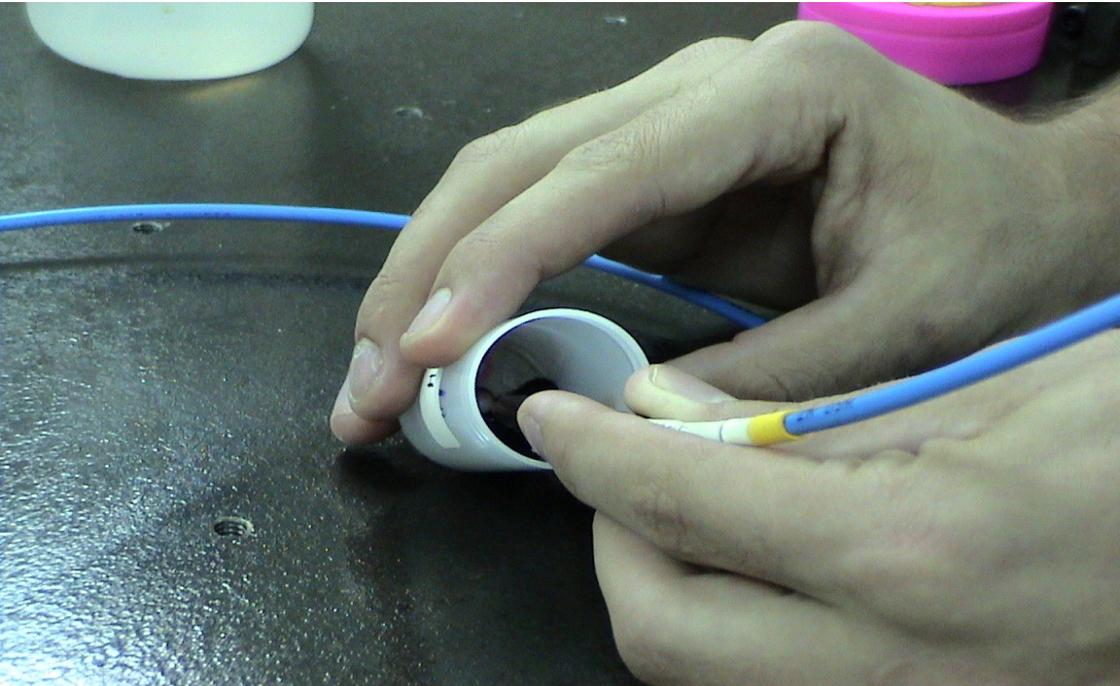


## Fluorescência Induzida por Laser para Análise da Matéria Orgânica de Solos Intactos



## **República Federativa do Brasil**

*Fernando Henrique Cardoso*

Presidente

## **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

*Marcus Vinicius Pratini de Moraes*

Ministro

## **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa**

### **Conselho de Administração**

*Márcio Fortes de Almeida*

Presidente

*Alberto Duque Portugal*

Vice-Presidente

*Dietrich Garhard Quast*

*José Honório Accarini*

*Sérgio Fausto*

*Urbano Campos Ribeiral*

Membros

### **Diretoria Executiva da Embrapa**

*Alberto Duque Portugal*

Diretor-Presidente

*Dante Daniel Giacomelli Scolari*

*José Roberto Rodrigues Peres*

*Bonifácio Hideyuki Nakasu*

Diretores-Executivos

### **Embrapa Instrumentação Agropecuária**

*Ladislau Martin Neto*

Chefe-Geral

*Álvaro Macedo da Silva*

Chefe-Adjunto de Administração

*Luiz Henrique Capparelli Mattoso*

Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

*Elomir Antonio Perussi de Jesus*

Gerente da Área de Comunicação e Negócios



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Instrumentação Agropecuária  
Ministério da Agricultura e do Abastecimento*

ISSN 1678-0434

Novembro, 2002

# ***Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 03***

## **Fluorescência Induzida por Laser para Análise da Matéria Orgânica de Solos Intactos**

Débora Marcondes Bastos Pereira Milori  
Ladislau Martin Neto  
Cimélio Bayer

São Carlos, SP  
2002

## **Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:**

Embrapa Instrumentação Agropecuária  
Rua XV de Novembro, 1452  
Caixa Postal 741  
CEP 13560-970 - São Carlos-SP  
Fone: (16) 274 2477  
Fax: (16) 272 5958  
www.cnpdia.embrapa.br  
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

### **Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso  
Secretária-Executiva: Janis Aparecida Baldovinnotti  
Membros: Dr. Odílio Benedito Garrido de Assis,  
Dr. João de Mendonça Naime,  
Dr. Rubens Bernardes Filho,  
Dr. Washington Luiz de Barros Melo  
Membro Suplente: Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori

Supervisor editorial: Dr. Odílio Benedito Garrido de Assis  
Revisor de texto: Janis Aparecida Baldovinnotti  
Normalização bibliográfica: Janis Aparecida Baldovinnotti  
Tratamento de ilustrações: Valentim Monzane  
Foto(s) capa: Rubens Bernardes Filho  
Editoração eletrônica: Valentim Monzane

### **1ª edição**

1ª impressão (2002): tiragem 300

**Todos os direitos reservados.**

**A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,  
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).**

**CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.  
Embrapa Instrumentação Agropecuária**

---

Milori, Débora Marcondes Bastos Pereira

Desenvolvimento de uma metodologia baseada na técnica fotoacústica para determinar porosidades em membranas vítreas porosas. / Débora Marcondes Bastos Pereira Milori, Ladislau Martin Neto e Cimélio Bayer. -- São Carlos: [Embrapa Instrumentação Agropecuária], 2002.

