

## CARACTERIZAÇÃO QUALI-QUANTITATIVA DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO

### CHARACTERIZATION QUALI-QUANTITATIVE OF SOIL ORGANIC MATTER

Kamila Machado Fassarella<sup>1\*</sup>, João Batista Pavesi Simão<sup>2</sup>, Wallace Luís de Lima<sup>3</sup>, João Batista Esteves Peluzio<sup>4</sup>

**Resumo:** As avaliações quantitativas da matéria orgânica do solo, isoladamente, não são suficientes para satisfazer as expectativas da investigação científica com respeito às suas características e propriedades, visando a sustentabilidade do solo sob diversas formas de manejo. Uma abordagem completa requer um conjunto de metodologias capazes de considerar o relacionamento entre o acúmulo de matéria orgânica e a sua localização física na matriz do solo, bem como a caracterização das suas frações. Este artigo tem como objetivo fazer uma abordagem das metodologias empregadas nas caracterizações da matéria orgânica do solo e discutir aspectos relacionados à sua compartimentalização e as implicações na sustentabilidade de solos agrícolas.

**Palavras-chave:** carbono orgânico do solo, manejo sustentável do solo, substâncias húmicas.

**Abstract:** Quantitative evaluations of soil organic matter isolately are not enough for satisfying the scientific investigation expectations with respect to its characteristics and properties with aim at the soil sustainability, under several forms of management. A complete approach requires methodologies capable of considering the relationship between the organic matter accumulation and its physical location in the soil matrix, as well as the characterization of its fractions. This paper aims to present an approach of methodologies employed in characterizations of soil organic matter and discuss issues related to its compartmentalization and the implications on the sustainability of agricultural soils.

**Keywords:** soil organic carbon, sustainable soil management, humic substances.

## INTRODUÇÃO

O uso intensivo do solo, juntamente com condições inadequadas de manejo, acarretam a deterioração das propriedades físicas do solo e isso se deve, principalmente, às modificações em sua estrutura (OLSZEWSKI et al., 2004). Isso ocorre costumeiramente em sistemas convencionais de cultivo, onde o solo é fortemente revolvido para a produção agropecuária. De acordo com Diniz Filho et al. (2007) apesar da agricultura convencional utilizar alto nível tecnológico, como sementes melhoradas, grandes quantidades de insumos, dentre outros, ela vem apresentando exaustão o que indica sinais de insustentabilidade.

Com base nisso, a pesquisa científica tem se voltado para a busca de bases e soluções sustentáveis para a agricultura. Essas soluções sustentáveis têm como princípio a utilização eficiente dos recursos, a diversidade de cultivos, a preservação do meio ambiente e a participação ativa dos atores sociais envolvidos na geração e difusão de tecnologias (DINIZ FILHO et al., 2007). Dentre os componentes do solo, o mais pesquisado com

essa finalidade de solução sustentável é a matéria orgânica (LAL, 1994).

A adição de resíduos vegetais em um solo natural pode proporcionar a elevação do conteúdo de matéria orgânica em solos, que em regiões tropicais, este aporte de material orgânico é significativamente maior do que em regiões de clima temperado (MONTEIRO et al., 2004). Entretanto, as características e o comportamento da matéria orgânica do solo em função do tempo raramente são bem avaliados, particularmente com respeito às regiões tropicais e subtropicais.

De acordo com Silva et al. (1999) apesar dos aspectos extremamente relevantes relacionados a sua dinâmica, pode-se dizer que no Brasil os estudos sobre o tema são incipientes. Isso se deve, a complexidade e dificuldade em estudar a matéria orgânica (MO) e suas macromoléculas constituintes, as substâncias húmicas (ácido húmico, ácido fúlvico e húmica).

A matéria orgânica ocorrente no meio natural pode ser extraída por diferentes procedimentos, revelando, assim, sua origem e natureza química. De acordo com Dias & Lima (2004), a matéria orgânica presente em diferentes

\*autor para correspondência

Recebido para publicação em 18/09/2012; aprovado em 11/12/2012

<sup>1\*</sup> Engenheira Agrônoma, Pós-graduanda em Agroecologia pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo – Campus de Alegre. E-mail: [kamilafassarella@hotmail.com](mailto:kamilafassarella@hotmail.com)

<sup>2</sup> Eng. Agr. D. Sc. em Solos e Nutrição de Plantas, Professor – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo – Ifes. E-mail: [jbpavesi@ifes.edu.br](mailto:jbpavesi@ifes.edu.br)

<sup>3</sup> Eng. Agr. D. Sc. em Ciências, Professor – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo – Ifes. E-mail: [wallace@ifes.edu.br](mailto:wallace@ifes.edu.br)

<sup>4</sup> Eng. Agr. D. Sc. em Genética e Melhoramento, Professor – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo – Ifes. E-mail: [jbpeluzio@ifes.edu.br](mailto:jbpeluzio@ifes.edu.br)

tipos de solo apresenta-se sob variadas concentrações. Solos sob diferentes formas de manejo, com conteúdo igual de matéria orgânica, porém constituída de compostos diferentes e localizada em reservatórios diferentes, podem apresentar comportamentos distintos (SILVA & RESCK, 1997).

A proposta deste artigo é fazer uma abordagem de algumas das metodologias clássicas e modernas mais comumente empregadas na caracterização quali-quantitativa da matéria orgânica do solo e, dessa forma, contribuir para uma maior discussão a respeito da sua importância para a sustentabilidade dos solos tropicais sob diferentes sistemas de manejo.

## O CARBONO ORGÂNICO DO SOLO

Em solos tropicais e subtropicais altamente intemperizados, a matéria orgânica possui grande relevância para o fornecimento de nutrientes e, portanto, constitui-se num componente fundamental da capacidade produtiva (BAYER & MIELNICZUK, 1999). Na biosfera, a matéria orgânica do solo constitui uma das maiores reservas de carbono existentes (SILVA & RESCK, 1997).

O carbono total do solo é a soma do carbono orgânico e o carbono inorgânico. A maior parte do carbono orgânico está presente na matéria orgânica do solo, ao passo que o carbono inorgânico está presente na forma de carbonatos. Todos os solos agrícolas contêm carbono orgânico. Porém, nem todos os solos contêm carbono inorgânico, devido sua dissolução durante o processo de intemperização. Há casos, entretanto, em que o carbono inorgânico pode ocorrer em maior concentração no solo que o carbono orgânico, como, por exemplo, em solos formados de rochas calcárias, sob condições áridas. Calcita e dolomita são os principais carbonatos do solo e a maioria do carbono inorgânico está associada a eles. Além desses dois minerais, em alguns solos alcalinos, pode-se encontrar carbono inorgânico na forma de carbonato solúvel ( $\text{CO}_3^{2-}$  e  $\text{HCO}_3^-$ ) (NELSON & SOMMERS, 1982).

Segundo Saidelles et al. (2009), a MO é considerada a principal fonte de entrada de carbono orgânico para o solo, proveniente da deposição de resíduos de origem vegetal e animal resultantes da decomposição parcial pela mesofauna e, posteriormente, pela ação decompositora dos microrganismos. Porém, nesse processo, parte do carbono presente nos resíduos é liberada para a atmosfera como dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), e o restante passa a fazer parte da MO do solo.

