great plants. *Journal of Soil Science*, 30:77-84.
- 9 Andrade, F. V. ; Correa, M. L. T. ; Schaefer, C. E. G. R. ; Mendonça, E. S. Estoque de
10 Carbono em Latossolos Brasileiros. In: XXIX Congresso Brasileiro de Ciências do Solo,
11 2003, Ribeirão Preto. XXIX Congresso Brasileiro de Ciências do Solo: Solos Alicerce dos
12 Sistemas de Produção, 2003.
- 13 Chen Y.; Senesi, N.; Schnitzer, M. 1977. Information provided on humic substances by E4/E6
14 ratios. *Soil Science Society American Journal*, 41: 352-358.
- 15 Farmer, V. C.; Morrison, R. I., 1960. Chemical and infrared studies on Phragmites peat and
16 its humic acid. *Sci. Proc. R. Dublin Soc.*, 1: 85-104.
- 17 Feller, C., Beare, M.H., 1997. Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics.
18 *Geoderma* 79: 69–116.
- 19 Filho, B.R., Forato, L.A., Colnago, L.A. 1996. Recomendações sobre a utilização da técnica
20 de derivação para aumento de resolução em espectros de FTIR de proteínas. Comunicado
21 Técnico, Embrapa, 8:1-4
- 22 Gomide, J.L.; Colodette, J.L.; Oliveira, R.C.; Silva, C.M. 2005. Caracterização tecnológica,
23 para produção de celulose, da nova geração de clones de Eucalyptus do Brasil. *Revista*
24 *Árvore*, 29:129137.
- 25 Gonzalez-Vila, F.J., Lentz, H., Lüdemann, H-D.1976. FT-¹³C nuclear magnetic resonance
26 spectra of natural humic substances. *Biochemistry Biophysics Research Comm.* 72: 1063-
27 1713.
- 28 Guggenberger, G., Christensen, B.T., Zech, W.1994. Land-use effects on the composition of
29 organic matter in particle-size separates of soil: I. Lignin and carbohydrate signature.
30 *European Journal Soil Science*, 45: 449458.
- 31 Hassink, J., Whitmore, A.P., 1997. A model of the physical protection of organic matter in
32 soils. *Soil Science Society American Journal* 61: 131-139.

- 1 Knicker, H., Almendros, G., Gonzalez-Vila, F.J., Gonzalez-Perez, J.A., Polvillo, O. 2006.
2 Characteristics alterations of quantity and quality of soil organic matter caused by forest
3 fires in continental Mediterranean ecosystems: a solid-state ^{13}C NMR study. *European*
4 *Journal Soil Science*, 57: 558569.
- 5 Knicker, H., 2000. Biogenic nitrogen in soils as revealed by solid state carbon-13 and
6 nitrogen-15 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Environ. Qual.* 29, 715– 723.
- 7 Knicker, H., Skjemstad, J.O., 2000. Nature of organic carbon and nitrogen in physically
8 protected organic matter of some Australian soils as revealed by solid-state ^{13}C and ^{15}N
9 NMR spectroscopy. *Aust. J. Soil Res.* 38, 113– 127.
- 10 Krier, C.; Rossi, F.; François, D., Verleysen, M. 2007. A data-driven functional projection
11 approach for the selection of feature ranges in spectra with ICA or cluster analysis.
12 *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, XX:XXXX (In press)
- 13 Kononova, M. M. 1982. *Materia Orgánica del Suelo. Su Naturaleza, Propiedades y Métodos*
14 *de Investigación*. Oikos-Tau ediciones: Barcelona.
- 15 Kumada, K. Absorption spectra of humic acids. 1955. *Soil Plant Food*, 1: 29-30.
- 16 Lima, H.N., Benites, V.M., Schaefer, C.E.R.G., Mello, J.W.V., Ker, J.C. Caracterização de
17 ácidos húmicos extraídos de Terra Preta de Índio. In: Mendonça et al. (Eds) *Resumos do*
18 *IV Encontro brasileiro de substâncias húmicas*. P. 155-156. Viçosa. UFV. 2001
- 19 MacCarthy, P., Rice, J.A. 1985. Spectroscopic Methods (Other than NMR) for Determining
20 Functionality in Humic Substances. In: *Humic Substances in Soil, Sediment and Water.*
21 *Geochemistry, Isolation and Characterization*. Eds. Aiken, G.R., McKnight, D.M.,
22 Wersshaw, R.L., MacCarthy. Wiley-Interscience, New York.
- 23 Mahieu, N., Powlson, D.S., Randall, E.W., 1999. Statistical analysis of published carbon-13
24 CPMAS NMR spectra of soil organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, 307– 319.
- 25 Malcolm, R.L., 1989. Applications of solid-state ^{13}C NMR spectroscopy to geochemical
26 studies of humic substances. In: Hayes, M.H.B., MacCarthy, P., Malcolm, R.L., Swift,
27 R.S.(Eds.), *Humic Substances II: In Search of Structure*. Wiley, Chichester, pp. 339–372.
- 28 Mendonça, E.S.; Rowell, D.L. 1996. Mineral and organic fractions of two oxisols and their
29 influence on effective cation-exchange capacity. *Soil Science Society of America Journal*,
30 60:188-192.
- 31 Pappas, C.S.; Tarantilis, P.A., Moschopoulou E., Moatsou, G., Kandarakis, I., Polissiou, M.G.
32 2008. Identification and differentiation of goat and sheep milk based on diffuse
33 reflectance infrared Fourier transform spectroscopy (DRIFTS) using cluster analysis.
34 *Analytical, Nutritional and Clinical Methods. Food Chemistry* 106: 1271-1277.

- 1 Piccolo, A.; Stevenson, F.J. 1982. Infrared spectra of Cu²⁺, Pb²⁺ and Ca²⁺ complexes of
2 soil humic substances. *Geoderma*, 27: 195.
- 3 Plaza, C., Senesi, N., Brunetti, G., Mondelli, D. 2007. Evolution of the fulvic acid fractions
4 during co-composting of olive oil mill wastewater sludge and tree cuttings. *Bioresource*
5 *Technology*, 98: 19641971.
- 6 Preston, C.M. 1996. Applications of NMR to soil organic matter analysis: history and
7 prospects. *Soil Science*, 161:144166.
- 8 Schnitzer, M., Khan, S.U. 1972. *Humic Substances in the Environment*. Dekker, New York.
- 9 Rosenfeld, A., Kak, A.C., 1982. *Digital Picture Processing*, vol. I. Academic Press, New
10 York.
- 11 Silva, A.C., Vidal-Torrado, P. 1999. Gênese dos Latossolo Húmicos e sua relação com a
12 evolução da paisagem numa área cratônica do Sul de Minas Gerais. *Revista Brasileira de*
13 *Ciência do Solo*, 23: 329341.
- 14 Starsinic, M., Otake, Y., Walker Jr., P.L., Painter, P.C. 1984. Application of FT-IR
15 spectroscopy to the determination of COOH groups in coal. *Fuel* 63: 1002-1007.
- 16 Steelink, C., Muester.1985. Geochemistry and ecological role of humic substances. In: *Humic*
17 *Substances in Soil, Sediment and Water. Geochemistry, Isolation and Characterization*.
18 Eds. Aiken, G.R., McKnight, D.M., Wersshaw, R.L., MacCarthy. Wiley-Interscience,
19 New York.
- 20 Stevenson, F.J. 1994. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2nd ed. New York:
21 Wiley. 496p.
- 22 Tan, H.K. 2003. *Humic Matter in Soil and the Environment – Principles and Controversies*.
23 Marcel Dekker, New York.
- 24 Theng, B.K.G., Tate, K.R., Sollins, P. 1989. Constituents of organic matter in temperate and
25 tropical soils. In: Coleman, D.C., Oade, J.M., Uehara, G. (Eds.) *Dynamic of Soil Organic*
26 *Matter in tropical Ecosystems*. Honolulu, University of Hawaii. P 5-32.
- 27 Valmaseda, M.; Martinez, A.T., Almendros, G. 1989. Contribution by pigmented fungi to P-
28 type humic acid formation in two forest soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 21:23-28.
- 29 Yonebayashi, K.; Hattori, T., 1989. Chemical and biological studies on environmental humic
30 acids. II. ¹H-NMR and IR spectra of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 35: 383-392.
- 31 Zech, W., Senesi, N. Guggenberger, G., Kaiser, K., Lehmann, J., Miano, T.M., Miltner, A.,
32 Schoroth, G. 1997. Factors controlling humification and mineralization of soil organic
33 matter in the tropics. *Geoderma*, 79: 117161.
- 34

1 IV - Dessorção e Pirólise de Ácidos Húmicos e Fúlvicos extraídos de um
2 Latossolo Vermelho-Amarelo húmico sob café e pastagem na Zona da Mata
3 Mineira.

4 **RESUMO**

5 Para avaliar as transformações estruturais ocorridas na fração humificada da matéria
6 orgânica do solo em horizonte A húmico de um Latossolo sob café e pastagem, foram
7 extraídos e purificados ácidos húmicos (AHs) e fúlvicos (AFs) em intervalos de 0-10 e 60-
8 100 cm de profundidade. As amostras purificadas foram submetidas a técnicas termais de
9 degradação, sendo dessorção a 280 °C e pirólise a 610 °C, em pirolisador analítico
10 acoplado a cromatógrafo a gás e espectrômetro de massa. Os resultados obtidos por
11 dessorção e pirólise mostraram que os mecanismos de estabilização envolvem acumulação
12 de compostos nitrogenados e aromáticos em AHs e de compostos aromáticos e fenólicos
13 em AFs. Os AHs extraídos da superfície apresentaram, tanto por pirólise quanto por
14 dessorção, maior diversidade de compostos em sua estrutura que àqueles extraídos entre
15 60-100 cm, principalmente sob sistema de uso com mata e pastagem. Os solos cultivados
16 apresentaram estruturas húmicas mais alifáticas em profundidade, sendo que sob café esse
17 efeito foi mais intenso. Comparativamente com o solo sob mata, os AHs e AFs extraídos
18 sob café e pastagem apresentaram poucas estruturas nitrogenadas. Detectou-se maior
19 proporção de estruturas ricas em polissacarídeos nos AFs extraídos entre 60-100 cm de
20 profundidade, revelando importantes movimentações desses ácidos no perfil. Nos primeiros
21 10 cm do solo, o uso agrícola do solo promoveu reduções em compostos alifáticos e
22 nitrogenados na estrutura dos AHs e, de compostos fenólicos, de lignina, ácidos graxos e
23 nitrogenados na estrutura dos AFs.