18 p. : il. -- (Embrapa Instrumentação Agropecuária. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, ISSN 1678-0434; n. 3).

1. Fluorescência induzida. 2. Laser. 3. Matéria orgânica. 4. Solo intacto. 5. Grau de humificação. 6. Teor de carbono. I. Martin Neto, Ladislau. II. Bayer, Cimélio. III. Embrapa Instrumentação Agropecuária. VI. Título.

---

**CDD (21. ed.) 631.417**

© Embrapa 2002

# Sumário

Resumo .....	5
Abstract .....	6
Introdução .....	7
Material e Métodos .....	9
Resultados e Discussão .....	11
Conclusões .....	16
Referências Bibliográficas .....	16

# Fluorescência Induzida por Laser para Análise da Matéria Orgânica de Solos Intactos

---

Débora Marcondes Bastos Pereira Milori<sup>1</sup>  
Ladislau Martin Neto<sup>2</sup>  
Cimélio Bayer<sup>3</sup>

## Resumo

Os estoques e a qualidade da matéria orgânica são indicadores importantes de qualidade de solos tropicais e subtropicais, e podem ser utilizados na avaliação da sustentabilidade de sistemas agrícolas. Nesse sentido, a fluorescência induzida por laser aplicada para amostras de solo tem se mostrado uma técnica eficiente e precisa para medir o teor de carbono orgânico e avaliar o grau de humificação da matéria orgânica. O princípio básico da técnica consiste em excitar o solo com um laser cuja emissão está na região do ultravioleta/azul o que resulta na fluorescência de grupos funcionais da matéria orgânica relacionados com o processo de humificação. Esta fluorescência ocorre na região do visível com pico em aproximadamente 510 nm. A fluorescência total (área sob a curva) correlaciona-se com os teores de carbono do solo, e quando ponderada a partir dos teores de C orgânico da amostra, traz informações a respeito do grau de humificação da matéria orgânica. Testes preliminares em laboratório demonstram o potencial da técnica e, a possibilidade de compactação deste instrumento aponta para um possível sensor de campo.

Palavras-chave: matéria orgânica, fluorescência, fluorescência induzida por laser, grau de humificação, teor de carbono.

LASER-INDUCED FLUORESCENCE FOR ANALYSES OF ORGANIC MATTER FROM WHOLE SOIL

<sup>1</sup>Física, Dra., Embrapa Instrumentação Agropecuária, Caixa Postal 741, CEP 13560-970, São Carlos-SP, e-mail: debora@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>Físico, Dr., Embrapa Instrumentação Agropecuária, Caixa Postal 741, CEP 13560-970, São Carlos-SP, e-mail: martin@cnpdia.embrapa.br

<sup>3</sup>Eng. Agrônomo, Dr., UFRGS, cimelio.bayer@ufrgs.br

# Laser-Induced Fluorescence For Analyses Of Organic Matter From Whole Soil

---

Débora Marcondes Bastos Pereira Milori<sup>1</sup>  
Ladislau Martin Neto<sup>2</sup>  
Cimélio Bayer<sup>3</sup>

## Abstract

Quantity and quality of organic matter are important indicators of tropical and subtropical soil quality, and they can be used to value sustainability of agricultural systems. In this sense, the laser-induced fluorescence applied to soil samples has shown an efficient and accurate technique to measure carbon contents and value humification degree of organic matter. The basic principle of this technique consists in illuminating the soil with a laser whose emission is at blue or ultraviolet region. This excitation is resonant to functional groups of organic matter related with humification process. The emission is a broad band at visible region with a peak at 510 nm. The total fluorescence (area under the curve) correlated with carbon contents, and when weighed by carbon contents it values the humification degree of organic matter. This parameter is a relevant data in soil analyses because it is correlated with fertility properties, organic matter structure and stability, and it can help farmers to choose the best soil management and crop rotation. Laser-Induced Fluorescence applied to whole soil samples has proved to be an efficient and accurate technique to measure carbon content and value the humification degree of organic matter. Laboratory preliminary tests showed the immense potential of this technique and, the possibility to make a compact instrument indicating to a possible field sensor.

keywords: organic matter, fluorescence, fluorescence induced by laser, humification degree, carbon contents.

molécula é resultado de um efeito cumulativo primariamente dependente de vários componentes estruturais da molécula, e o espectro observado em qualquer um dos três modos de fluorescência (emissão, excitação e excitação síncrona) consiste da soma de espectros individuais de diferentes focos emissores presentes na molécula.

