



# VIII Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas

Matéria Orgânica Ambiental e Sustentabilidade  
2009 | Pelotas | RS

Realização:

**Embrapa**

Ministério de  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento

**RS**  
GOVERNO FEDERAL



International  
Humic Substances  
Society



Patrocínio:

**Microvisão**

Apoio:

**ARACOLA**



# SISTEMA PORTÁTIL DE FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR LASER PARA ANÁLISE DE MATÉRIA ORGÂNICA DE SOLOS E COMPOSTOS

Orlando Gonnelli Netto<sup>1</sup>, Débora Milori<sup>2</sup>, Aline Segnini<sup>3</sup>; Adolfo Posadas<sup>3</sup>; Ladislau Martin-Neto<sup>2</sup>

## Resumo

Será apresentado neste trabalho o sensor portátil de matéria orgânica que faz uso de espectroscopia de fluorescência induzida por laser (FIL) para excitar estruturas rígidas e insaturadas dos ácidos húmicos. Este sinal de emissão é proporcional ao grau de humificação da matéria orgânica, um parâmetro importante em pesquisas agrícolas e ambientais. Os resultados obtidos com o sistema portátil foram comparados com os obtidos em sistema de bancada, obtendo uma correlação em torno de 94% ( $p < 0,0001$ ) e diminuindo o tempo de aquisição e tratamento de dados em torno de 90%.

## Introdução

As SH são as maiores constituintes da fração orgânica dos solos. São altamente estáveis e estão diretamente relacionadas com sua fertilidade. O conhecimento de suas estruturas é essencial para entender a sustentabilidade dos diferentes sistemas agrícolas, a lixiviação de espécies químicas e o ciclo global do carbono, sendo de enorme importância para o aumento da produção de alimentos e o estudo do desenvolvimento e degradação ambiental. A estrutura molecular do ácido húmico (AH) ainda hoje é alvo de debates, sendo consenso entre os pesquisadores da área a proposta de dois modelos estruturais: o modelo macromolecular (Schulten e Schnitzer, 1997), e o modelo supramolecular (Wershaw, 1999; Conte e Piccolo, 1999; Simpson et al., 2002; Hayes e Clapp, 2001).

Apesar das discordâncias em relação à estrutura da MO, técnicas espectroscópicas têm sido utilizadas para a caracterização de seus constituintes. Técnicas como espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), ressonância magnética nuclear (RMN), ressonância paramagnética eletrônica (RPE) e fluorescência de luz uv-visível fornecem informações precisas sobre os grupos funcionais que as constituem. Elas possibilitam a avaliação do grau de humificação de uma maneira simples (Milori et al., 2002). O maior problema é que tais técnicas exigem a extração e fracionamento químico das SH do solo, e os produtos deste tratamento podem sofrer modificações em relação a sua forma *in situ* (Feller & Beare, 1997).

A Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (FIL) aplicada a solos é uma nova metodologia que tem se mostrado eficiente na análise da MO de solos intactos. Tais resultados são fornecidos de uma maneira ágil, limpa e em condições próximas das naturais. Mas, duas características básicas para a análise de amostras *in situ* não são encontradas no sistema FIL de bancada: velocidade no tempo de medição e a portabilidade.

<sup>1</sup> Universidade de São Paulo, Avenida Trabalhador São-carlense, nº 400, São Carlos, SP, neto\_ui@hotmail.com;

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, nº 1452, São Carlos, SP, debora@cnpdia.embrapa.br;

<sup>3</sup> Centro Internacional de la Papa, Av. La Molina 1895, La Molina, Lima, Peru;

## Material e métodos

O objetivo principal deste trabalho é buscar uma boa correlação entre o novo sistema portátil de avaliação do grau de matéria orgânica de solos a base de FIL e o já existente sistema de bancada, comparando os índices de humificação de amostras de solos analisadas por ambos os sistemas.

**Amostra de solo:** as amostras de solos são provenientes dos Andes, ao sul do Peru, próximo à cidade de San Antonio de Putina (Huayllapata) (14°90'08''S e 69°77'52''W). Regiões como estas são cobertas por uma vegetação natural conhecida como "Bofedales", utilizada de pastagem para animais nativos dos Andes. As amostras foram coletadas de duas áreas pantanosas distintas, que em geral possuem um alto grau de humificação. A amostra A advém de uma região de pântano degradada, que está perdendo a sua característica de pântano, ou seja, está secando. Amostra B advém de uma região pantanosa ainda preservada, mais úmida. Ambas possuem as mesmas quantidades de MO, mas concentrações de carbono diferentes. As amostras de solo foram coletadas em diferentes profundidades (0-2.5, 2.5-5, 10-20 e 20-30 cm), secas, peneiradas e prensadas em molde de aço (1 cm de diâmetro e 2 mm de espessura) com uma pressão de 4 toneladas em formato de pastilhas para facilitar a análise e evitar desperdícios.