24
25
26
27 **Palavras chaves:** Pi-CG/EM, substâncias húmicas, termodegradação, diversidade
28 estrutural, uso da terra.

29
30

1 **SUMMARY: DOUBLE-SHOT PYROLYSIS OF THE HUMIC AND FULVIC ACIDS**
2 **ISOLATED FROM A SUBTROPICAL HUMIC LATOSOL**
3 **CULTIVATED WITH COFFEE AND PASTURE IN THE ATLANTIC**
4 **FOREST ZONE, MINAS GERAIS - BRAZIL.**

5 To evaluate the structural transformations carried in the humified fraction
6 humificada of the soil organic matter (SOM) in humic Latosol horizon under coffee,
7 pasture and Forest Atlantic, we extracted and purified humic (HAs) and fulvic acids (AFs)
8 in layers the 0-10 and 60-100 cm. The purified samples were submitted to thermal
9 techniques of degradation, being desorption at 280 °C and pyrolysis at 610 °C, in pyrolysis-
10 gas chromatography/mass spectrometry. The results obtained by desorption and pyrolysis
11 showed that the mechanisms of stabilization involve accumulation of aromatic and N-
12 compounds in HAs and, the aromatic and phenolic compounds in FAs. The HAs from
13 topsoil presented, so much for pyrolysis as for desorção, larger diversity of compositions
14 in its structure than those extracted ones in subsoil, mainly under use system with forest
15 and pasture. The cultivated soils presented humic structures more aliphatic in depth, and
16 under coffee that effect was more intense. Comparatively with the soil under forest, HAs
17 and FAs extracted under coffee and pasture presented less N in the structure. The FAs
18 extracted at 60-100 cm showed more proportion of polysaccharide structures, revealing
19 important movements of those acids in the profile. In the topsoil, the soil agricultural use
20 promoted decreases in aliphatic and N compounds in HAs structure and, of phenolic, lignin,
21 fatty acids and N compounds in the FAs structure.

22

23

24 **Keywords:** Py-GC/MS, humic substances, termodegradation, structural diversity,
25 land use.

26

27

28

29

30

1 1 - INTRODUÇÃO

2 Lavouras de café (*Coffea arabica* L.) e pastagens de capim-gordura (*Melinis*
3 *minutiflora* Beauv.) constituem padrão geral de uso da terra na Zona da Mata (RIBEIRO et
4 al., 1972; RESENDE et al, 2002), sendo que as áreas com ocorrência de Latossolos com
5 horizonte A húmico são intensamente utilizadas para estes fins. Esses solos são profundos,
6 intemperizados, com boa drenagem, distróficos e apresentam horizonte A rico em matéria
7 orgânica (MO) com até 200 cm de profundidade. O uso agrícola nesses solos pode estar
8 alterando a dinâmica da MO, principalmente do compartimento mais humificado o qual
9 representa mais de 80% do carbono orgânico total (Assis et al 2005 – dados não
10 publicados). A importância das substâncias húmicas (SHs) nos estudos de impacto do uso
11 agrícola, provêm de seu caráter integrador do meio com a biota e da atuação como fonte e
12 estoque de carbono (C) no solo.

13 As frações humificadas da MO são importantes marcadores químicos do histórico
14 de uso do solo, sendo utilizadas como indicadoras dos efeitos do manejo sobre a qualidade
15 do solo, em termos quantitativos e qualitativos (Andreux & Cerri, 1989; Maccallister &
16 Chien, 2000; Canellas et al., 2004). A análise das SHs permite diagnosticar as mudanças
17 progressivas no ciclo biogeoquímico dos ecossistemas, por serem atuantes na
18 compartimentação dos nutrientes, na microestruturação do solo (Hayes, 1991)

19 A pirólise (Py) em conexão com a cromatografia gasosa e espectrometria de massas
20 (CG/MS) tem sido amplamente utilizada na caracterização molecular direta de matrizes
21 complexas (Saiz-Jimenez & Leeuw, 1987; Schulten & Schnitzer, 1992; Gonzalez-Vila et
22 al., 2001), assim como a influência urbana (Canellas et al., 2000) e agrícola (Masciandaro
23 et al., 1998; Nierop et al., 2001) na composição molecular das SHs. As técnicas pirolíticas
24 apresentam diversas vantagens sobre outros métodos degradativos em estudos de
25 macromoléculas. É uma técnica bastante reproduzível onde se utiliza pouca quantidade da
26 amostras e os resultados obtidos podem ser interpretados tanto qualitativamente como
27 quantitativamente.

28 Recentemente, a utilização de técnicas pirolíticas que envolvam temperaturas de
29 dessorção seguidas pela pirólise convencional tem sido utilizada com o objetivo de se obter
30 maiores informações sobre a composição estrutural das matrizes macromoleculares
31 complexas (Arias et al., 2006; Quénéa et al., 2006; González-Perez et al., 2007) Os
32 produtos liberados por dessorção correspondem às substâncias de origem recente na
33 estrutura das substâncias húmicas, sendo fracamente condensadas e periféricamente ligadas

1 nas estruturas humificadas termoestáveis (Almendros & González-Vila, 1987; González-
2 Perez et al., 2007).

3 Assim, importantes contribuições vêm sendo obtidas no detalhamento da estrutura
4 química das SHs, principalmente na elucidação da origem dos seus componentes estruturais
5 (Saiz-Jimenez & Leeuw, 1987), como na identificação das mudanças na composição
6 estrutural pelo uso e manejo do solo (Nierop et al., 2001; Gleixner et al., 2002).

7 O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto do uso agrícola com café e pastagem
8 sobre a estrutura de ácidos húmicos e fúlvicos extraídos de um Latossolo Vermelho-
9 Amarelo húmico da região de Mata Atlântica de Minas Gerais, utilizando técnica de
10 degradação térmica diferencial por dessorção e pirólise.

11 **2 - EXPERIMENTAL**

12 **2.1 - Áreas de estudo e amostragem**

13 O solo utilizado foi classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico
14 húmico, textura argilosa, localizado no município de Sericita (20°28'26S e 42°28'55 W),
15 região pertencente à Zona da Mata Mineira. A região caracteriza-se por um clima
16 mesotérmico (Cwb), com temperatura média anual de 18 °C. O regime pluviométrico é
17 caracterizado por um período chuvoso, durante os meses de novembro a março, e por um
18 período seco, de abril a outubro. A precipitação média anual varia em torno de 1.300 mm.

19 Café e pastagem são padrões de uso da terra na região. Para tanto selecionou-se uma
20 área cultivada 12 anos com café em sistema convencional, sendo que os 40 anos anteriores
21 foram utilizados com pastagem. Para pastagem foi selecionada área com aproximadamente
22 40 anos de uso com capim-gordura (*Melinis minutiflora* Beauv.), sendo anteriormente
23 mata natural. Como referência amostrou-se um fragmento de vegetação nativa, dentro da
24 mesma unidade taxonômica de solo. A amostragem foi realizada numa mesma posição na
25 paisagem, coletando para cada área amostras compostas por 20 subamostras simples, nas
26 profundidades de 0-10 e 60-100 cm. Em seguida, as mesmas foram secas ao ar,
27 destorroadas e peneiradas a 2 mm.

28 **2.2 - Extração e Purificação dos Ácidos Húmicos e Fúlvicos**

29 Amostras de solo peneiradas foram previamente tratadas com CHCl₃/MeOH
30 (diclorometano e metanol) na proporção 3:1 (v/v), para eliminação de compostos lipídios
31 (substâncias não húmicas) de forma a evitar sua co-extração como forma solúvel em ácido
32 e álcali. Em seguida procedeu-se a extração, seguida de purificação, dos ácidos húmicos

1 (AHS) e fúlvicos (AF) de acordo com os métodos propostos por Hayes (1985) e Swift
2 (1996). Brevemente, utilizou-se como extrator solução de NaOH 0.1 mol L⁻¹ na proporção
3 de 10:1 para remoção dos AHS e AF da matriz do solo. Os ácidos húmicos extraídos foram
4 redissolvidos, na presença de N₂, adicionando 100 mL de 0,1 M KOH até concentração
5 final de 0.3 M. Após completa dissolução o material foi centrifugado a 14,000 x g de forma
6 a remover os sólidos suspensos (argilas). Em seguida os AHs foram agitados por 2 h a 25
7 °C na presença de solução contendo 10 e 5% (w/v) de ácido fluorídrico e clorídrico,
8 respectivamente. O tratamento com fluorídrico e clorídrico foi repetido por sete vezes, que
9 foi a quantidade necessária, nessas amostras, para reduzir o teor de cinzas à < 1%. Os
10 AHS foram dialisados em tubos de celulose D-0405 (Sigma Aldrich) e liofilizados.

11 A purificação dos ácidos fúlvicos (AFs) baseou-se em metodologia proposta por
12 Swift (1996). Solução contendo os AFs foi eluída em coluna preenchida com DAX-8 a uma
13 taxa de 10 mL min⁻¹. A fração adsorvida na coluna foi eluída a taxa de 2 mL min⁻¹
14 utilizando solução de NaOH 0.1 mol L⁻¹, sendo coletada imediatamente em frasco contendo
15 resina de troca catiônica Dowex-50. Nesse passo o controle do pH se manteve na faixa de
16 1-2, fato importante no monitoramento do processo de troca catiônica. Em seguida os AFs
17 foram congelados e liofilizados.