Vários fatores contribuem para a variação nos teores de carbono orgânico do solo, dentre eles, cabe citar o manejo do mesmo, especialmente aquele que utiliza o revolvimento do solo antes da implantação de cada cultura, ou a incorporação de corretivos e fertilizantes, ocasionando intensa perturbação do solo, e estimulando a ação dos microrganismos decompositores (FARIA et al., 2008).

De acordo com Rheinheimer et al. (2008) considera-se que a MO do solo contém cerca de 58 % de Carbono (C),

em relação à massa total. Assim, a determinação do carbono orgânico total tem sido utilizada para estimar quantitativamente a fração orgânica do solo, o que auxilia no entendimento de suas várias propriedades químicas, físicas e biológicas. Atualmente, existem vários métodos para se determinar o C em amostras de solo.

Segundo Gatto et al. (2009) a quantificação do C pode ser realizada empregando-se métodos que podem determinar a forma total do C do solo ou a forma orgânica do C. Esses métodos vêm sendo modificados e, ou, adaptados à rotina de cada laboratório de análises de solo.

Os procedimentos de análise de carbono total geralmente recuperam todas as formas de carbono orgânico, envolvem a conversão de todas as formas para  $\text{CO}_2$  por meio de combustão seca ou úmida e subsequente quantificação do  $\text{CO}_2$  produzido por gravimetria, titulometria, volumetria, espectrofotometria ou técnicas de cromatografia gasosa (NELSON & SOMMERS, 1996). A combustão seca é feita em temperaturas próximas a  $1000^\circ\text{C}$ , em fornos com resistência elétrica ou de indução em atmosfera rica em  $\text{O}_2$  ou livre de  $\text{CO}_2$ , seguida da quantificação do  $\text{CO}_2$  evoluído. A combustão úmida é feita normalmente a frio ou fervendo uma amostra de solo com mistura de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , em sistema fechado submetido a fluxo de ar livre de  $\text{CO}_2$  e subsequente absorção do  $\text{CO}_2$  evoluído (ALLISON, 1960).

De acordo EMBRAPA (1997), o C orgânico pode ser obtido por: (a) análise do C total do solo e do C inorgânico e posterior subtração dessa fração da total; (b) determinação do C total após remoção do C inorgânico e; (c) oxidação química do C por meio da mistura de uma solução de dicromato de sódio ou de potássio com ácido sulfúrico concentrado e posterior titulação do excesso de cromo com uma solução de sulfato ferroso, ou por métodos colorimétricos.

Segundo Nelson & Sommers (1996) a oxidação por dicromato pode ser realizada tanto na ausência como na presença de uma fonte de aquecimento externo, podendo haver variação nos valores obtidos de acordo com o tipo e horizonte do solo. Este método é também denominado genericamente de método Walkley-Black.

Procedimentos que envolvem análise de carbono total, geralmente, extraem todas as formas de carbono orgânico no solo. Porém, processos de oxidação com dicromato não extraem as frações orgânicas resistentes como carvões e parte da humina (NELSON & SOMMERS, 1982). Por essa razão é necessário usar um fator  $f$ , cujo valor, segundo os mesmos autores, pode variar em função da temperatura na extração de carbono orgânico, sendo que, quanto maior a temperatura, menor será o valor de  $f$ . O inverso é verdadeiro, uma vez que em baixas temperaturas há menor eficiência na extração do carbono orgânico não reagido. O valor sugerido para o fator é de 1,724, isso considerando que 48 a 58% da matéria orgânica seja composta por carbono (NELSON & SOMMERS, 1996). Porém, Toscano (2007) ressalta que em laboratórios

brasileiros é empregado o valor 1,33 para  $f$ , baseando-se nos resultados de Walkley & Black (1934), que obtiveram recuperação média de 76% do carbono orgânico com esse método (NAVARRO et al., 1993). Outro problema associado com o método do dicromato é a geração de resíduos contendo cromo, que devem ser adequadamente tratados e destinados pelos laboratórios de análise, onerando o custo e risco de levar a impactos ambientais negativos, caso não seja devidamente tratado (FARINE et al., 2011).

De acordo com Farine et al. (2011), a partir da solução contendo excesso de dicromato, pode-se obter, de forma indireta, os teores de C em amostras de solo através do método colorimétrico. Por este método, a determinação do C orgânico do solo baseia-se na leitura direta pela intensidade da cor verde do íon cromo reduzida pelo C orgânico do solo, por meio de espectrofotômetro de absorção molecular. O método colorimétrico é uma modificação do método Walkley e Black, proposto para medir a MOS facilmente oxidável ou decomponível do solo. Porém, é um método mais indicado para laboratórios que processam grande quantidade de amostras (SAMPAIO, et al., 2012).

Alguns métodos vêm sendo estudados como uma alternativa à utilização da oxidação com dicromato. Dentre eles, vale ressaltar a oxidação do C com uma solução de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e posterior determinação gravimétrica. Esse método tem como principal característica o fato de não gerar resíduos que necessitem de tratamento especial (FARINE et al., 2011).

Cabe também ressaltar a utilização dos equipamentos automatizados, sendo estes, capazes de realizar todas as etapas do processo analítico e de determinar as diversas formas de carbono e outros elementos em pequeno intervalo de tempo. Dentre os equipamentos mais citados na literatura, destacam-se: o analisador Dohrmann DC-85A, que utiliza uma câmara de combustão a seco ( $800^\circ$ ) e um detector infravermelho Fuji 3300, para determinar teores de C total e C orgânico (NEAL & YOUNGLOVE, 1993); os analisadores LECO CHN (modelos 600, 1000), que determinam carbono total e orgânico através da combustão das amostras à temperaturas de  $900-1000^\circ C$  (SILVA et al., 1997) e o analisador PE 2400 CHN, da Perkin-Elmer, cuja combustão se dá na faixa de  $925^\circ C$  (JIMENEZ & LADHA, 1993). A vantagem desses equipamentos é a determinação com alta precisão e com baixa geração de resíduos tóxicos, otimizando o processo de determinação da rotina laboratorial (BENACI, 2010). Em contrapartida, há algumas limitações para a sua

utilização em larga escala, sendo que a principal delas é o alto custo dos equipamentos e também das análises (JIMENEZ & LADHA, 1993).

## A MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO

De acordo com Stevenson (1994) a matéria orgânica do solo compreende a quantidade total de material orgânico presente no solo, incluindo a serrapilheira, fração leve, biomassa microbiana, orgânicos solúveis em água e material orgânico estabilizado (húmus). Na sua formação, ocorrem processos simultâneos de novas adições de materiais, de decomposição e de sintetização de novos compostos, o que mostra o seu caráter transitório e dinâmico. Esses materiais estão continuamente submetidos ao ataque de microrganismos, que, em busca de energia e de construção de sua biomassa, tornam o carbono o elemento de maior destaque no estudo da matéria orgânica (SILVA & RESCK, 1997).