A fluorescência do solo tem origem na matéria orgânica humificada. As substâncias húmicas são os componentes mais recalcitrantes da matéria orgânica do solo, e são constituídas de uma mistura heterogênea de grupos funcionais. Sua estrutura, supõe-se, é de alta complexidade e foi ao longo dos anos objeto de numerosas investigações por parte dos pesquisadores (Conte&Piccolo, 1999; Piccolo, et al., 1996; Schulten & Schnitzer, 1993). Através de método de fracionamento químico a porção humificada da matéria orgânica pode ser dividida em três partes: ácido húmico (AH), ácido fúlvico (AF) e humina. Um modelo de estrutura química proposta para o ácido húmico está mostrado na Figura 1 (Schulten & Schnitzer, 1993).

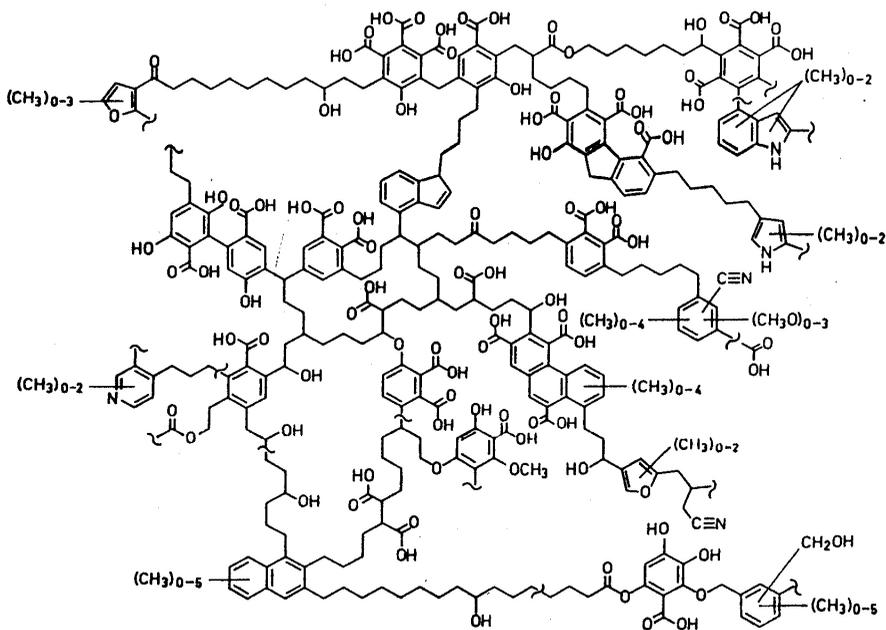


Figura 1 - Modelo hipotético para a estrutura do ácido húmico (Schulten & Schnitzer, 1993).

Basicamente, ácidos húmicos extraídos de solo contém grupos OH fenólicos livres e ligados, estruturas de quinona, nitrogênio e oxigênio como ponte de ligação dos grupos de COOH localizados de diferentes formas nos anéis aromáticos. Os anéis aromáticos presentes na estrutura das substâncias

## Introdução

A matéria orgânica (M.O.) é um componente fundamental do solo, afetando o fornecimento de nutrientes, capacidade de retenção de cátions e toxidez de Al. A matéria orgânica também tem efeito na atividade microbiana e estabilidade de agregados, com reflexos nas condições físicas do solo e na mitigação dos processos erosivos. É um componente altamente reativo cuja dinâmica está diretamente relacionada à inativação de compostos xenobióticos no solo, como pesticidas e metais pesados.

Devido a importância da matéria orgânica na qualidade do solo e do ambiente e na produtividade das culturas, a demanda para sensores que possam avaliar quantidade e qualidade de matéria orgânica no solo cresceu muito nos últimos anos. O conteúdo de matéria orgânica normalmente é determinado em laboratório utilizando-se técnicas que medem a quantidade de carbono orgânico presente em amostras compostas de solo, através de métodos baseados na oxidação química (Walkey & Black) e combustão seca (CHN) (Page, 1982). São obtidos dessa forma valores médios de matéria orgânica de uma determinada gleba ou parcela experimental. Nesse sentido, atualmente tem havido uma demanda do conhecimento da variação espacial (e temporal) da matéria orgânica em solos de modo a permitir um maior entendimento da relação entre atributos de solo e sua influência na produtividade das culturas. Esta problemática é bastante relacionada a projetos de agricultura de precisão.

No que diz respeito a qualidade da matéria orgânica, um parâmetro usualmente utilizado para sua avaliação é o grau de humificação. Esta avaliação, em geral, tem sido realizada através de medidas de Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) (Martin-Neto et al., 1998) e Ressonância Magnética Nuclear (NMR) (Swift et al., 1992). Entretanto, embora as espectroscopias de EPR e NMR sejam extremamente úteis para estudo de estrutura química das substâncias húmicas, o uso de tais equipamentos é restrito ao laboratório, não havendo uma perspectiva de serem compactados de modo a constituir sensores de campo.

Na literatura existem alguns sensores que utilizam reflectância de luz para avaliar quantitativamente a matéria orgânica do solo (Gaultney et al, 1989; Shibusawa et al., 2000; Made Anom et al, 2000). Entretanto, a eficiência dessa técnica é relativamente baixa devido a sua forte dependência com a textura e rugosidade do solo, teores de óxido de ferro e umidade. Esses fatores tem dificultado a sua utilização a campo, principalmente em solos brasileiros onde o teor de matéria orgânica é baixo e a presença de ferro é abundante.