18 **2.3 - Dessorção e Pirólise acoplados a cromatografia de gás espectrometria de massa**

19 A dessorção e pirólise das amostras foram realizadas pelo aquecimento rápido na
20 ausência de oxigênio em um pirolizador tipo microforno “*double-shot*” (modelo PY2020iD,
21 Frontier Laboratórios, Fukushima, Japão) conectado a um cromatógrafo a gás (CG) e
22 espectrômetro de massas (EM) Agilent 6890N. Na primeira etapa (dessorção),
23 aproximadamente 2 mg da amostra foram condicionados em cápsula de platina e
24 introduzidos em microforno à 100 °C, com taxa de elevação de 10°C até 280 °C,
25 mantendo-se nesta temperatura por 1 (um) minuto. Na etapa seguinte (pirólise) a amostra
26 foi submetida no microforno a uma temperatura de 610 °C durante 30 s. O forno do CG foi
27 programado de 50 a 100 °C, sendo que depois de 300 °C a velocidade de aumento de
28 temperatura foi de 10 °C min⁻¹. O injetor e a interface foram programados a 250 °C e 280
29 °C respectivamente. Foi utilizada uma coluna capilar de 25 m x 0,25 x 0,25 mm DB5 MS
30 (J&W Scientific). O gás carreador foi o hélio (He) com um fluxo de 1 mL min⁻¹. O
31 espectrômetro de massa (MS) operou num intervalo de massas de 40-600 scans s⁻¹ com
32 temperatura na fonte de ionização de 230 °C e voltagem de 70 eV.

33 Os produtos derivados da dessorção e pirólise foram identificados com o auxílio de
34 padrões de espectros em livreria eletrônica como Wiley e NIST (National Institute of

1 Standards and Technology) e com espectros publicados na literatura. A estimativa da área
2 dos picos dos diferentes produtos da dessorção e pirólise foi calculada de acordo com
3 abundância total, considerando a soma das áreas de todos os picos como sendo 100% da
4 área do cromatograma do íon total (TIC – sigla em inglês), sendo que foram considerados
5 picos com mais de 1% da área total.

6 Para avaliar a diversidade de compostos gerados por dessorção e pirólise utilizamos
7 o índice de Shannon-Weaver, informando assim, a distribuição entrópica dos compostos
8 dentro de cada amostra e dando-nos idéia da riqueza estrutural dos mesmos (Odum, 1983).
9 A relação entre a abundância relativa dos picos referentes ao benzeno (B) e tolueno (E3) foi
10 calculada conforme descrito por Ceccanti et al. (1986), sendo considerada como índice de
11 humificação.

12 **3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO**

13 Os principais produtos encontrados com a dessorção dos AHs (Fig. 1) e AFs (Fig. 3)
14 foram levoglucosano, furfural, metilfurfural, piridina, 1,3-isobenzofuranodiona, 3,4-
15 dimetil-2,3-furandiona, os quais são considerados produtos voláteis específicos de
16 polissacarídeos (Saiz-Jimenez & Leeuw, 1985). Observamos que para os AHs extraídos
17 entre 0-10 cm houve maior proporção desses compostos ligados na estrutura. Esses
18 compostos são facilmente decomponíveis, sendo os primeiros a serem atacados durante
19 processos de diagênese desses ácidos no solo, principalmente naqueles que conduzem à
20 carbonização (Stevenson, 1994). A redução na proporção destes compostos para os AHs
21 extraídos entre 60-100 cm confirma este processo. Presença de hidrocarbonos alifáticos nos
22 produtos de dessorção dos AHs

23 No geral, os cromatogramas dos produtos de pirólise mostraram características
24 estruturais distintas entre AHs e AFs, assim como entre as profundidades analisadas (Fig. 2
25 e 4). A maior parte dos compostos foi liberada com 10 min, sendo que para os AHs os
26 principais picos referem-se aos derivados de benzenos e fenóis, enquanto que para os AFs
27 predominaram compostos aromáticos, nitrogenados e derivados do furano.

28
29
30
31
32

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

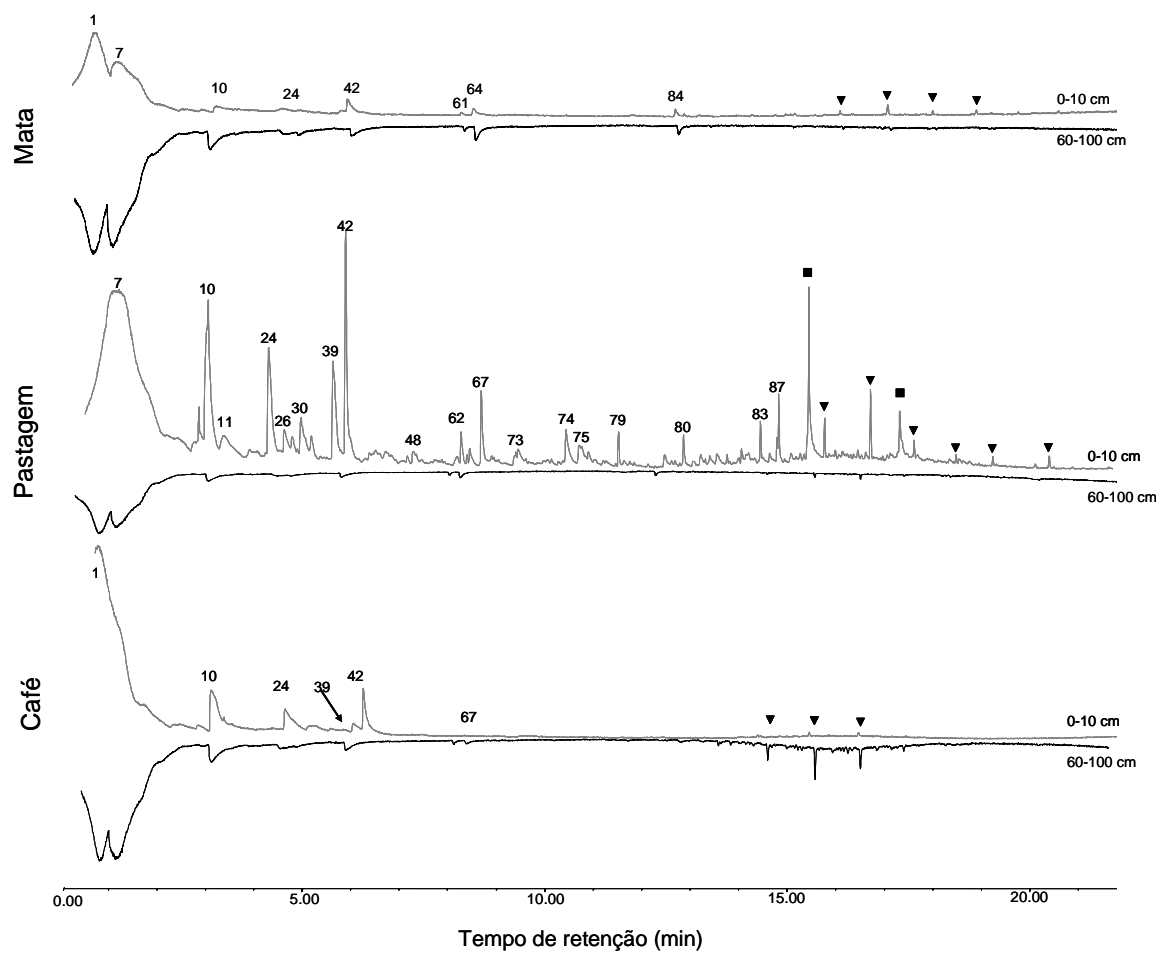


Fig. 1 – Cromatogramas dos compostos termovaporados (280 °C.) liberados de amostras de ácidos húmicos extraídos de Latossolo Vermelho-Amarelo húmico sob cultivo com café e pastagem. Ácidos graxos (■) e alcanos (▲). Os números sobre os picos estão identificados na Tabela 1.