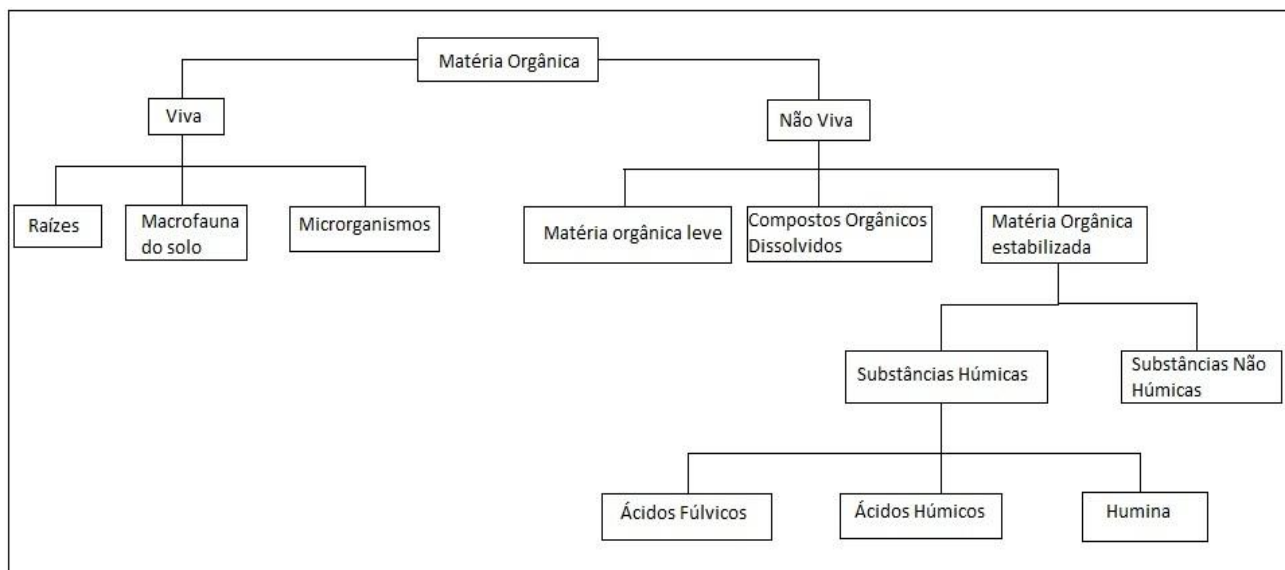
De acordo com Abbruzzini (2011) a matéria orgânica do solo apresenta-se como um sistema complexo de substâncias, no qual a dinâmica é governada pela adição de resíduos orgânicos de diversas naturezas e por uma transformação contínua sob ação de fatores biológicos, químicos e físicos.

O solo para ser considerado ideal deveria ser constituído aproximadamente por minerais (45%), poros ocupados pelo ar (25%) e pela água (25%), pela matéria orgânica (5%) e microrganismos, sendo que estas proporções podem variar bastante de solo para solo, embora que os teores de matéria orgânica nos solos tropicais dificilmente ultrapassam 2% (GERRINI & BULL, 1992).

Segundo Schnitzer (1982), o conteúdo de matéria orgânica do solo pode variar, desde valores próximos a 0, em solos desérticos, a até perto de 100% em solos orgânicos. Um solo agrícola típico tem em torno de 1 a 5% de matéria orgânica nos primeiros 15 cm do seu perfil.

No solo, a matéria orgânica desempenha diversas funções, tais como condicionador do solo, fonte de nutrientes, substrato para a atividade microbiana, tampão de pH, retentor de xenobióticos e íons em níveis tóxicos, e maior determinante da sustentabilidade da atividade agrícola (SCHNITZER, 1982).

Geralmente, considera-se que a matéria orgânica é dividida em duas frações, sendo elas: matéria orgânica viva e não viva, conforme apresentado na Figura 1 (STEVENSON, 1984).



**Figura 1.** Composição da matéria orgânica do solo

Segundo Cambardella & Elliot (1992), a matéria orgânica viva constitui cerca de 5% do carbono orgânico do solo, podendo ser dividida em três frações: raízes de plantas (5-10%), macrofauna do solo (15-30%) e microrganismos do solo (60-80%). Já a matéria orgânica não viva, de acordo com (ABBRUZZINI, 2011), constitui cerca de 95% do carbono orgânico do solo, e pode ser subdividida em matéria orgânica leve, compostos orgânicos dissolvidos e a matéria orgânica estabilizada no solo (húmus).

A fração que resta após a separação da matéria orgânica leve é chamada de húmus, compartimento que inclui as substâncias húmicas e não húmicas. Cerca de 10 a 15% da reserva total de carbono orgânico nos solos minerais é constituída pelas substâncias não húmicas (proteínas e aminoácidos, carboidratos simples e complexos, resinas, ligninas e outras), e 85 a 90% pelas substâncias húmicas. Trata-se de um sistema heterogêneo composto de materiais orgânicos que diferem entre si pela composição, função e grau de acessibilidade a microbiota do solo (PORTUGAL et al., 2008).

As substâncias húmicas são formadas pelo processo de humificação e podem ser separadas com o emprego de técnicas de fracionamento em 3 frações distintas, a saber: ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH) e humina (HU). A fração ácidos fúlvicos possui cor amarelo-parda e é solúvel em qualquer valor de pH da solução, a fração ácidos húmicos é de coloração castanho-escura e é solúvel em meio alcalino e insolúvel em meio ácido diluído, já a fração humina é insolúvel e permanece ligada a matriz mineral do solo (STEVENSON, 1994).

Conforme relatado por Stevenson (1994), as substâncias húmicas são encontradas em solos sob quatro formas diferentes, sendo elas: (a) como agregados macromoleculares insolúveis; (b) como macromoléculas ligadas entre si por meio de pontes de cátions di e trivalentes; (c) associadas aos minerais por meio de pontes

catiônicas, pontes de hidrogênio e reações de troca de ligantes, e (d) oclusas nas entrecamadas de argilominerais expansivos.

A importância da matéria orgânica em relação às características químicas, físicas e biológicas do solo é amplamente reconhecida (CUNHA et al., 2007). E atualmente, com a necessidade de aumento de produtividade agrônoma aliada à qualidade ambiental, faz-se necessário que se ressalte o papel da matéria orgânica do solo na sustentabilidade agrícola em agrossistemas, pois, de acordo com conceitos recentes, o manejo eficiente da matéria orgânica do solo constitui o método mais efetivo para melhorar a qualidade desse (USDA-NRCS, 2011).

Os solos tropicais têm a matéria orgânica como um dos principais componentes responsáveis pela manutenção da sua qualidade e, conseqüentemente, da fertilidade. Ao sofrer a remoção da vegetação nativa para a implantação de sistemas de manejo ou cultivo, tem sido observada redução na quantidade de MO desses solos (MARTINS et al., 2009). Conforme observado em alguns trabalhos, os sistemas de manejo implicam em expressivos efeitos na qualidade dos solos tropicais e subtropicais (FREITAS et al., 2000; BAYER et al., 2004; CUNHA et al., 2007).

Os principais fatores envolvidos na formação e estabilidade de agregados do solo são a fração mineral, a fauna do solo, microrganismos, raízes, agentes inorgânicos e variáveis ambientais (SALTON et al., 2008). Por isso, nota-se que a matéria orgânica é um dos principais agentes de formação e estabilização de agregados, e a diminuição de seu conteúdo no solo pelo cultivo é uma das maiores causas de deterioração da estrutura do solo (WENDLING et al., 2005), já que a partir da agregação, indiretamente, são afetadas as demais características físicas como densidade, porosidade, aeração, capacidade de retenção e infiltração de água (BAYER & MIELNICZUK, 1999).