Em contrapartida, a técnica de fluorescência tem vantagens sobre a reflectância por ser mais seletiva, ter potencial para ser quantitativa e qualitativa, e não ser afetada pela presença de água. O comportamento da fluorescência total de uma

húmicas são os principais fluoróforos deste material. A extensão do sistema eletrônico, o nível de substituição heteroatômica, e o tipo e número de grupos substituintes sobre os anéis aromáticos afetam fortemente a intensidade e o comprimento de onda da fluorescência molecular, tendo sido realizados alguns trabalhos tentando correlacionar tamanho molecular e fluorescência das substâncias húmicas (Belin et al., 1993; Evald et al., 1988; Spark&Swift, 1994). Segundo Senesi et al. (1991), os espectros de ácidos húmicos e fúlvicos são dependentes da origem e gênese do solo e podem, a princípio, auxiliar na classificação de solos.

Na literatura, recentemente foram publicadas técnicas para determinar o grau de humificação de substâncias húmicas em solução baseadas em fotoluminescência. Zsolnay et al (1999) propuseram a razão entre as áreas (quarto mais para o vermelho /quarto mais para o azul) de um espectro de emissão com excitação no ultravioleta (250 nm) para avaliar humificação de matéria orgânica dissolvida. Kalbitz et al (1999) utilizaram a razão entre picos observados na excitação síncrona (intensidade do pico mais para o vermelho/intensidade do pico mais para o azul) para definir o grau de humificação de ácidos fúlvicos. Milori et al. (2000,2002) e Bayer et al. (2002) demonstraram boa correlação entre a intensidade de emissão de fluorescência com excitação no azul (465 nm) e a concentração de radicais livres semiquinonas medido por RPE para amostras de ácido húmico extraídos de solos. Esta alta correlação deve-se ao fato que a excitação neste comprimento de onda é ressonante com estruturas originadas da oxidação de grupos fenólicos e quinonas em geral. E, portanto, a intensidade de fluorescência para excitação no azul é proporcional ao grau de humificação da matéria orgânica.

A proposta do sensor de matéria orgânica é, portanto, utilizar a fluorescência induzida por um laser azul ou ultravioleta para excitar a matéria orgânica em amostras de solo não submetidas a fracionamento ou "in situ" (como no campo), e determinar o teor de carbono (C) orgânico e o grau de humificação da matéria orgânica. Experimentos preliminares estão sendo realizados em laboratório para avaliar a técnica, desenvolver uma metodologia e construir um sensor compacto para campo.

## Material e Métodos

### *Sistema de medição de fluorescência induzida por laser*

O sistema para medir fluorescência induzida por laser (Figura 2) foi composto por um laser de argônio (1), um prisma para separação da emissão laser da fluorescência do gás (2), espelhos para condução da excitação até a amostras de solos (3,4 e 5), uma lente para coletar a fluorescência (6), um modulador óptico (optical chopper) (7), um filtro para suprimir a excitação no sistema de detecção (8), um monocromador (CVI, L = 25 cm) (9), uma fotomultiplicadora

(10), um amplificador lock-in (11), um microcomputador dotado de uma placa de aquisição e software de controle e aquisição de dados (12). O laser de argônio foi sintonizado na linha de 351 nm com potência de 400 mW. A resolução espectral do sistema foi avaliada em 3 nm. Alguns detalhes do sistema podem ser visualizados na Figura 3.

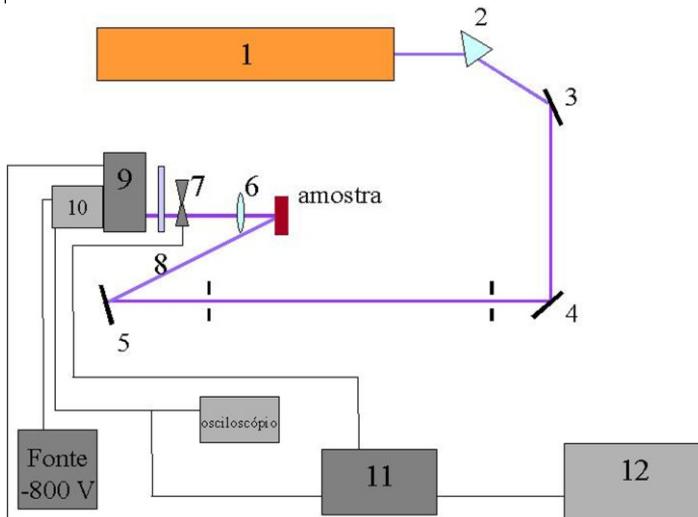


Figura 2 Sistema para medição de Fluorescência Induzida por Laser para solos intactos

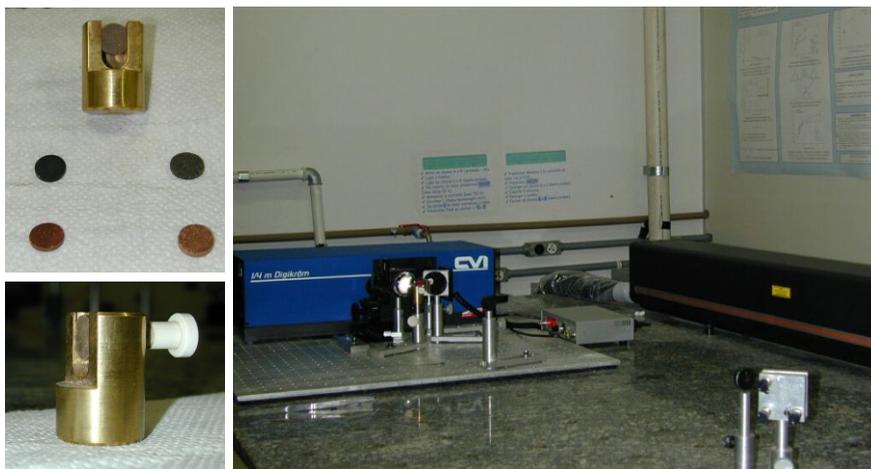


Figura 3 Detalhes da montagem experimental.