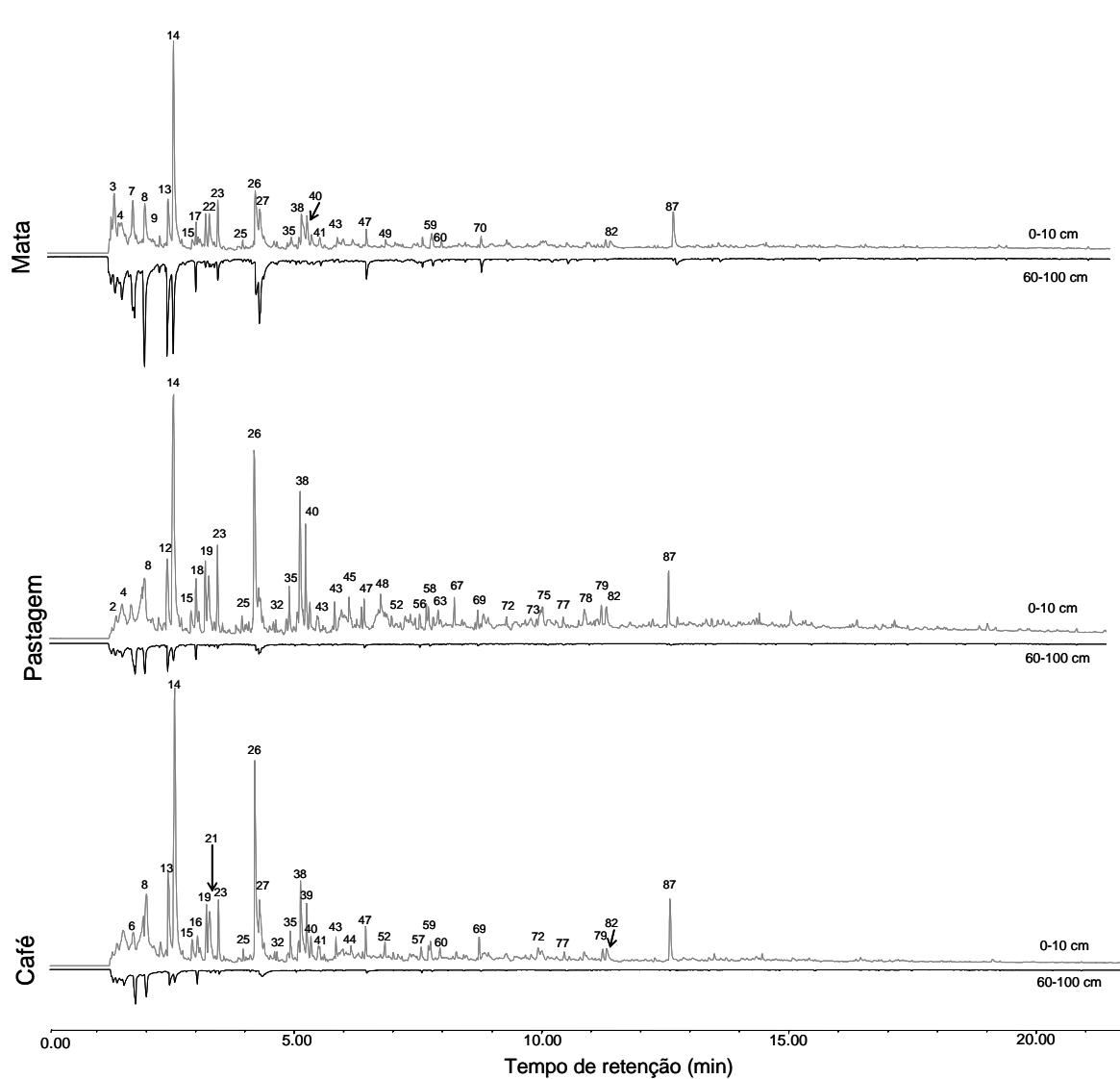


Fig. 2 – Cromatogramas dos produtos de pirólise (610 °C.) liberados de amostras de ácidos húmicos extraídos de Latossolo Vermelho-Amarelo húmico sob cultivo com café e pastagem. Os números sobre os picos estão identificados na Tabela 1.

1 **Tabela 1.** Principais produtos termodegradados por dessorção (280 °C) e pirólise
 2 (600 °C) identificados em amostras de ácidos húmicos extraídos de um Latossolo
 3 Vermelho-Amarelo húmico sob café, pastagem e mata.

| Nºdo Pico* | Compostos | Nºdo Pico* | Compostos |
|------------|-----------------------------|------------|-----------------------------------|
| 1 | Dióxido de enxofre | 45 | Fenol, 4-etil- |
| 2 | Metano, bromo- | 46 | p-cresol |
| 3 | metanotiol | 47 | Naftaleno |
| 4 | Metano, iodo- | 48 | ρ-4-vinilfenol |
| 5 | Furano, 3-metil- | 49 | 3-fenil-2-propin-1-ol |
| 6 | Furano, 2-metil- | 50 | Benzonitrila, 2-metil- |
| 7 | Ácido acético | 51 | Cinamaldeído |
| 8 | Benzeno | 52 | Benzenopropanenitrila |
| 9 | Ciclobutanocarbonitrila | 53 | 1,2,-benzenodiol, 3- metoxi |
| 10 | Furfural | 54 | 2-Metoxiresorcinol |
| 11 | Furandiona | 55 | 1-Trideceno |
| 12 | Piridina | 56 | Tridecano |
| 13 | Piridina, 1-metil- | 57 | 1H-Inden-1-ona, 2,3-dihidro |
| 14 | Tolueno | 58 | 1H-Indole |
| 15 | Piridina, 2-metil- | 59 | Naftaleno, 1-metil- |
| 16 | 1H-pirrole, 2-metil- | 60 | Naftaleno, 2-metil- |
| 17 | 2,4-Dimetil-1-heptene | 61 | 1H-Indole, 2,3-dihidro- |
| 18 | 1H-Pirrole, 3-metil- | 62 | 4-vinil-2-metoxi-fenol |
| 19 | Benzeno, etil- | 63 | Naftaleno, 2-metil- |
| 20 | ρ-xileno | 64 | Benzenamina, 2,6-dietil- |
| 21 | o-xileno | 65 | Fitálico anidro |
| 22 | ρ-xileno | 66 | 2-isopropil-6-metilanilina |
| 23 | Estireno | 67 | Fenol, 2,6-dimetoxi- |
| 24 | 5-metil furfural | 68 | Bifenil |
| 25 | Propil benzeno | 69 | Naftaleno, 2-etenil- |
| 26 | Fenol | 70 | 1H-indole, 2-metil- |
| 27 | Benzonitrila | 71 | 1H-indole-1,3-(2H)-diona, 2 metil |
| 28 | Piridina, 3-metoxi- | 72 | Piridina, 3-fenil- |
| 29 | Benzonitrila | 73 | Vanilina |
| 30 | N-Acrilonitrilaziridina | 74 | Acetovanilona |
| 31 | 1,2,3-trimetil benceno | 75 | Acetamida,n-(2,4-dihidroxifenil) |
| 32 | 1-propenil benzeno | 76 | Dibenzofurano |
| 33 | Benzenoacetaldeído | 77 | 2(1H)-Quinolinona, 1-hidroxi- |
| 34 | 1H-Indano | 78 | 9H-Fluoreno |
| 35 | Fenol, 2-metil - | 79 | Fitalato dietil |
| 36 | Acetofenona | 80 | 2-metil-4H-1-benzotiopiran-4-ona |
| 37 | Benzonitrila, 2-metil - | 81 | Benzofurano |
| 38 | Fenol, 4-metil - | 82 | Dibenzofurano, 4-metil-, |
| 39 | Fenol, 2-metoxi- (guaiacol) | 83 | Fitalato dibutil |
| 40 | Benzonitrila, 2-metil-, | 84 | Indolina, 2,3-dietil-3-metil - |
| 41 | Benzonitrila, 4-metil-, | 85 | 2-fenoxi-, fenol |
| 42 | Levogluosano | 86 | [1,1'-Bifenil]-2,3-dio |
| 43 | Benzil nitrila | 87 | Alachlor |
| 44 | 3-etil-, fenol | | |

* números dos picos como mostrado nas Fig. 1 e 2.

4
5
6
7
8

1 Ao considerarmos picos com >1% da área total do TIC observamos que foram
2 liberados por dessorção cerca de 55 e 29% de diferentes compostos para AHs e AFs,
3 respectivamente. Já sob pirólise houve volatilização de aproximadamente 45 e 70% dos
4 compostos presentes nos AHs e AFs, respectivamente (dados não mostrados). Essa
5 diferenciação em termos de produtos termoevaporados por dessorção e pirólise evidencia
6 que os AF extraídos deste Latossolo húmico apresentaram maior diversidade de compostos
7 termoestáveis em detrimento àqueles fracamente adsorvidos na estrutura, os quais
8 preferencialmente eram compostos originados de polissacarídeos (Tabela 4).

9 O pico 23 (Tabela 2) referente ao fenol é dominante no cromatograma dos produtos
10 de pirólise dos AFs. Também observamos presença de alquilfenóis como 2-metilfenol, 4-
11 metilfenol e 3-etilfenol, correspondendo respectivamente aos picos 31, 32 e 40 (Tabela 2).
12 Assim, os AFs deste solo apresentaram dominância em compostos fenólicos quando
13 comparado aos AHs. Tanto os fenóis quanto os alquilfenóis podem ser gerados em
14 pirolisados de lignina, proteínas, taninos e polissacarídeos (Saiz-Jimenez & Leeuw, 1986;
15 van Heemst et al., 1999).

16 Os metoxifenóis são típicos produtos da pirólise da lignina (Sainz-Jimenez &
17 Leeuw, 1986) e a presença de 2,6-dimetoxifenol (unidades siringila) e de 2-metoxifenol
18 (unidades guaiacila) em nossos cromatogramas, tanto para AHs quanto AFs, mostra a
19 contribuição de lignina na estrutura dessas frações humificadas. A maior proporção nos
20 cromatogramas de unidades originadas de guaiacila (2-metoxifenol) em detrimento das
21 provindas de siringila (2,6-dimetoxifenol) corrobora com o fato de que as unidades de
22 siringila são menos resistente à biodegradação (Sanger et al., 1997).

23 Maior parte dos compostos derivados da lignina na estrutura nos AHs extraídos na
24 profundidade de 0-10 cm dos solos cultivados estavam fracamente ligadas à estrutura
25 desses ácidos (Tabela 3). Esse resultado indica que houve recentes contribuições em
26 compostos derivados da lignina na estrutura dos AHs extraídos dos solos cultivados,
27 principalmente sob pastagem. Observamos com a profundidade ausência de compostos de
28 lignina ligados na estrutura dos AHs (dessorção) assim como redução na proporção de
29 lignina no núcleo termoestável (pirólise) dos AHs (Tabela 3).