Agregados estáveis em água contribuem para melhoria da porosidade e, conseqüentemente, maior infiltração e resistência à erosão. Assim, a utilização de sistemas de cultivo que promovam incremento de MO do solo podem contribuir para o aumento da estabilidade de agregados e, conseqüentemente, para a melhoria da qualidade física do solo (MATOS et al., 2008). De acordo com Reicosky et al. (1995), é praticamente impossível aumentar o teor de matéria orgânica do solo quando se utiliza a aração e a gradagem nos sistemas de cultivo. Este fato está associado, segundo Segnini (2007), à eliminação de fatores que determinam a estabilidade física da matéria orgânica, principalmente a ruptura de agregados organominerais e o incremento da oxigenação.

Os diferentes constituintes orgânicos do solo podem apresentar estabilidade variável, em função de sua qualidade, tamanho das partículas e de sua localização no solo. A decomposição tende a ser mais rápida quando a relação C/N é menor estreita e quando a partícula sob ataque microbiano tiver pequenas dimensões. Em função da sua localização e ligação com os colóides e íons metálicos do solo, as substâncias orgânicas ocupam reservatórios distintos no solo, podendo estar protegidas da decomposição microbiana por mecanismos físicos ou químicos, o que as tornam estáveis (STEVENSON, 1994). Estes mecanismos são chamados de: recalitrância, interação química ou coloidal e inacessibilidade ou proteção física, e são utilizados para classificar as diferentes frações da matéria orgânica do solo, além de atuarem simultaneamente sobre os substratos e compostos orgânicos em todos os seus estágios de decomposição (CHRISTENSEN, 2000).

De acordo com Tisdall & Oades (1982) a recalitrância molecular é definida como a resistência variável de uma molécula em ser decomposta, em função do seu tamanho, conformação molecular, presença de grupos funcionais, ou mesmo sua composição elementar. Os microrganismos degradam seletivamente compostos menos recalitrantes, aumentando a recalitrância média do resíduo remanescente.

A interação, também chamada de estabilização química ou coloidal, compreende reações de superfície como: interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio, troca de ligantes e pontes de cátions. São associações intermoleculares entre substâncias orgânicas e inorgânicas que alteram a taxa de degradação das moléculas orgânicas ou a síntese de novas moléculas (PILLON, 2000). Então, para que ocorra interação química, dois atributos do solo são de grande relevância, sendo a distribuição do tamanho de partículas e mineralogia dominante. Considerando que ambos atributos são pouco afetados pelo manejo, pode-se dizer que a quantidade de matéria orgânica quimicamente estabilizada é pouco dependente do sistema de manejo utilizado no solo (DUXBURY et al., 1989).

Nas regiões tropicais, os reservatórios de matéria orgânica quimicamente protegida apontam para sua menor sensibilidade à umidade e temperatura, ficando mais suscetíveis a decomposição em função de variações de

mineralogia e textura. Por questões que envolvem características climáticas e edáficas, em solos de regiões tropicais ocorre rápido ciclo de mineralização da matéria orgânica o que pode impedir a alta polimerização dos precursores húmicos e sua conversão em macromoléculas de alto peso molecular. Solos ricos em caulinita, que apresentam baixa CTC, podem dificultar a formação de complexos argilo-húmicos, favorecendo os processos de decomposição microbiana. Por sua vez, as substâncias orgânicas de pequeno tamanho são facilmente eluviadas, principalmente em solos com baixos teores de argila. A relação ácidos fúlvicos/ácidos húmicos tende a se elevar com a profundidade do solo, uma vez que ácidos fúlvicos apresentam menor peso molecular (ANDREUX & BECERRA, 1975).

O reservatório de matéria orgânica fisicamente protegida é relativamente maior em solos ácidos bastante intemperizados (com predomínio de óxidos de Fe e Al) do que em faixas de solos ricos em argilossilicatos, onde prevalecem as formas quimicamente protegidas (SILVA & RESCK, 1997). A oclusão da MOS no interior dos agregados possibilita que esta fique protegida fisicamente e esta proteção está relacionada à formação e estabilização dos agregados, seja pela encapsulação no interior dos macro e microagregados ou em microporos inacessíveis. Quando a proteção é física, perturbações originárias do preparo do solo podem diminuir e até mesmo impedir o crescimento de raízes e hifas de fungos, resultando em quebra de macro-agregados e conseqüente aceleração da decomposição da matéria orgânica presente entre os micro-agregados (TISDALL & OADES, 1982).

Em solos ricos em argila ou silte, onde as frações texturais apresentam elevada superfície específica, é maior a possibilidade de adsorção de moléculas orgânicas, o que favorece sua polimerização e transformação em compostos húmicos de elevado peso molecular (ANDREUX & BECERRA, 1975). Silva et al. (1997) encontrou relações carbono/nitrogênio (C/N) na matéria orgânica associada à fração argila com valores muito próximos àqueles do húmus, indicando maior polimerização nessa fração textural do solo, quando comparada com a fração areia. Após desmatamento, solos com baixo teor de argila tendem a perder mais rapidamente a matéria orgânica do solo por oxidação. Taxas aceleradas de reciclagem da matéria orgânica do solo não protegida (biomassa e lábil) podem por em risco a sustentabilidade da atividade agrícola, pois a rápida liberação de nutrientes do reservatório lábil pode acarretar grandes perdas de nutrientes, sobretudo se a vegetação for removida.

Em estudos de manejo do solo com objetivos de avaliar sua sustentabilidade sob cultivos diversos, a simples avaliação do teor da matéria orgânica do solo não satisfaz às expectativas da investigação científica. A metodologia a ser empregada deve considerar o relacionamento entre o acúmulo de matéria orgânica e a sua localização física na matriz do solo, bem como a caracterização das suas frações que apresentam diferentes

tempos de reciclagem, podendo afetar a estrutura do solo e a agregação por diversas maneiras. Quantificações e caracterizações da matéria orgânica do solo em função de sua localização, tais como inter e intra-agregados, ou até mesmo nas frações texturais do solo, podem ser feitas, inicialmente, utilizando técnicas de separação física (CARTER & GREGORICH, 1996). A maioria das técnicas de separação seguem uma sequência de fragmentação, utilizando ultra-som ou agitação e separação das partículas, por tamisação, sedimentação ou densimetria. Uma técnica alternativa e avançada para o estudo quantitativo da matéria orgânica dentro de micro-agregados é a foto-oxidação por ultravioleta de alta energia, cujas análises são feitas em suspensão de solo. Trata-se de uma metodologia rápida, que não necessita de reagentes químicos ou altas temperaturas para sua execução (SKJEMSTAD et al., 1995).

A determinação da matéria orgânica do solo é de extrema relevância, visto que a dinâmica de transformação do carbono orgânico afeta diretamente a qualidade do solo (HERMLE et al., 2008), pois esta é componente essencial nos diversos processos químicos, físicos e biológicos que ocorrem nos ecossistemas terrestres, dentre os quais se destacam: a estruturação do solo, o suprimento de nutrientes, a capacidade de troca iônica, o tamponamento do pH do solo, fonte de carbono e energia para os microrganismos do solo, redução da contaminação de água em superfície e subterrânea pelo fenômeno de adsorção de poluentes, afeta a disponibilidade de ar e água às raízes das plantas e o desenvolvimento do sistema radicular (CONCEIÇÃO et al., 2005).