**FIL de bancada:** O laser utilizado para excitar a amostra no sistema de bancada é um laser de argônio sintonizado na linha de 458 nm com potência de 300 mW. Através da coleta da fluorescência da amostra calcula-se o índice de humificação, dividindo-se a área abaixo da curva do espectro de fluorescência (ACF) pelo teor de carbono daquele solo (COT) (Milori et al., 2006). Desta forma, a área sob a curva de emissão de fluorescência é uma medida indireta da humificação da MO. A normalização pelo carbono orgânico total é necessária para que se avalie alterações estruturais da MO e não alterações devido ao aumento do teor de carbono (Milori et al., 2002).

**Sistema portátil FIL:** o protótipo é projetado para compactar em um só sistema todo o aparato de detecção e análise de MO e permitir a utilização do equipamento fora das condições do laboratório (Figura 1-a). Possui um laser de diodo (Coherent CUBE) emitindo em 405 nm com potencia máxima de 50 mW (1), acoplado a um cabo óptico de excitação (2) composto por seis fibras ópticas (diâmetro de 400 µm, comprimento de 2 m abertura numérica de 0,22 - Ocean Optics) (12) que excitam a amostra (7). A fluorescência e a refletância da amostra são coletadas por uma fibra óptica central (13) deste mesmo cabo óptico que conduziu a excitação (4, 5, 6 e 11). Após ser filtrado por um filtro óptico ajustável (3) para atenuar o efeito da refletância, o sinal é conduzido até um miniespectrômetro de alta sensibilidade (abertura de entrada de 200 µm, grade de 600 linhas por milímetro e janela de sensibilidade de 380 nm a 1058 nm - Ocean Optics) (9) através de um cabo óptico de emissão (diâmetro 1000 µm, comprimento de 2 m e abertura numérica de 0,22 - Ocean Optics) (8). A emissão da amostra é então decomposta através de uma grade de difração fixa e detectada por um array de fotodiodos previamente calibrados (9). Desta forma, obtêm-se o espectro de emissão que será enviado para um computador (10). Este fará o controle, a aquisição e o tratamento dos dados por meio de um software de aquisição de dados. A montagem está indicada na Figura 1-b. Foi desenvolvido um software para aquisição e tratamento dos dados (Figura 2-a) que traça o espectro da fluorescência das amostras (Figura 2-b).

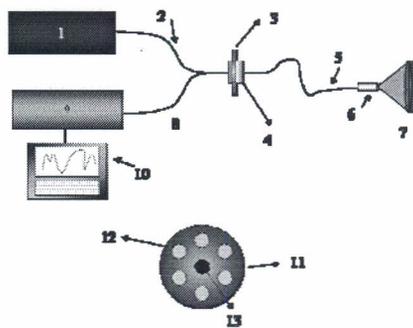


Figura 1: (a) protótipo da caixa para FIL portátil com excitação em 405 nm: 1 – chave de energia laser; 2 – caixa de controle laser; 3 – saída para o cabo óptico (*esquerda*); (b) esquema da montagem do sistema FIL portátil (*direita*).

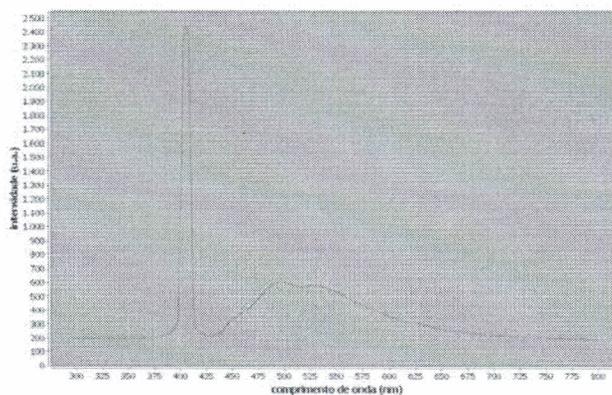
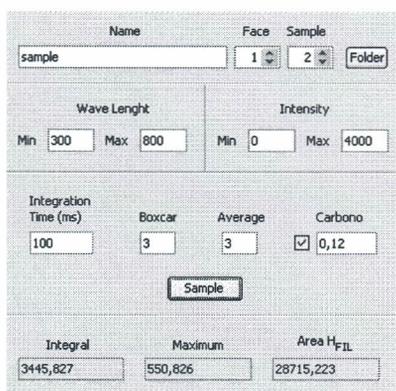


Figura 2: (a) *layout* do software de aquisição de dados (*esquerda*); (b) espectro de emissão de MO de solo pantanoso estudado (*direita*). O pico de emissão por volta de 405 nm corresponde ao comprimento de onda da luz laser, que é refletida em grande parte pela amostra e captada pela fibra coletora, e a emissão na faixa de 350 – 800 nm corresponde à fluorescência da matéria orgânica.

## Resultados e discussões

**Análise dos dados:** A Figura 3-a foi gerada a partir dos espectros obtidos através do sistema de bancada. Para cada amostra de solo foi calculada a área sob a curva de emissão com normalização pelo teor de carbono. Na Figura 3-b são apresentados os resultados similares obtidos com o sistema portátil.