30
31
32
33

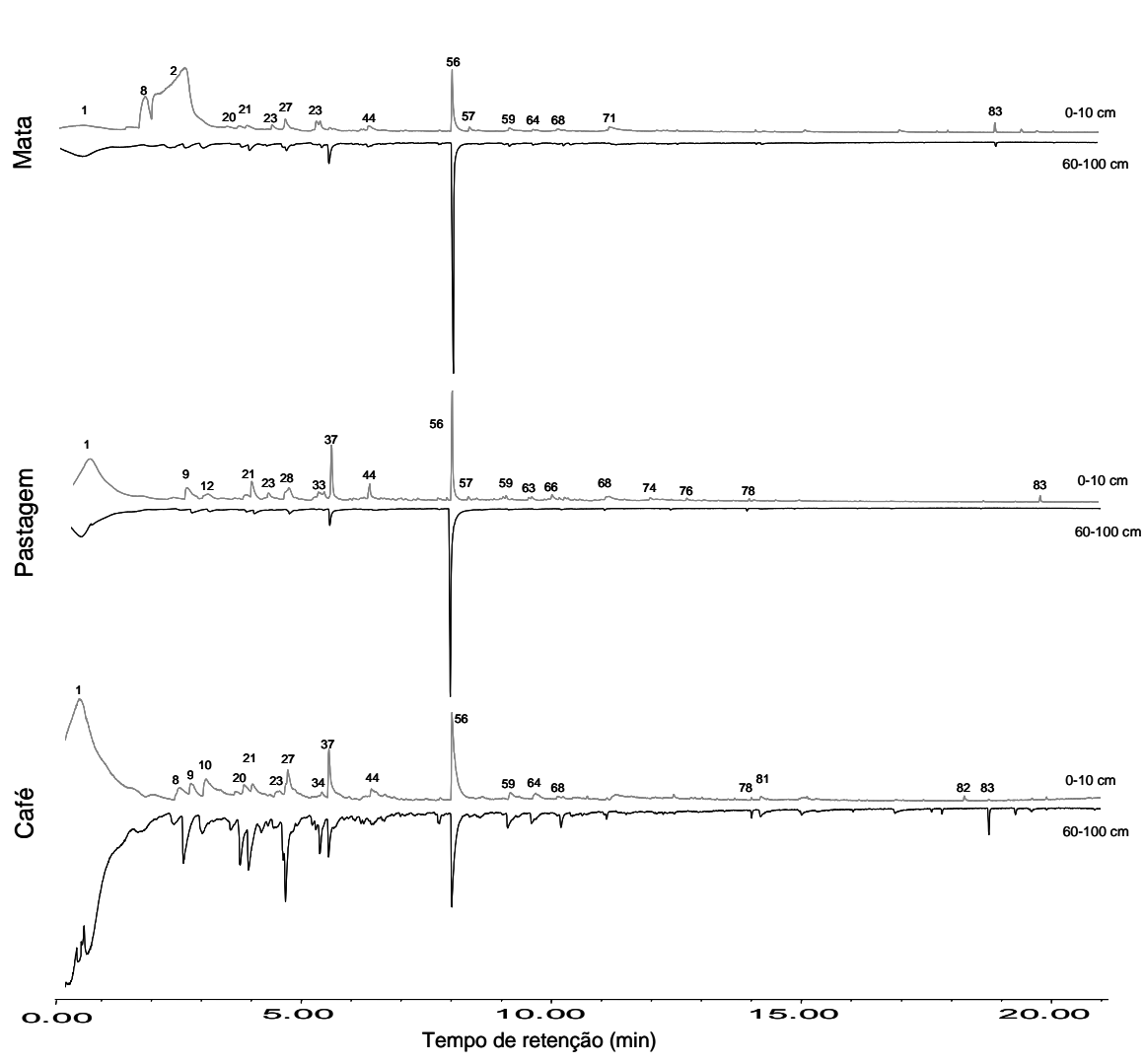


Fig. 3 – Cromatogramas dos compostos termovaporados (280 °C.) liberados de amostras de ácidos fúlvicos extraídos de Latossolo Vermelho-Amarelo húmico sob cultivo com café e pastagem. Os números sobre os picos estão identificados na Tabela 2.

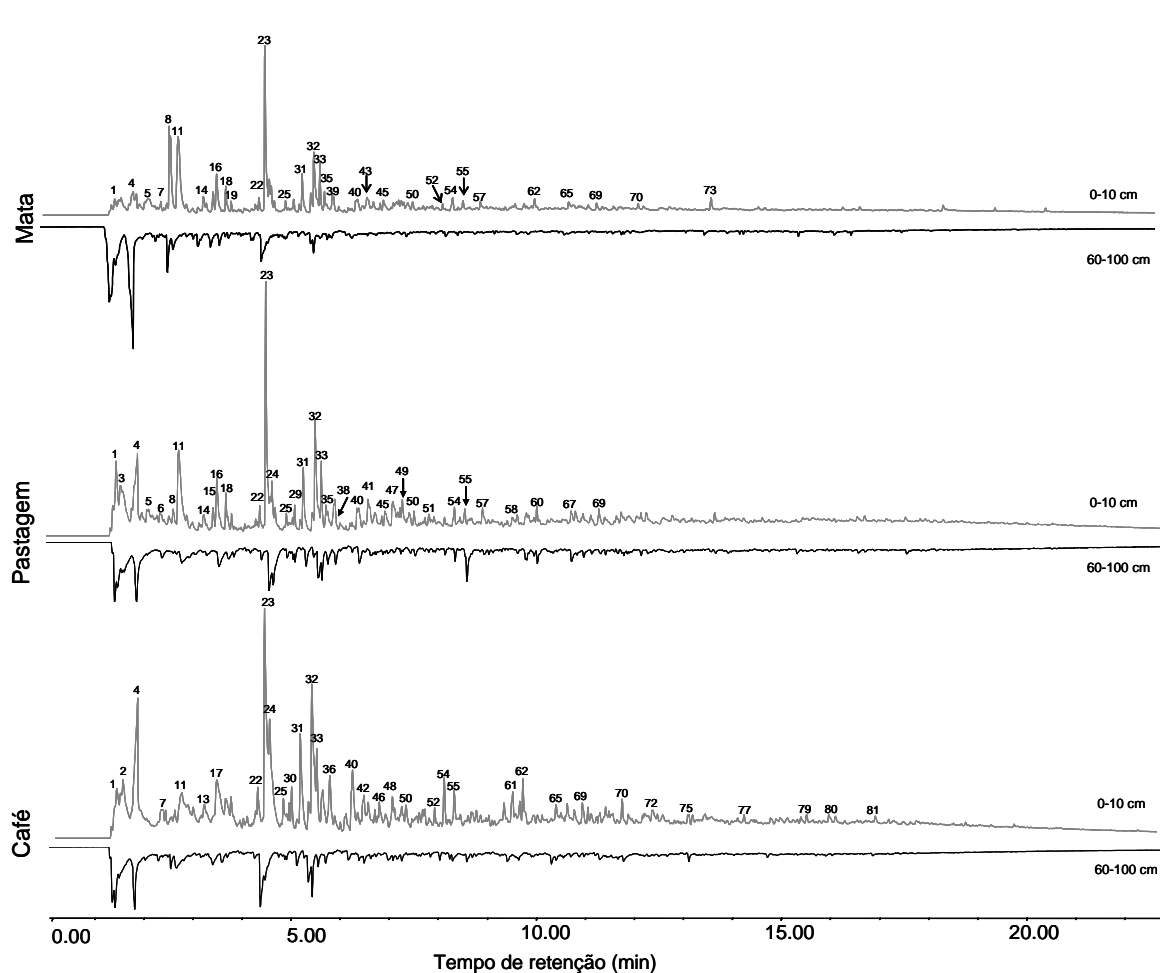


Fig. 4 – Cromatogramas dos produtos de pirólise (610 °C.) liberados de amostras de ácidos fúlvicos extraídos de Latossolo Vermelho-Amarelo húmico sob cultivo com café e pastagem. Os números sobre os picos estão identificados na Tabela 2.

1 **Tabela 2.** Principais produtos termodegradados por dessorção (280 °C) e pirólise (600 °C)
 2 identificados em amostras de ácidos fúlvicos extraídos de um Latossolo Vermelho-Amarelo
 3 húmico sob café, pastagem e mata.

| Nº do Pico | Compostos | Nº do Pico | Compostos |
|------------|-----------------------------------|------------|-------------------------------------|
| 1 | Dióxido de enxofre | 43 | Fenol, 3-etil- |
| 2 | Metano, iodo-, | 44 | Ácido Benzoico |
| 3 | Pentanal, 2-metil- | 45 | Naftaleno |
| 4 | Ácido acético | 46 | Fenol, 3,4-dimetil- |
| 5 | Benzeno | 47 | 1,2-Benzenodiol |
| 6 | Furano, 2,5-dimetil- | 48 | Benzofurano, 4,7-dimetil- |
| 7 | Ácido propanoico | 49 | Benzofurano, 2,3-dihidro- |
| 8 | Piridina | 50 | 2-Coumaranona |
| 9 | Furfural | 51 | 1,2-Benzenodiol, 3-metoxi- |
| 10 | Maleico anidrido | 52 | 1H-Inden-1-ona, 2,3-dihidro- |
| 11 | Benzeno, metil- | 53 | Naftaleno, 2-metil- |
| 12 | 2,5-Furandiona | 54 | Naftaleno, 1-metil- |
| 13 | Furano, 3 metil- | 55 | Naftaleno, 2-metil- |
| 14 | 1H-Pirrole, 3-metil- | 56 | 1,3-Isobenzofuranodiona |
| 15 | Benzeno, etil- | 57 | Fenol, 2,6-dimetoxi- |
| 16 | o-Xileno | 58 | 1,3-Isobenzofuranona |
| 17 | p-Xileno | 59 | 1,3-Isobenzofuranodiona, 4-metil- |
| 18 | Estireno | 60 | Naftaleno, 1,7-dimetil- |
| 19 | 2-Ciclopenten-1-ona, 2-metil-, | 61 | Naftaleno, 1,5-dimetil- |
| 20 | 2,5-Furandiona, 3-metil- | 62 | Naftaleno, 2,6-dimetil- |
| 21 | 2-Furancarboxaldeido, 5-metil- | 63 | 1,4-Ciclohexanediona |
| 22 | 2-Ciclopenten-1-one, 3-metil- | 64 | 4-Metilfitálico anidrido |
| 23 | Fenol | 65 | 1H-isoindole-1,3(2H)-diona |
| 24 | Benzeno, 1,2,4-trimetil- | 66 | Acetovanilona |
| 25 | Benzeno, 1,2,3-trimetil- | 67 | 1H-isoindole-1,3(2H)-diona |
| 26 | Benzonitrila | 68 | Etanona, 1-(4-hidroxi-3-metoxifenil |
| 27 | 2,5-Furandiona, 3,4-dimetil- | 69 | Dibenzofurano |
| 28 | 1H-pirazole, 3-metil- | 70 | 9H-fluoreno |
| 29 | 2,3-Dimetil-2-ciclopenten-1-one | 71 | Ácido benzoico, 4-hidroxi-3-metoxi- |
| 30 | 2-Ciclopenten-1-one, 2,3-dimetil- | 72 | 9H fluoren-9-ol |
| 31 | Fenol, 2-metil- | 73 | 1,1'-bifenil-2,3-diol |
| 32 | Fenol, 4-metil- | 74 | Benzaldeído, 4-hidroxi-3,5-dimetoxi |
| 33 | Fenol, 2-metoxi- | 75 | 9H-Fluoreno, 1-metil- |
| 34 | 1,3-pentadieno | 76 | Acetosiringona |
| 35 | Benzonitrila, 2-metil- | 77 | Antraceno |
| 36 | Benzonitrila, 4-metil- | 78 | Isobutil fitalato |
| 37 | Levoglusano | 79 | Fenantreno |
| 38 | Benzofurano, 2-metil- | 80 | Xantona |
| 39 | Benzonitrila, 4-metil- | 81 | Anidrido 1,8-naftálico |
| 40 | Fenol, 2,4-dimetil- | 82 | 4- ácido metoxicinâmico |
| 41 | Fenol, 4-etil- | 83 | Ácido hexanodióico bis(2-etilhexil) |
| 42 | Fenol, 2-etil- | | |