### EXTRAÇÃO E FRACIONAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

Atualmente, existem diversas técnicas de fracionamento físico e químico têm sido desenvolvidas com a finalidade de separar e isolar frações de carbono orgânico total do solo (CHENG & KIMBLE, 2001). Em geral, os compartimentos físicos do carbono orgânico total são diferenciados pelo tamanho e incluem resíduos facilmente reconhecidos (tamanho > 2 mm), múltiplos compartimentos com diferentes características de decomposição ou taxas de transformação. Quanto à fração química do solo, há vários estudos sendo realizados com foco nas substâncias húmicas, devido a relação dessas com as propriedades físico-química dos solos e interação com metais e compostos orgânicos (MARTINS et al., 2009).

De acordo com Silva et al. (1997), em solos minerais, os componentes orgânico e inorgânico estão tão fortemente associados que pode ser necessário usar um extrator para separá-los e, dessa forma, possibilitar a quantificação e caracterização das substâncias húmicas presentes. O extrator, para ser ideal, deve ser capaz de remover toda a matéria orgânica do solo sem, contudo, lhe alterar as propriedades físicas e químicas. Apesar de

muitos esforços, nenhum extrator atualmente empregado aproxima-se do ideal.

Diversos métodos objetivando a extração química das substâncias húmicas do solo tem sido propostos. O método de extração de SH mais amplamente empregado e citado como o mais eficiente consiste no tratamento com solução de NaOH 0,1 a 0,5 mol.L<sup>-1</sup>, sendo também recomendado pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (SWIFT, 1996). Com base nos experimentos de Senesi et al. (1994), os mesmos alertam que extrações consecutivas e de longa duração podem modificar as SH extraídas, no entanto, nos estudos realizados por Tan et al. (1991) mostraram que SH extraídas com NaOH durante 24 h em presença do ar, com atmosfera inerte a N<sub>2</sub> não sofreram oxidação.

Outros métodos também podem ser utilizados, como por exemplo, o que emprega solução de Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0,15 mol.L<sup>-1</sup>, pois é um método de extração mais brando e seletivo, no entanto, pode ser menos eficiente do que o alcalino (DICK et al., 2009).

Segundo Kononova (1982), uma vez extraído, o material orgânico do solo pode ser separado quimicamente em três frações, com relação à sua solubilidade em base ou em ácido. Os ácidos fúlvicos representam a fração solúvel em base e em ácido; os ácidos húmicos são solúveis em base e precipitam-se na presença de ácido e, por fim, a humina, que não é solúvel nesses meios. A separação é operacional e não há um limite entre essas frações em termos de propriedades físico-químicas. Segundo Schnitzer (1982) apesar de semelhantes, as 3 frações diferem quanto ao peso molecular que é menor nos ácidos fúlvicos e maior nos ácidos húmicos e na humina. Além disso, os ácidos fúlvicos têm maior quantidade de grupos contendo oxigênio (CO<sub>2</sub>H, OH e C=O) por unidade de peso, menor conteúdo de nitrogênio, maior acidez e capacidade de troca de cátions (CTC) que os ácidos húmicos e estes em relação à humina. As três frações apresentam elevada resistência à degradação microbiana.

Os ácidos húmicos possuem maior conteúdo de C e menor de O e, conseqüentemente, uma massa maior que os ácidos fúlvicos. Com o grau de polimerização relativamente maior dos ácidos húmicos, é possível constatar um estágio mais avançado de humificação. Entretanto, os ácidos fúlvicos contém mais agrupamentos – COOH por unidade de massa em relação aos ácidos húmicos e, juntamente com a soma dos grupamentos fenólicos, caracterizam maior acidez total, apresentando maior Capacidade de Troca Catiônica (CTC) que os ácidos húmicos, cerca de 1.120 - 1.400 cmol<sub>c</sub>.kg<sup>-1</sup>. Mesmo quando comparado com uma argila silicatada 2:1, que contém em média 200 cmol<sub>c</sub>.Kg<sup>-1</sup>, as substâncias húmicas superam na capacidade tampão do solo (SANTOS & CAMARGO, 1999).

O peso molecular das substâncias húmicas varia dentro de faixas específicas para cada fração. Assim, ácidos fúlvicos apresentam peso molecular entre 1.000 e 5.000

Daltons, enquanto que os ácidos húmicos, entre 2.000 e 1.300.000 Daltons (CARTER & GREGORICH, 1996). Os processos de degradação dos solos apresentam diminuição do peso molecular das substâncias húmicas, à medida que a estabilidade estrutural diminui. Assim, observam-se aumentos nos teores de ácidos fúlvicos em detrimento dos teores de ácidos húmicos, indicando que as moléculas destes estejam sendo quebradas em frações mais reativas e de menor tamanho, que podem atingir a faixa dos ácidos fúlvicos (SILVA et al., 1997).

De acordo com Benites et al. (2003) é muito importante determinar as frações da matéria orgânica, pois a relação entre elas, permite entender os processos que estão ocorrendo no solo. A relação AH/AF é a relação entre os teores de carbono na forma de ácidos húmicos e ácidos fúlvicos que indica a mobilidade do carbono no solo. Em geral, os solos mais arenosos apresentam maiores relações AH/AF indicando a perda seletiva da fração mais solúvel. E de acordo com Benites et al. (2001) a relação EA/HUM é a relação entre o extrato alcalino (ácidos fúlvicos mais ácidos húmicos) e a humina. Este índice indica iluviação de matéria orgânica e nos horizontes espódicos são encontrados as maiores relações EA/HUM enquanto em horizontes superficiais as relações EA/HUM são, em geral, menores que 1.

Após o fracionamento, é necessário purificar os ácidos húmicos e os ácidos fúlvicos para a retirada de cinzas e moléculas orgânicas de baixo peso molecular. Para ácidos húmicos, usa-se solução de HCl ou HF diluído, enquanto que para ácidos fúlvicos, fazem-se passagens sucessivas por resinas trocadoras de cátions. As substâncias húmicas podem ainda ser purificadas por meio de diálise ou ultrafiltração e ainda por cromatografia gélica de exclusão. Uma vez obtido o extrato purificado, pode-se liofilizar o material para futuras caracterizações (BENITES et al., 2003).

Alternativamente ao fracionamento químico, as substâncias húmicas podem ser separadas através de procedimentos baseados nas características físicas de suas partículas. Uma das técnicas empregadas há mais tempo consiste na filtração gélica. Segundo Longo (1982), após extraídas, as substâncias húmicas são suspensas em um eluente (que pode ser água destilada) e passadas em colunas de dimensões variáveis, preenchidas com polímeros de formato esférico, com tamanhos homogêneos. A eluição se dá numa sequência, que obedece ao tamanho das partículas orgânicas. As substâncias de maior peso molecular sofrem mais atração pela matriz gélica, demorando mais para serem eluídas. Dessa forma, os ácidos fúlvicos, são eluídos antes que os ácidos húmicos. As frações são coletadas em tubos sequencialmente separados e, em seguida, podem ser purificadas, liofilizadas e analisadas. Normalmente, a filtração gélica é realizada paralelamente com outras análises, tais como determinações da acidez, ou em comparação com outras formas de extração. Apesar de simples, esta técnica apresenta muitas limitações, tais como: só permite fazer uma estimativa do peso molecular

das substâncias húmicas; sua execução requer escolha frequente das dimensões da coluna e da matriz gélica, que tem de ser bem “empacotada” para evitar bolhas, além de não ser um procedimento de execução rápida (FERRARI & DELL’AGNOLLA, 1963).