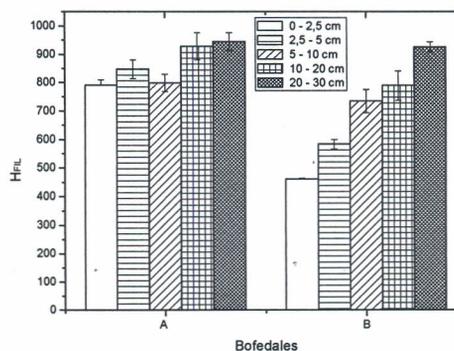
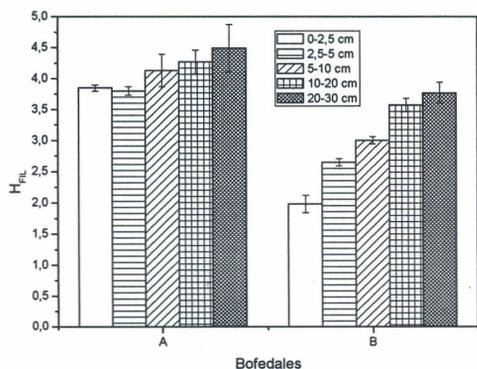


Figura 3: (a) área  $H_{FIL}$  calculada a partir do FIL de bancada (*esquerda*), (b) área  $H_{FIL}$  calculada a partir do sistema portátil (*direita*);

Nota-se que a área  $H_{FIL}$  é sempre maior em A do que em B, corroborando com a maior degradação observada na área A quando comparada com a área B. O gradiente crescente do grau de humificação da MO com a profundidade observado nos gráficos é devido ao aporte de matéria orgânica fresca na superfície do solo. Em regiões preservadas (B) a dinâmica e a constante renovação da MO garantem uma concentração de carbono maior do que em áreas degradadas (A). Este comportamento é também observado em solos sob vegetação nativa. O gráfico de correlação entre os aparelhos está mostrado abaixo (Figura 4).

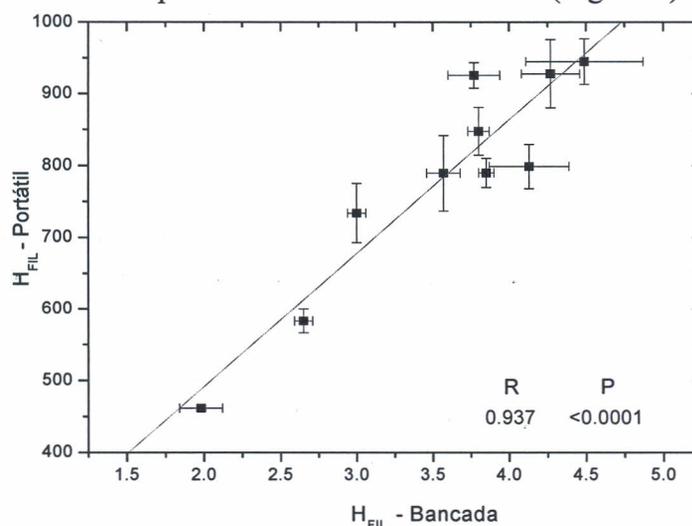


Figura 4: gráfico de correlação entre  $H_{FIL}$  portátil e de bancada;

A correlação entre os aparelhos obtida foi de  $R = 94\%$ , com  $P < 0,0001$ . Esta é uma ótima correlação entre os dados, podendo-se concluir que o protótipo portátil atinge às expectativas, além de reduzir de 1 minuto para 5 segundos o tempo de medida por amostra e possuir características de portabilidade almejadas para futuras aplicações em campo como sensor voltado para agricultura de precisão.

## Referências

- CONTE, P. & PICCOLO, A. Conformational arrangement of dissolved humic substances. Influence of solution composition on association of humic molecules. *Environ. Sci. Technol.*, 33:1682-1690, 1999;
- FELLER, C.; BEARE, M. Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics. *Geoderma*, Amsterdam, v. 79, p. 69-116, 1997;
- HAYES M.H.B., CLAPP C.E. Humic substances: considerations of compositions, aspects of structure and environmental influences, *Soil Sci.* 166 (2001), pp. 723-737.
- MILORI, D.M.B.P.; MARTIN-NETO, L.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; BAGNATO, V.S.. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. *Soil Science*, [S.l.], v.167, n.11, p.739-749, 2002.
- MILORI, D. M. B. P. ; GALETI, H. V. A. ; MARTIN-NETO, L. ; DIECKOW, J. ; GONZÁLEZ-PÉREZ, M. ; BAYER, C. ; SALTON, J. C. Organic Matter Study of Whole Soil Samples Using Laser-Induced Fluorescence Spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal*, 2006, 70:57-63.
- SCHULTEN, H.R and SCHNITZER, M. Chemical model structures for soil organic matter and soils. *Soil Science*, 1997, 162:115-130.
- SIMPSON A.J., SALLOUM M.J., KINGERY W.L., HATCHER P.G. (2002). Improvements in the two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy of humic substances. *J Environ Qual* 31:388-392
- WERSHAW, R. L. Molecular aggregation of humic substances. *Soil Science*. 1999, 164: 803-813;