4 * números dos picos como mostrado nas Fig. 3 e 4.

5
6
7
8
9

1 Sainz-Jimenez & Leeuw (1987) relataram que os produtos de lignina podem ser
 2 coextraídos com AHs ou podendo estar simplesmente ligado à estrutura destes, porém os
 3 mesmos não contribuíram significativamente para a parte mais resistente dos AHs. Os
 4 autores concluíram também que o papel da lignina na formação das substâncias húmicas
 5 tem sido superestimado e, que biopolímeros alifáticos presente em cutículas e suberinas de
 6 plantas, podem sim representar os grupos mais importantes na estruturação dos AHs. Os
 7 nossos resultados mostraram que para os AHs na superfície do solo o núcleo estrutural
 8 estável foi preferencialmente constituído por compostos aromáticos, nitrogenados e
 9 fenólicos, respectivamente. Já os AHs em subsuperfície constituíram-se em sua maioria de
 10 compostos aromáticos, nitrogenados e alifáticos, com exceção daqueles extraídos sob mata
 11 que mantiveram a mesma proporção dos da superfície. Evidenciamos assim que com a
 12 humificação houve aumento na proporção de compostos alifáticos na estrutura dos AHs
 13 (Tabela 3).

14

15 **Tabela 3** – Porcentagens^a relativas dos diferentes grupos de compostos identificados por
 16 dessorção e pirólise de ácidos húmicos extraídos de um Latossolo Húmico sob café, pasto e
 17 mata

| Compostos | Café | | Pasto | | Mata | |
|------------------------------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
| | Dessorção | Pirólise | Dessorção | Pirólise | Dessorção | Pirólise |
| 0-10 cm | | | | | | |
| Alifáticos | 3.34 | 1.76 | 7.46 | 3.99 | 22.49 | 2.10 |
| Aromáticos | nd | 38.11 | 14.26 | 42.5 | 19.52 | 42.94 |
| Ácidos Graxos | nd | 0.26 | 15.88 | 0.66 | 1.69 | 0.43 |
| Lignina | 5.63 | 2.73 | 16.73 | 5.97 | nd | 6.10 |
| Compostos de N | nd | 26.43 | 10.95 | 20.75 | 42.71 | 16.95 |
| Poliaromáticos | nd | 3.56 | nd | 3.48 | 0.80 | 4.87 |
| Fenóis | nd | 22.51 | 1.23 | 19.07 | nd | 10.76 |
| Polissacarídeos | 91.02 | 2.97 | 32.36 | 1.84 | 11.81 | 1.33 |
| B/E₃^b | - | 0.25 | - | 0.18 | - | 0.22 |
| 60-100 cm | | | | | | |
| | Dessorção | Pirólise | Dessorção | Pirólise | Dessorção | Pirólise |
| Alifáticos | 66.08 | 9.79 | 24.63 | 5.82 | 8.00 | 3.30 |
| Aromáticos | 8.69 | 34.29 | 6.48 | 30.83 | 0.57 | 40.80 |
| Ácidos Graxos | 3.84 | 0.34 | nd | 0.78 | nd | nd |
| Lignina | | 0.28 | nd | 0.35 | nd | nd |
| Compostos de N | 11.21 | 12.50 | 44.03 | 16.15 | 26.18 | 25.00 |
| Poliaromáticos | 1.22 | 2.78 | 6.45 | 2.42 | nd | 4.34 |
| Fenóis | nd | 1.89 | nd | 2.89 | nd | 6.03 |
| Polissacarídeos | 8.91 | 0.57 | 23.86 | 1.67 | 5.66 | 1.41 |
| B/E₃ | | 1.88 | | 2.18 | | 1.15 |

18 ^{a)}Resultados em % relativos da área integrada do cromatograma do íon total (TIC). Os valores que restam
 19 correspondem a SO₂, dimetil ester e ácido acético, ^{b)} B/E₃ = razão entre as proporções de benzeno e
 20 tolueno no TIC.

21

22

1 O índice B/E3 (Benzeno/Tolueno), faz referência ao grau de condensação dos anéis
2 aromáticos, onde quanto maior o seu valor, maior será a humificação da MOS presente
3 (Ceccanti et al., 1986). Assim, observamos aumento deste índice para AHs extraídos na
4 subsuperfície (60-100 cm), evidenciando núcleo estrutural com anéis aromáticos mais
5 condensados que aqueles presentes na superfície do solo (Tabela 3). Apesar dos
6 cromatogramas da pirólise dos AHs extraídos entre 0-10 cm de profundidade sob mata,
7 pastagem e café apresentarem certa similaridade (Fig. 2) observamos certa diferenciação
8 em termos dos núcleos aromáticos presentes nestas amostras. Os AHs sob café, apesar de
9 apresentarem menores proporções de compostos aromáticos em superfície, são estes de
10 características mais condensadas comparado aos de pastagem e mata. Em função do
11 aumento na condensação dos anéis aromáticos dos AHs sob pastagem acreditamos que, em
12 nossas condições subtropicais, quanto menor o índice B/E3 em AHs mais intensamente será
13 o processo que conduz à humificação destes ácidos.

14 A presença do composto *p*-4-vinilfenol na estrutura de AHs extraídos de solo sob
15 pastagem (Fig. 1 e 2) confirmam contribuição de lignina proveniente de gramíneas (Sainz -
16 Jimenez & Leeuw, 1986). Por outro lado, na estrutura dos AFs os compostos de lignina
17 encontram-se mais fortemente ligados, ou seja, sendo assim termicamente mais estáveis
18 (Tabela 4). A não detecção de ligninas em algumas amostras como, por exemplo, em
19 pirolisados de AHs extraídos sob mata (Tabela 3), não significa que as mesmas não possam
20 estar presentes. Martín et al. (1994) alertou para o fato de que compostos de lignina podem
21 sofrer reações de descarboxilação em condições de pirólise direta. Provavelmente, muito
22 dos compostos derivados de polifenóis também podem ser procedentes da degradação da
23 lignina (reações de demetoxilação).

24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

1
2
3
4

Tabela 4 – Porcentagens relativas ^(*) dos diferentes grupos de compostos identificados por dessorção e pirólise de ácidos fúlvicos extraídos de um Latossolo Húmico sob café, pasto e mata

| Compostos | Café | | Pasto | | Mata | |
|---------------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
| | Dessorção | Pirólise | Dessorção | Pirólise | Dessorção | Pirólise |
| 0-10 cm | | | | | | |
| Alifáticos | 1.71 | 0.27 | 1.77 | 0.72 | 0.71 | 2.23 |
| Aromáticos | 8.20 | 25.61 | 16.28 | 31.38 | 4.88 | 28.81 |
| Ácidos Graxos | | 0.91 | 1.04 | 0.64 | 3.76 | 3.09 |
| Lignina | | 2.45 | 3.18 | 5.26 | 5.34 | 4.80 |
| Compostos de N | 7.28 | 5.63 | 2.44 | 9.94 | 52.23 | 12.10 |
| Poliaromáticos | | 10.44 | 2.92 | 3.04 | | 4.20 |
| Fenóis | 1.72 | 32.81 | | 28.99 | 2.07 | 27.60 |
| Polissacarídeos | 39.06 | 6.37 | 69.26 | 8.24 | 31.02 | 2.13 |
| Derivados do Indene | | 1.84 | | 1.92 | | 1.29 |
| 60-100 cm | | | | | | |
| | Dessorção | Pirólise | Dessorção | Pirólise | Dessorção | Pirólise |
| Alifáticos | 4.51 | 2.01 | 7.80 | 1.03 | 1.07 | 1.46 |
| Aromáticos | 13.48 | 17.90 | | 27.36 | 1.36 | 9.08 |
| Ácidos Graxos | 5.06 | 1.09 | 2.25 | 1.40 | 0.84 | 1.59 |
| Lignina | 1.12 | 6.42 | | 4.31 | | 2.48 |
| Compostos de N | 0.56 | 7.99 | | 9.42 | | 15.34 |
| Poliaromáticos | 0.42 | 3.50 | | 7.03 | | 1.36 |
| Fenóis | 1.27 | 17.19 | | 19.93 | | 12.65 |
| Polissacarídeos | 74.05 | 6.28 | 89.95 | 8.60 | 96.72 | 7.21 |
| Derivados do Indene | | 0.73 | | 1.42 | | |

5 ^(*) Resultados em % relativos da área integrada do cromatograma do íon total (TIC). Os valores
6 que restam correspondem a SO₂, dimetil ester e ácido acético.
7

8 Consideráveis proporções de compostos nitrogenados foram detectados na estrutura
9 dos AHs, principalmente para aqueles extraídos sob solo de mata natural (Tabela 2). De
10 acordo com Stevenson (1994) as reações de condensação de quinonas se encontram
11 favorecidas pela presença de compostos nitrogenados formando arilaminas e, que este
12 mecanismo pode explicar a incorporação do N nas substâncias húmicas.