Outra técnica que se baseia na estimativa do peso molecular das partículas para realizar o fracionamento das substâncias húmicas é a cromatografia de exclusão por tamanho de alta eficiência (CETAE). Trata-se de um método moderno e rápido, com boa confiabilidade na aferição do peso molecular e na determinação das proporções de ácidos húmicos e ácidos fúlvicos. O princípio de funcionamento baseia-se na migração diferenciada do material húmico na coluna cromatográfica. Moléculas de maior peso molecular exibem menor interação com o espaço poroso da coluna cromatográfica, sendo excluídas mais rapidamente, ao passo que moléculas menores apresentam caminhamento mais tortuoso, interagindo mais com a matriz silicosa que empacota a coluna (MEYER, 1993). Após a construção de uma curva padrão, que é feita eluindo-se substâncias de peso molecular conhecido (normalmente, sulfonato de poliestireno de sódio e acetona diluída), faz-se a aferição do sistema cromatográfico, utilizando-se substâncias húmicas com peso molecular conhecido e que podem ser sintéticas ou naturais e adquiridas junto à Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (SILVA et al., 1997).

De acordo com Mendonça & Rowell (1994), em muitos solos tropicais, os ácidos fúlvicos parecem ser o principal componente das substâncias húmicas, por isso devem exercer um papel importante na ciclagem de nutrientes, na agregação do solo e na pedogênese. A predominância de ácidos fúlvicos nos latossolos oxidícos brasileiros é devido à formação de complexos organometálicos (fração orgânica protegida quimicamente), onde participam os ácidos fúlvicos e os óxidos de ferro e alumínio. Por outro lado, condições edáficas e climáticas conservadoras, normalmente observadas em regiões temperadas, tendem a facilitar processos de polimerização das substâncias húmicas, portanto, num sentido inverso àquele observado nas regiões tropicais.

Entretanto, a relevância agrônômica ou biológica dos métodos de extração e fracionamento da matéria orgânica do solo é questionada por diversos autores. Entre as limitações verificadas, podem ser citados os problemas relacionados com a própria abordagem metodológica (que impossibilita extrações quantitativas), a possibilidade de produção de artefatos durante a extração e purificação e dificuldades de caracterização do material extraído (CARTER & GREGORICH, 1996). As determinações quantitativas da matéria orgânica do solo e das proporções das frações AH e AF não são suficientes para sua caracterização, uma vez que esses valores podem ser semelhantes em diferentes amostras de solo, provenientes de regiões com clima e solo bem diferentes, onde terão comportamentos igualmente diversos com o passar do

tempo. Longo (1982) observou não haver relação entre teor de matéria orgânica e a sua atividade em latossolos: na região do Jequitinhonha (MG), verificou-se elevada complexidade (polimerização) da matéria orgânica extraída na camada de 5 a 6 cm da superfície, porém que apresentou baixa atividade; por outro lado, as substâncias húmicas extraídas na mesma profundidade de um latossolo amazônico apresentaram elevada atividade, contudo com baixos teores de carbono orgânico.

## CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

Uma vez extraídas, as substâncias húmicas do solo (como um todo ou em frações) podem ser caracterizadas por diversas técnicas, que empregam recursos com diferentes graus de sofisticação. Algumas dessas tecnologias podem, inclusive, eliminar a necessidade de extração da matéria orgânica, analisando diretamente o solo. Tais tecnologias podem auxiliar no entendimento da participação dos diferentes grupos funcionais na estabilidade e reatividade da matéria orgânica do solo (CARTER & GREGORICH, 1996). Em função da metodologia empregada, a caracterização da matéria orgânica do solo pode ser agrupada em métodos químicos, espectrométricos na faixa do visível, do ultravioleta e do infra-vermelho e alguns métodos avançados, que empregam equipamentos mais modernos.

Os maiores constituintes das substâncias húmicas são o carbono (C) e o oxigênio (O). O conhecimento das percentagens desses elementos, bem como de hidrogênio (H), de nitrogênio (N) e de enxofre (S) nas diferentes frações das substâncias húmicas, permite fazer inferências a respeito das proporções dessas frações na matéria orgânica do solo. Segundo Senesi & Loffredo (1999), ácidos húmicos e ácidos fúlvicos apresentam composições suficientemente diferentes, sobretudo de carbono e oxigênio, que auxiliam distingui-los.

Os grupos funcionais contendo oxigênio em substâncias húmicas são  $\text{CO}_2\text{H}$ , OH fenólicos e alcoólicos e  $\text{C}=\text{O}$ . Por unidade de peso, os ácidos fúlvicos possuem maior quantidade de grupos  $\text{CO}_2\text{H}$  e OH alcoólico que ácidos húmicos. Por sua vez, a humina possui maiores proporções de grupos  $\text{C}=\text{O}$  cetônicos e quinonóides. A acidez (ou capacidade de troca) das substâncias húmicas se deve, principalmente, à ocorrência de H ionizável em grupos  $\text{CO}_2\text{H}$  alifáticos e aromáticos e em grupos OH fenólicos (SILVA et al., 1997).

Outro método importante para caracterização química de substâncias húmicas é a metilação. Este método fornece informações auxiliares sobre a estrutura de ácidos húmicos e ácidos fúlvicos. As reações podem ser acídicas ou alcalinas, onde sempre ocorre oxidação, por meio da utilização de reagentes, tais como  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{CuO}$ - $\text{NaOH}$ , ácido acético, acetato de cálcio, ácido nítrico, dentre outros. Os maiores produtos obtidos desse processo químico são ácidos carboxílicos alifáticos, ácidos fenólicos e ácidos benzeno-carboxílicos. A determinação

de grupos carboxílicos, muito útil para verificar polaridade e reatividade de ácidos húmicos, pode ser realizada por este método, utilizando acetato de cálcio, por exemplo, como agente oxidante (SCHNITZER, 1982).

Várias técnicas analíticas podem ser empregadas visando avaliar o grau de estabilização da matéria orgânica, destacando-se as espectroscópicas. Técnicas como espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Fluorescência de luz UV-Visível, fluorescência induzida por laser (FIL), ressonância magnética nuclear (RMN), espectrometria de massa por pirólise e ionização de campo (EM-PIC) têm gerado resultados importantes na avaliação da qualidade do solo, sob condições temperadas e tropicais (ABREU JUNIOR et al, 2009). Essas técnicas fornecem informações sobre grupos funcionais constituintes da matéria orgânica possibilitando a avaliação do grau de humificação. Essas técnicas apresentam a vantagem de se trabalhar com pequenas quantidades de material (GONZÁLEZ-PEREZ et al., 2004).