### *Amostras de solo e áreas experimentais*

Para avaliação do sistema foram utilizadas amostras de solo coletadas nas profundidades de 0-2,5, 2,5-5, 5-10, 10-15 e 15-20 cm em experimentos de longa duração na região do Cerrado brasileiro. Um experimento está localizado em Costa Rica (MS) e vem sendo conduzido há 7 anos na Fazenda Planalto da Empresa SLC Agrícola, em Latossolo Vermelho, com 600 g kg<sup>-1</sup> de argila, e 210 g Fe kg<sup>-1</sup>. Outros dois experimentos estão localizados em Dourados (MS), os quais vem sendo conduzidos há 13 e 5 anos, em Latossolo Vermelho com 500 g kg<sup>-1</sup> de argila, e 85,7 g Fe kg<sup>-1</sup>, sob responsabilidade da Embrapa Agropecuária do Oeste. Ou seja, tratam-se de solos altamente intemperizados, como evidenciado pelos altos teores de Fe-ditionito, e representativos da região tropical brasileira.

Os experimentos consistiram em diferentes sistemas de preparo de solo (preparo convencional-PC, preparo reduzido-PR, e plantio direto-PD), e adicionalmente, em Dourados, no experimento de menor duração, foram utilizados diferentes sistemas de produção (pastagem permanente-PAST, integração lavoura-pecuária-INT, PC e PD). Em ambos locais, como referenciada condição original do solo, amostrou-se uma área sob cerrado nativo. Salienta-se que a avaliação dos diferentes sistemas de uso e manejo e profundidades de solo objetivaram uma ampla variação nos teores de carbono orgânico e de qualidade da matéria orgânica do solo (grau de humificação).

## **Resultados e Discussão**

Alguns testes iniciais foram realizados no sentido de comprovar se a origem do sinal de fluorescência era realmente a matéria orgânica do solo. Para tanto foram feitas duas medidas básicas: a fluorescência de um solo sem tratamento e a mesma medida com o solo submetido a tratamento para a retirada da matéria orgânica (calcinação e tratamento com peróxido de hidrogênio). Os espectros obtidos nesse estudo são apresentados na figura 4, onde pode-se observar que o solo sem tratamento apresenta um forte sinal de fluorescência enquanto que no solo onde a matéria orgânica foi oxidada a fluorescência foi praticamente nula. Portanto, a partir deste estudo comprovou-se que o sinal de fluorescência quando o solo é excitado com luz ultravioleta/azul é devido somente a matéria orgânica.

Na figura 5 é apresentada a relação entre a área sob a curva de fluorescência (ACF) e o teor de carbono medido através do método Walkey&Black. A correlação entre estes atributos não foi linear e isso pode ser explicado pelo fato de que além do teor de C orgânico do solo, a intensidade do sinal de fluorescência também é afetada pelo grau de humificação da matéria orgânica.

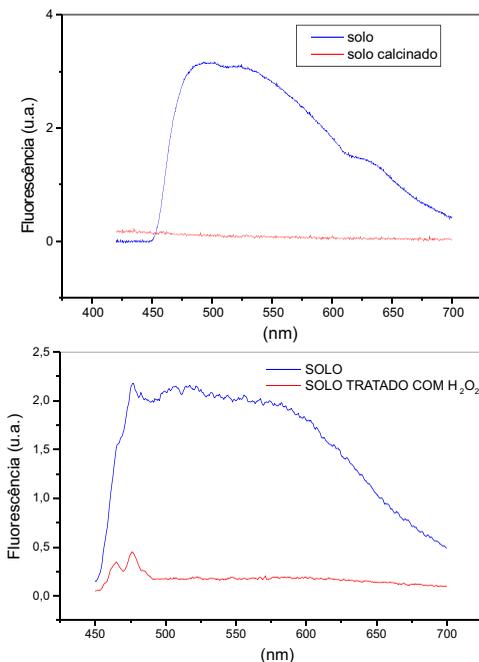


Figura 4 - Emissão de fluorescência de uma amostra de solo medida em laboratório. Em azul o espectro do solo; em vermelho, o espectro do mesmo solo após tratamento para a retirada da matéria orgânica: (a) calcinado; (b) tratado com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. u.a. = unidades arbitrárias.