13 Para os AHs extraídos entre 0-10 cm do solo sob café, não houve termoevaporação
14 de compostos nitrogenados à 280°C (Tabela 3), revelando ausência de formas de N mais
15 “disponíveis”, sendo em sua maioria fortemente ligados na estrutura desses ácidos,
16 demonstrando pobreza no aporte de N em sistema convencional de cultivo com café. Por
17 outro lado, AHs extraídos da mata demonstraram ter consideráveis proporções desses
18 compostos periféricamente adsorvidos na sua estrutura, principalmente na estrutura dos
19 AFs (Tabela 4). A Mata Atlântica em sua flora possui diversas espécies de leguminosas
20 arbustivas e arbóreas que contribuem para a fixação biológica de N, favorecendo assim
21 importantes aportes desse elemento no solo. Por outro lado, a diversidade da composição
22 química presente na biomassa produzida e estocada como serapilheira em sistemas naturais,

1 comparada à monocultura em sistemas de café, pode também ser responsável na maior
2 contribuição em N nas estruturas humificadas da matéria orgânica deste solo.
3 Surpreendentemente observamos aumento na proporção de compostos nitrogenados
4 liberados por dessorção para os AHs extraídos entre 60-100 cm dos solos cultivados
5 (Tabela 3), concomitante à redução na proporção destes compostos na estrutura
6 termoestável destes ácidos. Esse resultado indica a existência de perdas progressivas em
7 compostos nitrogenados à medida que as substâncias húmicas evoluem no perfil do
8 solo.

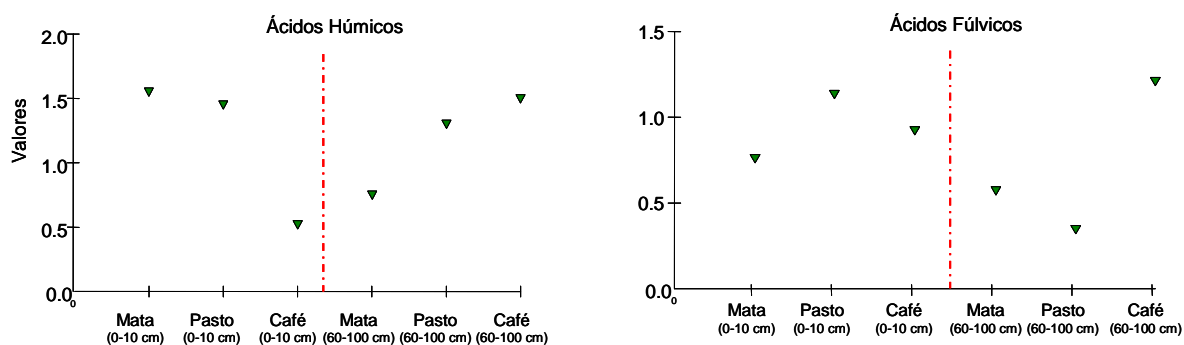
9 No geral, os compostos nitrogenados dos AHs liberados por dessorção apresentaram
10 maior diversidade estrutural, com mais de 77 tipos diferentes, sendo que por pirólise apenas
11 47 compostos nitrogenados foram identificados. Os compostos nitrogenados mais comuns
12 foram as benzonitrilas, piridinas e derivados do pirrol. Para os AFs, tanto por dessorção
13 quanto pirólise, foram identificados mais de 40 tipos de compostos nitrogenados (dados não
14 mostrados), sendo os mais comuns piridinas, benzonitrilas, pirroles e isoindoles. A maior
15 parte dos compostos nitrogenados presentes nos AHs e AFs extraídos do solo sob mata foi
16 liberada por dessorção, fato que revela ligações mais fracas desses compostos na estrutura
17 das SHs, podendo ser explicado por contribuições mais recentes. De acordo com Sainz-
18 Jimenez & Leew (1985) grande parte dos compostos nitrogenados do solo são componentes
19 estruturais dos microrganismos; assim, maiores proporções de N nas estruturas de SHs
20 indicam contribuições da atividade microbiana do solo.

21 Os AHs extraídos na superfície apresentaram maior proporção de compostos
22 aromáticos, nitrogenados e de polifenóis, enquanto que àqueles extraídos entre 60-100 cm
23 apresentaram em sua maioria compostos aromáticos, alifáticos e nitrogenados (Tabela 2). A
24 maior aromaticidade destes AHs corrobora com resultados encontrados por Assis et al.
25 2008, onde os autores, utilizando a técnica CP-MAS RMN de ^{13}C , observaram 40% de
26 aromaticidade em AHs extraídos de Latossolos Húmicos.

27 A partir da análise dos 196 compostos produzidos na pirólise dos AHs verificamos,
28 por meio do índice de Shannon, maior diversidade estrutural naqueles extraídos da
29 superfície do solo (Fig. 4).

30
31
32
33
34

DESSORÇÃO



PIRÓLISE

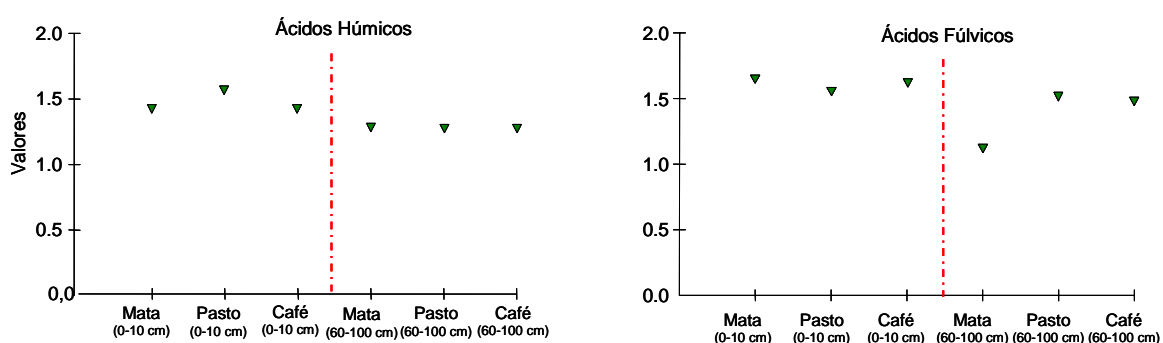


Fig. 4 – Avaliação do índice de diversidade de Shannon para os compostos liberados por dessorção (280 °C) e pirólise (610 °C) de ácidos húmicos e fúlvicos extraídos a 0-10 e 60-100 cm de um Latossolo Vermelho-Amarelo húmico sob mata, pastagem e café.

Sob dessorção foram liberados 243 compostos diferentes, sendo que dentro dos diferentes sistemas de uso da terra a cafeicultura apresentou menor diversidade. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que, sob cultivo convencional de café, há pouca diversidade na composição química da biomassa gerada, permanecendo assim herança química estrutural mais homogênea na matriz húmica. Por outro lado, observamos maior diversidade de compostos liberados da dessorção de AHs sob mata e pastagem, respectivamente. A redução com a profundidade da diversidade estrutural dos produtos liberados por dessorção nos AHs sob mata e pastagem pode ser resultado da rápida biodegradação dos diferentes compostos anteriormente ligados à estrutura, em função da própria diversidade apresentada pelos mesmos.

1 **4 – CONCLUSÕES**

2 1) Ácidos húmicos e fúlvicos presentes na superfície do solo apresentam maior
3 diversidade (riqueza estrutural) que aqueles extraídos em profundidade.

4 2) Substâncias húmicas extraídas do solo sob mata apresentam maior contribuição
5 de estruturas nitrogenadas.

6 3) Superficialmente, o cultivo do solo promove redução de compostos alifáticos e
7 nitrogenados na estrutura dos AHs e; de compostos fenólicos, nitrogenados, de lignina e
8 ácidos graxos na estrutura dos AF.

9 4) O uso com pastagem contribui efetivamente na incorporação de compostos de
10 lignina na composição estrutural de ácidos húmicos e fúlvicos.

11 **5 - AGRADECIMENTOS**

12 À FAPEMIG pelo apoio financeiro e ao CNPq pela concessão da bolsa.

13 **6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

14 Almendros, G., Gonzalez-Vila, F.J. 1987. Degradative studies on a soil humin fraction—
15 Sequential degradation of inherited humin. *Soil Biology and Biochemistry*, 19: 513-
16 520.

17 Andreux, F.; Cerri.C.C. 1989. Current trends in the research on soil changes due to
18 deforestation, burning and cultivation in the Brazilian tropics. *Toxicology*
19 *Environmental Chemicals*, 20:275-283.

20 Arias, M.E., Polvillo, O., Rodríguez, J., Hernández, M., Gonzalez-Perez, J.A., González-
21 Vila, F.J., 2006. Termal transformations of pine Wood components under pyrolysis/gas
22 chromatography/mass spectrometry conditions. *Journal of Analytical and Applied*
23 *Pyrolysis* 77: 63-67.