A espectroscopia na faixa do infravermelho (IV) fornece informações sobre a natureza dos grupos funcionais que compõem as substâncias húmicas. Contudo, as curvas de absorção de luz no infravermelho para as substâncias húmicas não apresentam picos de máximo e de mínimo distintos, mas sim uma curva de aspecto ondulado (CERETTA et al., 2008). O espectro IV diz pouco a respeito da estrutura química, limitando-se a refletir a predominância de grupos funcionais contendo oxigênio, como  $\text{CO}_2\text{H}$ , OH e  $\text{C}=\text{O}$  em substâncias húmicas. O IV é útil para as seguintes determinações: caracterização grosseira de substâncias húmicas de diferentes origens; avaliação dos efeitos de diferentes extratores químicos; modificações químicas como acetilação, metilação e saponificação; formação de derivados; detectar mudanças na estrutura química de substâncias húmicas após oxidação, pirólise e tratamentos similares; para caracterizar a formação de humatos metálicos e de complexos argilo-húmicos e para indicar possíveis interações dos materiais húmicos com pesticidas, herbicidas, dentre outros (SCHNITZER, 1982).

Recentemente, a espectroscopia no IV recebeu um grande avanço, que tem possibilitado a quantificação de ácidos húmicos. Trata-se da espectroscopia denominada espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), capaz de apresentar espectros muito mais definidos do que o sistema convencional, pois utiliza um sistema multicanal, que obtém vários espectros do material, sendo estes gravados e cuja média é fornecida rapidamente (PIGATIN, 2011).

As técnicas de Espectroscopia de Fluorescência de Luz Ultra Violeta-Visível (UV-VIS) e Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (LIFS) permitem determinar o grau de humificação das frações químicas e da matéria orgânica do solo como um todo (MILORI et al., 2006). De acordo com González-Perez et al. (2007) a Fluorescência de Luz UV-Visível e Inflorescência Induzida por Laser apresentam um grande potencial na



avaliação do grau de humificação de material orgânico nas frações húmicas e amostras de solos inteiras. Isso acontece pois as substâncias orgânicas mais humificadas apresentam uma intensidade de fluorescência maior em comprimento de onda menor e torna-se possível associar essa alteração de sinal com alterações químicas em compostos orgânicos (ABBRUZZINI, 2011). Atualmente, existem poucos estudos que utilizam a Espectroscopia Induzida por laser aplicada a matéria orgânica do solo, porém há uma tendência de aumento do uso dessa técnica.

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear foi desenvolvida há cerca de 40 anos. Desde então, tem tido muitas aplicações, utilizando  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{29}\text{Si}$ ,  $^{27}\text{Al}$ -RMN. Trata-se de uma técnica, cujo princípio de funcionamento baseia-se na modificação do nível de energia spin do núcleo, quando submetidos a um campo magnético. Dessa forma, ocorre a emissão de ressonância que pode ser captada distintamente de cada elemento, identificando-o na amostra. Além disso, os elétrons que envolvem um núcleo, funcionam como uma proteção contra o campo magnético e, desta forma, núcleos do mesmo elemento com distribuições eletrônicas diferentes (devido a arranjos moleculares) produzem ressonância a diferentes frequências. Assim, núcleos de carbono em estruturas aromáticas ressonam em frequência que difere daquela de estruturas carboxílicas, e assim por diante, o que permite seu uso para detectar grupos funcionais no solo (WILSON, 1996). Com respeito à matéria orgânica do solo, em função do tipo de determinação que se pretenda fazer, pode-se utilizar as espectroscopias  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{15}\text{N}$ -RMN, sendo mais usual a  $^{13}\text{C}$ -RMN (SILVA et al., 1997).

O uso da espectroscopia  $^{13}\text{C}$ -RMN tem auxiliado muitos trabalhos voltados para a identificação e caracterização dos diversos componentes que constituem a matéria orgânica e das substâncias húmicas em diferentes frações texturais do solo. Vários trabalhos têm sido desenvolvidos para avaliar estádios de decomposição da matéria orgânica do solo a partir da serrapilheira, procurando relacionar as substâncias húmicas com o tipo e constituição da cobertura vegetal do solo (CERETTA et al., 2008).

Uma das maiores limitações à utilização da espectroscopia de ressonância magnética nuclear consiste na necessidade de habilidade e treinamento do operador do aparelho. Como o pesquisador de solo normalmente não tem esta preparação, ele depende de especialistas para produzir espectros que possam ser interpretados. Muitos pesquisadores já ficaram desapontados com os resultados de suas análises por este motivo (ABREU JUNIOR et al., 2009).

Nos estudos que procuram índices de sustentabilidade do solo, um procedimento importante é a comparação, sempre que possível, dos dados obtidos de áreas cultivadas com outros de áreas intocadas próximas, e que apresentem as mesmas características de solo e relevo. Dessa forma, são respaldadas as inferências com base em sustentabilidade da atividade agrícola. Nesse aspecto sabe-

se que a aromaticidade tende a elevar-se com a decomposição orgânica, em detrimento de formas mais lábeis de carbono, como o C ligado a carboidratos. Em sistemas agrícolas tropicais, alguns estudos utilizando  $^{13}\text{C}$ -RMN têm demonstrado que um dos principais efeitos do cultivo nesses ambientes são o aumento da aromaticidade das frações orgânicas e uma diminuição do C-alifático. O desmatamento e o cultivo de latossolos pode resultar em aumento relativo da aromaticidade da matéria orgânica do solo, devido à diminuição das frações de menor peso molecular (SILVA et al., 1997).

O método de espectrometria EM-PIC foi idealizado por Schulten (1977) e aplicado para diversos materiais naturais de elevado peso molecular. Neste método, a amostra é submetida à pirólise diretamente no vácuo do espectrômetro e os componentes são identificados pela espectrometria de massa e ionização de campo. O método tem sido utilizado com sucesso para caracterizar e identificar substâncias húmicas do solo, com ou sem o emprego de processos de extração. Normalmente, são demonstradas as presenças de polissacarídeos, materiais protéicos, ácidos graxos, n-alcenos, alquil-ésteres, fenóis e monômeros e dímeros de lignina em diversos sinais de massa (SCHNITZER & SCHULTEN, 1995). Segundo Gregorich et al. (1996), a sensibilidade desta técnica é muito elevada, sendo possível detectar desde substâncias com pequeno peso molecular até grandes cadeias moleculares, diferindo-as umas das outras até na composição dos radicais. O uso da espectrometria EM-PIC pode auxiliar na identificação dos componentes orgânicos que são incorporados ao solo pelos diferentes tipos de vegetação.

Além das técnicas já mencionadas, há muitas outras que apresentam diferentes graus de sofisticação e que contribuem para a caracterização da matéria orgânica do solo. Dentre elas, podem ser citadas: as técnicas rádio-isotópicas, utilizando substratos enriquecidos artificialmente; a avaliação da abundância natural de  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$ ; a espectrometria de ressonância spin eletrônica ou espectrometria paramagnética eletrônica; a eletroforese com focalizador isoeletrônico; a cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa e a microscopia de força atômica, capaz de fazer análise estrutural de ácidos húmicos (CARTER & GREGORICH, 1996).