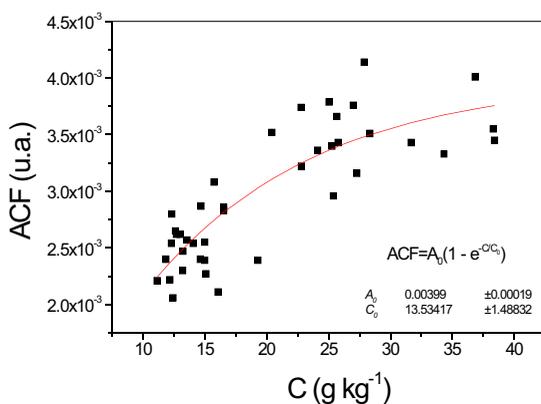


Figura 5 Relação entre a área sob a curva de fluorescência (ACF) de solos intactos obtida através da Fluorescência Induzida por Laser (FIL) com os teores de carbono orgânico determinados segundo o método Walkley & Black. u.a. = unidades arbitrárias.

Os pontos foram ajustados a uma curva do tipo:

$$ACF = A_0(1 - e^{-C/C_0}) \quad (1)$$

onde  $A_0$  é o valor de fluorescência para o qual a curva tende a se estabilizar e  $C_0$  é o valor do teor de carbono característico da curva (em  $C = C_0$   $AFC = 0.63 A_0$ ). Os valores obtidos para  $A_0$  e  $C_0$  foram (0,00400,0002) e (141) ( $g\ kg^{-1}$ ), respectivamente. Esta curva é uma calibração do sensor para os solos utilizados. Através deste ajuste é possível estimar o valor do carbono determinado pela técnica de FIL (Tabela 1). Na figura 6 é apresentada a significativa correlação entre os teores de C orgânico determinados pelo método Walkey & Black em relação aos teores estimados a partir dos resultados de fluorescência.

Outra informação importante que pode ser obtida por esta técnica é o grau de humificação da matéria orgânica. Para tanto, o valor da área do espectro de fluorescência tem que ser dividido pelo teor de carbono orgânico da amostra. Com esse procedimento os valores de fluorescência são corrigidos para valores equivalentes de C orgânico, ou seja, o grau de humificação passa a ser a única variável entre as amostras. Na figura 7 são apresentados os valores de  $ACF/CT$ , o qual foi considerado como um índice do grau de humificação da matéria orgânica, nas amostras de solo referentes as diferentes profundidades dos sistemas de preparo convencional (PC), plantio direto (PD) e cerrado nativo (CN).

Verificou-se que o solo no sistema de preparo convencional apresentou valores altos e semelhantes de  $ACF/CT$  nas diferentes camadas de solo até 20 cm, o que é consistente com a uniformização dessa camada por ocasião das operações de lavração e gradagem. Por outro lado, o sistema plantio direto e cerrado nativo apresentaram os menores valores de  $ACF/C$  nas camadas superficiais do solo, os quais aumentaram expressivamente com o aumento da profundidade no perfil de solo, inclusive, no caso do plantio direto, tornando-se semelhantes ou superiores aos valores de  $ACF/C$  observados na camada de 10-20 cm no solo em preparo convencional.

Esses resultados demonstram que a matéria orgânica apresenta menor grau de humificação nas camadas superficiais do solo em plantio direto e cerrado nativo a qual é decorrente da adição localizada de C fotossintetizado na superfície do solo nestes sistemas, em detrimento da sua incorporação na camada de 0-20 cm do solo como ocorre no solo em preparo convencional. Esses resultados são coerentes com resultados obtidos em outros estudos utilizando técnicas de RMN e EPR (Bayer et al., 2000; 2002) e por fluorescência de ácidos húmicos (Bayer et al., 2002; Milori et al., 2002).

Tabela 1 Dados da amostras de solo utilizadas. CT é o teor de carbono determinado através do método Walkey & Black. ACF é área sob a curva de fluorescência obtida através da FIL. ACF/CT é o grau de humificação da matéria orgânica. CF é o teor de carbono estimado pela FIL.