24 Canellas, L.P.; Espindola, J.A.; Rezende, C.E.; Camargo, P.B.; Zandonadi, J.A.A.;
25 Rumjanek, V.M.; Guerra, J.G.M.; Teixeira,M.G.; Braz-Filho, R. 2004. Organic matter
26 quality in a soil cultivated with perennial herbaceous legumes. *Scientia Agrícola*, 61:
27 53-61.

28 Ceccanti, B., Alcaniz, J.M., Gispert, M., Gassiot, M., 1986. Characterization of organic
29 matter from two different soils by pyrolysis-gas chromatography and
30 isoelectrofocusing. *Soil Science*142: 83-90.

- 1 Gleixner, G.; Poirier, N.; Bol, R.; Balesdent, J. 2002. Molecular dynamics of organic matter
2 in a cultivated soil. *Organic Geochemistry*, 33:357366.
- 3 Deniau, I., Derenne, S., Beaucaire, C., Pitsch, H., Largeau, C. 2004. Occurrence and nature
4 of thermolabile compounds in the Boom Clay kerogen (Oligocene, underground Mol
5 Laboratory, Belgium). *Organic Geochemistry*, 35; 91107.
- 6 González-Vila, F.J., Amblès, A., del Río, J.C., Grasset, L., 2001. Characterization and
7 differentiation of kerogens by pyrolytic and chemical degradation techniques. *Journal*
8 *Analytical Applied. Pyrolysis* 59:315328.
- 9 González-Pérez, J.A., Arbelo, C.D., Gonzalez-Vila, F.J. Rodriguez Rodriguez, A.
10 Almendros, G. Armas, C.M., Polvillo, O. 2007. Molecular features of organic matter in
11 diagnostic horizons from andosols as seen by analytical pyrolysis. *Journal Analytical*
12 *Applied. Pyrolysis*, 80: 369-382.
- 13 Hayes, M. H. B. 1991. Concepts of the origins, composition, and structures of humic
14 substances. En: *Advances in Soil Organic Matter Research: The Impact on Agriculture*
15 *and the Environment* (Wilson, W. S., ed.). The Royal Society of Chemistry: Cambridge,
16 p.3-22.
- 17 Magrini, K.A., Evans, R.J., Hoover, C.M., Elam, C.C. & Davis, M.F. 2002. Use of
18 pyrolysis molecular beam mass spectrometry (py-MBMS) to characterize forest soil
19 carbon: method and preliminary results. *Environmental Pollution*, 116: 255268.
- 20 Marinari, S., Liburdi, K., Masciandaro, G., Ceccanti, B., Grego, S., 2007. Humification-
21 mineralization pyrolytic indices and carbon fractions of soil under organic and
22 conventional management in central Italy. *Soil & Tillage Research*, 92: 10-17.
- 23 Quéneá, K., Derenne, S., González-Vila, F.J., González-Pérez, J.A., Mariotti, A., Largeau,
24 C. 2006. Double-shot pyrolysis of the non-hydrolysable organic fraction isolated from a
25 sandy forest soil (Landes de Gascogne, South-West France): Comparison with classical
26 Curie point pyrolysis. *Journal of Analytical Applied and Pyrolysis*, 76: 271279.
- 27 Nierop, K.G.; Pulleman, M.M.; Marinissen, J.C.Y. 2001. Management induced organic
28 matter differentiation in grassland and arable soil: a study using pyrolysis techniques.
29 *Soil Biology and Biochemistry*, 33: 755764.
- 30 Saiz-Jiménez, C., de Leeuw, J.W., 1987. Chemical structure of soil humic acid as revealed
31 by analytical pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 11: 367-376.
- 32 Saiz-Jiménez, C., de Leeuw, J.W., 1985. Pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry
33 of soil polysaccharides, soil fulvic acids and polymaleic acid. *Organic Geochemistry*,
34 6:287-293.

- 1 Sanger, L.J., Anderson, J.M., Little, D., Bolger, T., 1997. Phenolic and carbohydrate
2 signatures of organic matter in soils developed under grass and forest plantations
3 following changes in land use. *European Journal of Soil Science* 48, 311–317.
- 4 Schulten, H.R.; Schnitzer, M. 1992. Structural studies on soil humic acids by Curie-Point
5 pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. *Soil Science*, 153: 205224.
- 6 Stevenson, F.J. 1994. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2nd ed. New York:
7 Wiley. 496p.
- 8 Swift, R.S., 1996. Organic matter characterization. In: Sparks, D.L. (Ed.), *Methods of Soil*
9 *Analysis, Part 3: Chemical Methods*. SSSA Book Series No. 5. SSSA and ASA,
10 Madison, WI., pp. 1011–1069.
- 11 Resende, M.; Curi, N.; Rezende, S.B. & Corrêa, G.F. 2002. *Pedologia: base para distinção*
12 *de ambientes*. 4^a edição, Viçosa: NEPUT, 338p.
- 13 Duchaufou, Ph. 1970. Humification et écologie. CAHs. ORTOM. Sér. Pédol., N.4.
- 14 Ribeiro, A. C.; Resende, M.; Fernandes, B. 1972. Latossolos com horizonte subsuperficial
15 escurecido na região de Viçosa. *Revista Ceres*, 19:280:298.
- 16 Martín, F., del Río, J.C., González-Vila, F.J., Verdejo, T. 1995. Pyrolysis derivatization of
17 humic substances. II. Pyrolysis of soil humic acids in the presence of
18 tetramethylammonium hydroxide (TMAHS). *J. Anal. App Pyrol.*31:75-83
- 19 Masciandaro, G., Ceccanti, B., Gallardo-Lancho, J.F., 1998. Organic matter properties in
20 cultivated versus set-aside arable soils. *Agric. Ecol. Environ.* 67: 267-274.
- 21 MacCallister, D.L.; Chien, W.L. 2000. Organic carbon quality and forms as influenced by
22 tillage and cropping sequence. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 31:465-479.
- 23 ODUM, E.P. *Ecologia*. Rio de Janeiro, Guanabara, 1983. 434p.
- 24 van Heemst, J.D.H., van Bergen, P.F., Stankiewicz, B.A., de Leeuw, J.W., 1999. Multiple
25 sources of alkylphenols produced upon pyrolysis of DOM, POM and recent sediments.
26 *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 52, 239–256.
- 27

CONCLUSÕES GERAIS

Nos Latossolos com horizonte A húmico os teores de carbono (C) da biomassa são baixos, quer por sua distrofia natural, quer pela altitude em que ocorrem. Práticas culturais que incrementem essa biomassa são importantes para a sustentabilidade agrícola. Nas condições ideais de calagem, ou seja, aplicação de 100% da necessidade do solo, e na presença de fontes de fósforo e C lábil, mais C é incorporado na biomassa do solo, reduzindo assim a perda de C como CO₂. A calagem neste solo também atua na movimentação do C no compartimento estável, no sentido de diminuir o C da fração ácido húmico (AHs) e aumentar o C da fração humina. Considerando que neste solo, mais de 80% do C total representa seu compartimento estável (Assis et al. 2006, dados não publicados), sendo que em média 40% corresponde à fração AHs, a prática de se corrigir estes Latossolos promoverá importantes modificações neste compartimento ao longo do tempo.

O impacto promovido pelas mudanças na cobertura do solo pode ser avaliado através da análise de lipídios totais, assim como a composição molecular dessa fração não-húmica. Nas camadas mais superficiais, maiores teores totais de lipídios são encontrados em solo sob vegetação natural. Na composição lipídica dos Latossolos Húmicos estudados predominam os ácidos graxos (AG). Na superfície, grande parte desses AG é herdada da serapilheira e, em subsuperfície provavelmente de exsudações radiculares. Os AG insaturados mostram-se indicadores sensíveis da degradação do solo. Compostos n-alcenos com C₂₉, C₃₁ e C₃₃ são importantes na determinação da contribuição da serapilheira no padrão de distribuição destes compostos no perfil do solo, principalmente quando se conhece o histórico de sucessão da cobertura vegetal.

Os estudos comparativos entre técnicas analíticas apropriadas possibilitam identificar mudanças na composição estrutural e molecular da matéria orgânica do solo (MOS). O estabelecimento do que possa ser a “impressão digital” dos AHs e fúlvicos (AFs) extraídos de horizonte A húmico de Latossolos revelaram pontos chaves:

- a) O escurecimento em subsuperfície no horizonte A pode ser resultado da presença de pigmentos melânicos de origem fúngica.
- b) Ácidos húmicos provenientes da região de Mata Atlântica apresentam maior descarboxilação, desidratação e aromaticidade quando comparados aos da região de Cerrado.

- 1 c) Ácidos fúlvicos retidos em XAD-8 possuem mais grupamentos COOH sendo
2 mais alifáticos e apresentando maiores contribuições de compostos originados
3 da oxidação de lignina.
- 4 d) A humificação dos AHs no perfil envolve diminuição de grupamentos alquílicos
5 e aumentos na região de sinal do C-aromático, sendo que essa aromaticidade é
6 devida principalmente a compostos benzenos e toluenos.
- 7 e) Os AHs e AFs extraídos de solo sob mata natural apresentam maior proporção
8 de compostos de N, sendo em sua maioria ligados fracamente à estrutura.
- 9 f) Dentro do horizonte A húmico, aqueles AHs extraídos da superfície apresentam
10 maior diversidade estrutural que os de subsuperfície.
- 11 g) Os mecanismos de estabilização provavelmente envolvem acumulações de
12 compostos nitrogenados heterocíclicos em AHs e de compostos aromáticos
13 (fenóis) em AFs.
- 14 h) A dessorção térmica a 280 °C mostra-se uma técnica sensível para diagnosticar
15 influências do uso da terra nas modificações estruturais de AHs e AFs.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)