AMOSTRA	C <sub>T</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	ACF (u.a.)	ACF/C <sub>T</sub>	C <sub>F</sub> (g kg <sup>-1</sup> )
cn0-2.5	22,8	0,00322	1,41E-04	20,37402
cn2.5-5	20,43	0,00352	1,72E-04	25,49046
cn5-10	15,08	0,00227	1,51E-04	10,8859
cn10-15	12,31	0,00254	2,06E-04	12,99574
past0-2.5	38,41	0,00345	8,98E-05	24,11873
past2.5-5	16,51	0,00283	1,71E-04	15,68383
past10-15	14,69	0,00287	1,95E-04	16,09868
past15-20	12,7	0,00262	2,06E-04	13,68724
int0-2.5	25,39	0,00296	1,17E-04	17,07962
int2.5-5	16,53	0,00286	1,73E-04	15,99381
int5-10	13,2	0,0023	1,74E-04	11,10523
int10-15	12,43	0,00206	1,66E-04	9,4399
int15-20	11,15	0,00221	1,98E-04	10,4573
pc2.5-5	13	0,00262	2,02E-04	13,68724
pc5-10	14,06	0,00254	1,81E-04	12,99574
pc10-15	12,17	0,00222	1,82E-04	10,52783
pc15-20	11,85	0,0024	2,03E-04	11,86217
pcr0-2.5	15,75	0,00308	1,96E-04	18,50458
pcr2.5-5	14,98	0,00239	1,60E-04	11,78461
pcr5-10	14,99	0,00255	1,70E-04	13,08033
pcr10-15	14,64	0,0024	1,64E-04	11,86217
pcr15-20	13,22	0,00247	1,87E-04	12,41748
pdr0-2.5	19,3	0,00239	1,24E-04	11,78461
pdr2.5-5	16,07	0,00211	1,31E-04	9,77089
pdr5-10	13,56	0,00257	1,90E-04	13,25106
pdr10-15	12,62	0,00265	2,10E-04	13,95561
pdr15-20	12,33	0,0028	2,27E-04	15,38057
crn0-2.5	36,85	0,00401	1,09E-04	43,34142
crn2.5-5	31,67	0,00343	1,08E-04	23,75029
crn5-10	28,34	0,00351	1,24E-04	25,28607
crn10-15	25,04	0,00379	1,51E-04	32,57356
crn15-20	24,12	0,00336	1,39E-04	22,53213
crpd0-2.5	38,32	0,00355	9,26E-05	26,12214
crpd2.5-5	34,32	0,00333	9,70E-05	22,04085
crpd5-10	27,26	0,00316	1,16E-04	19,54209
crpd10-15	25,27	0,0034	1,35E-04	23,21519
crpd15-20	22,76	0,00374	1,64E-04	30,96259
crpc2.5-5	25,65	0,00366	1,43E-04	28,71779
crpc 5-10	26,99	0,00376	1,39E-04	31,58491
crpc10-15	25,78	0,00343	1,33E-04	23,75029
crpc15-20	23,39	0,0035	1,50E-04	25,08463

Cn = cerrado nativo; pd = plantio direto, pc = preparo convencional, past = pastagem, int = integração lavoura-pastagem.

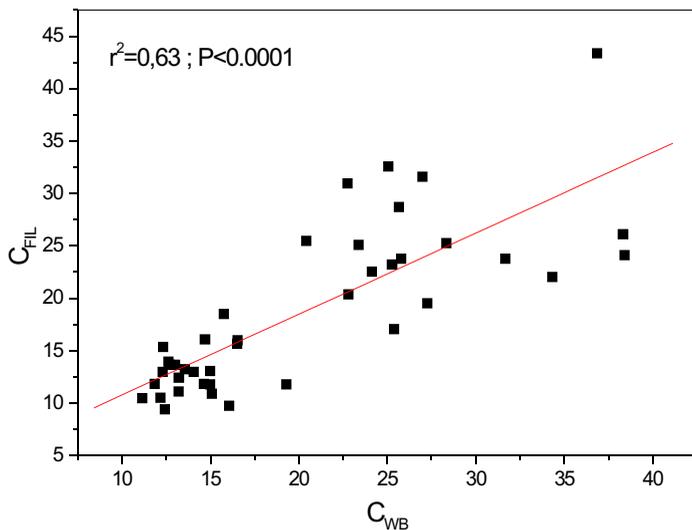


Figura 6 Correlação entre os teores de C orgânico determinados pelo método Walkley & Black (WB) e os teores de C orgânicos estimado a partir dos resultados de fluorescência induzida por laser (FIL) (equação 1).

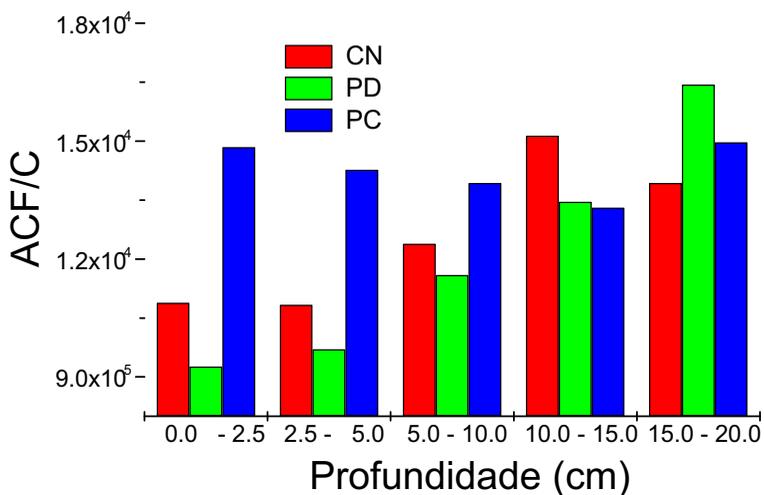


Figura 7 Área sob a curva de fluorescência (ACF) ponderada pelos teores de C orgânico (C) como um índice do grau de humificação da matéria orgânica em profundidades de solo submetido a diferentes sistemas de manejo.

## Conclusões

1. A técnica de FIL mostrou ser uma ferramenta eficiente na análise quantitativa e qualitativa da matéria orgânica de solos, tendo a vantagem de não demandar o fracionamento químico da matéria orgânica, ser rápida e precisa. Outra vantagem é que o sistema pode ser miniaturizado tendo, portanto, potencial para compor um sensor de campo.

2. Baseados nestes resultados a Embrapa Instrumentação Agropecuária depositou, em 18 de dezembro de 2001, um pedido de patente (PI0106477-0) desta técnica como potencial para o desenvolvimento de um sensor de matéria orgânica. Para a viabilização deste equipamento será necessária uma calibração para os diversos tipos de solos. Para cada classe de solo, previamente deve ser levantada uma curva de correlação entre o conteúdo de C orgânico e a intensidade de fluorescência. Através de um software adequado, o equipamento de campo será capaz de transformar a intensidade de fluorescência medida em teor e grau de humificação da matéria orgânica do solo.

## Referências Bibliográficas

BAYER, C.; MARTIN-NETO, I.; MIELNICZUK, J.; CERETTA, C. A. Effect of no-till cropping systems on soil organic matter in a sandy clay loam Acrisol from Southern Brazil monitored by electron spin resonance and nuclear magnetic resonance. *Soil & Tillage Research*, Amsterdam, v. 53, p. 95-109, 2000.

BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK, J.; SAAB, S. C.; MILORI, D. M. B. P.; BAGNATO, V. S. Tillage and cropping system effects on soil humic acid characteristics as determined by electron spin resonance and fluorescence spectroscopies. *Geoderma*, Amsterdam, v. 105, 81-92, 2002.

BELIN, C.; QUELLEC, C.; LAMOTTE, M.; EWALD, M.; SIMON, P. Characterization by fluorescence of the dissolved organic matter in natural water. Application to fractions obtained by tangencial ultrafiltration and xad resin isolation. *Environmental Technology*, London, v. 14, p. 1131-1144, 1993.

CONTE, P.; PICCOLO, A. High pressure size exclusion chromatography (HPSEC) of humic substances: molecular sizes, analytical parameters, and column performance. *Chemosphere*, Oxford, v.38, n.3, p. 517-528, 1999.

EWALD, M.; BERGER, P; VISSER, S. A. UV-visible absorption and fluorescence properties of fulvic acids of microbial origin as functions of their molecular weights. *Geoderma*, Oxford, v. 43, p. 11-20, 1988.

GAULTNEY, L. D.; VAN SCOYOC, G. E.; SCHULZE, D. G. Real-time soil organic matter sensor. U.S. Patente Document, appl. N° 325,698, filled. Mar. 13, 1989.

KALBITZ, K.; GEYER, W.; GEYER, S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances – a reflection of land use history in a fen area. *Biogeochemistry*, Dordrecht, v. 47, p. 219-238, 1999.

MADE ANOM, W.S.I.; SHIBUSAWA, S.; SASAO, A.; SAKAI, K.; SATO, H. Soil parameters maps using real-time soil spectrometer. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON PRECISION AGRICULTURE, 5., 2000. Proceedings... Madison: ASA-CSSA-SSSA, 2000. 17 f.

MARTIN-NETO, L., ROSELL, R.; SPOSITO, G. Correlation of spectroscopic indicators of humification with mean annual rainfall along a temperate grassland climosequence. *Geoderma*, Oxford, v. 81, p. 305-311, 1998.

MILORI, D. M. B. O P.; BAYER, C.; BAGNATO, V. S.; MIELNICZUK, J.; MARTIN-NETO, L. Fluorescence spectroscopy as alternative approach to study humification degree in soil humic acids. In: INTERNATIONAL MEETING OF THE INTERNATIONAL HUMIC SUBSTANCES SOCIETY-IHSS, 10., 2000, Toulouse. IHSS 10: entering the third millenium with common approach to humic substances and organic matter in water, soil and sediments: proceedings. [S.I.]: International Humic Substances Society, 2000. v. 1, p. 97-100.

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*, Baltimore, v. 167, n. 11:739-749, 2002.

PAGE, A. L. *Methods of soil analysis*. Madison: American Society of Agronomy, 1982. 1159 p.

PICCOLO, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Micelle-like conformation of humic substances as revealed by size exclusion chromatography. *Chemosphere*, Oxford, v. 33, n. 4, p. 595-602, 1996.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. A state of art structural concept for humic substances. *Naturwissenschaften*, Belfast, v. 82, p. 29-30, 1993.

SENESI, N.; MIANO, T. M.; PROVEZANO, M. R.; BRUNETTI, G. Characterization, differentiatyion, and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. *Soil Science*, Baltimore, v. 152, n. 4, p. 259-271, Oct. 1991.

SHIBUSAWA, S.; MADE ANOM, W. S. I.; SATO, H.; SASAO, A. On-line real-time spectrometer. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON PRECISION AGRICULTURE, 5., 2000. Proceedings... Madison: ASA-CSSA-SSSA, 2000. 13 f.

SPARK, K. M.; SWIFT, R. S. Investigation of some of the parameters affecting the fluorescence spectra of humic substances. In: HUMIC substances in the global environment and implications on human health. Amsterdam: Elsevier, 1994. p. 153-158. SWIFT, R. S.; LEONARD, R. L.; NEWMAN, R. H.; THENG, B. K. G. Changes in humic acid composition with molecular weight as detected by <sup>13</sup>C-nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Science of the Total Environment*, Amsterdam, v.117/118, p.53-61, 1992.

ZSOLNAY, E.; BAIGAR, M.; JIMENEZ, B.; STEINWEG, N. A.; SACCOMANDI, F. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soil subjected to drying. *Chemosphere*, Oxford, v. 38, n.1, p. 45-50, 1999.