A técnica da abundância natural de  $^{13}\text{C}$  permite comparar o material orgânico do solo em relação à vegetação que lhe deu origem. O equipamento utilizado é um espectrômetro de massa de fluxo contínuo, normalmente acoplado a analisador automatizado  $^{13}\text{C}$ . Esta técnica fundamenta-se no fato de que este isótopo ocorre naturalmente nos vegetais em pequenas proporções e, com a decomposição dos seus resíduos, há um aumento de concentração de  $^{13}\text{C}$ , devido à preferência dos microrganismos heterotróficos pelo isótopo  $^{12}\text{C}$  (AGREN et al., 1996). Dessa forma, a avaliação da composição de  $^{13}\text{C}$  constitui uma ferramenta para monitorar o efeito do manejo na decomposição da matéria orgânica do solo. Por outro lado, sabendo-se que as substâncias húmicas contêm

concentrações variadas de radicais livres estáveis do tipo semiquinona, estas podem ser avaliadas pela técnica denominada espectrometria de ressonância spin eletrônica (RSE). São de interesse especial os papéis dos radicais livres na síntese e degradação das substâncias húmicas, em complexos metálicos, em reações com compostos orgânicos (xenobióticos) e na atividade fisiológica que essas substâncias podem exercer. Esta técnica é útil nos estudos que envolvem materiais turfosos (KARLSTROM et al., 1994).

A integração das diversas tecnologias disponíveis tem proporcionado a obtenção de dados mais esclarecedores a respeito das estruturas orgânicas extraídas do solo, ou até mesmo do solo como um todo. Mais recentemente, Schulten & Schnitzer, (1997) apresentaram modelos estruturais hipotéticos da matéria orgânica e do solo em formato tridimensional.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o avanço da tecnologia, a matéria orgânica torna-se um dos componentes do solo mais estudados, tendo em vista a necessidade constante de se conhecer bases sustentáveis de produção agrícola, bem como as novas descobertas que se relacionam com os processos físicos, químicos e biológicos do solo. Para a extração das substâncias húmicas não existe um extrator ideal, por isso, o ideal é utilizar os métodos de extração forma conjunta. A caracterização quali-quantitativa da matéria orgânica é de extrema relevância, pois a dinâmica de transformação do carbono orgânico afeta diretamente a qualidade do solo e, conseqüentemente, sua sustentabilidade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbruzzini, T. F. **Qualidade e quantidade da matéria orgânica do solo em cultivo convencional e orgânico de cana-de-açúcar**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2011. 92 p. Dissertação de Mestrado.

Abreu Junior, C. H.; Martin-Neto, L.; Milori, D. M. B. P.; Simões, M. L.; Silva, W. T. L. Métodos analíticos usados em química do solo. In: SENESI, N.; XING, B.; HUANG, P. M. (Org.). **Química e mineralogia do solo: aplicações**. Viçosa: SBCS, v. 2, p. 531-658, 2009.

Agren, G.I.; Bosatta, E.; Balesdent, J. Isotope discrimination during decomposition of organic matter. A theoretical analysis. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, v.60, p.1121-1126, 1996.

Allison, L.E. Wet-combustion apparatus and procedure for organic and inorganic carbon in soil. **Soil Sci. Soc. Am. Proc.**, v.24, p.36-40, 1960.

Andreux, F.; Becerra, S.P. Fraccionamento y caracterización del material húmico en algunos suelos de

sabana de la Orinoquia colombiana. **Turrialba**, v. 25, p.191-198, 1975.

Bayer, C.; Martin-Neto, L.; Mielniczuk, J.; Pavinato, A. Armazenamento de carbono em frações lábeis da matéria orgânica de um Latossolo Vermelho sob plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n.7, p. 677-683, 2004.

Bayer, C.; Mielniczuk, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Matrópole, 1999. p. 9-26.

Benaci, V. **Avaliação de métodos de análise para carbono orgânico em amostras de interesse agrônômico**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2010. 63 p. Dissertação de Mestrado.

Benites, V. M.; Madari, B.; Machado, P. L. O. A. **Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo: um procedimento simplificado de baixo custo**. Rio de Janeiro: Embrapa, 2003. 7p.

Benites, V. M.; Schaefer, C. E. R. G.; Mendonça, E. S.; Martin Neto, L. Caracterização da matéria orgânica e micromorfologia de solos sob Campos de Altitude no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 25, p. 661-674, 2001.

Cambardella, C. A.; Elliot, E. T. Particulate soil organic matter changes across a grassland cultivation sequence. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 56, p. 777-783, 1992.

Carter, M. R.; Gregorich, E. G. Methods to characterize and quantify organic matter storage in soil fractions and aggregates. In: CARTER, M.R.; STEWART, B. A. ed. **Structure and organic matter storage in agricultural soils**. Boca Raton, Lewis, 1996. p.449-466.

Ceretta, C. A.; Bayer, C.; Dick, D. P.; Martin-Neto, L.; Colnago, L. A. Métodos espectroscópicos. In: **Fundamentos da Matéria Orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Metrópole, 2008, p. 201-205.

Cheng, H.H.; Kimble, J.M. Characterization of soil organic carbon pools. In : Lal, R.; Kimble, J.M.; Follet, R.F.; Stewart, B.A. (Eds). **Assessment methods for soil carbon**. Boca Raton, Lewis Publishers. 2001. p.117-130.

Christensen, B. T. **Organic matter in soil - structure, function and turnover**. Copenhagen, 2000. 95p.

- Conceição, P. C.; Amado, T. J. C.; Mielniczuk, J.; Spagnollo, E. Qualidade do solo em sistemas de manejo avaliada pela dinâmica da matéria Orgânica e atributos relacionados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, n.5, p. 777-788, 2005.
- Cunha, T.J.F.; Madari, B.E.; Benites, V.M.; Canellas, L.P.; Novotny, E.H.; Moutta, R.O.; Trompowsky, P.M.; Santos, G. A. Fracionamento químico da matéria orgânica e características de ácidos húmicos de solos com horizonte a antrópico da Amazônia (Terra Preta). **Acta Amazônica**, v.37, n.1, p. 91- 98, 2007.
- Dias, J. C; Lima, W. N. de. Comparação de métodos para a determinação de matéria orgânica em amostras ambientais. **Revista Científica da UFPA**, Pará - PA, vol. 4, 16 p. 2004.
- Dick, d. P.; novotny, e. H.; dieckow, j.; bayer, c. Química da matéria orgânica do solo. In: SENESI, N.; XING, B; HUANG, P. M. (Org.). **Química e mineralogia do solo: aplicações**. Viçosa: SBCS, 2009, v.2, p.2.
- Diniz Filho, E. T.; Mesquita, L. X. de; Oliveira, A. M. de; Nunes, C. G. F.; Lira, J. F. B. de. A prática da compostagem no manejo sustentável de solos. **Revista Verde**, Mossoró, v.2, n.2, p.27-36, 2007.
- Duxbury, J. M. Et Al. Soil organic matter as a source and a sink of plant nutrients. In: COLEMAN, D. C. et al. (eds.) **Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems**. Honolulu, University of Hawaii, 1989. p.33-67.
- EMBRAPA. **Manual de Métodos de Análise de solo**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Embrapa, 1997. 212 p.
- Faria, G. E. de.; Barros, N. F. de.; Novais, R. F. de.; Silva, I. R. da.; Neves, J. C. L. Carbono orgânico total e frações da matéria orgânica do solo em diferentes distâncias do tronco de eucalipto. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v.36, n.80, p. 265-277, 2008.
- Farine, E. L.; Moreira, D. A.; Nardo, A. E.; Camargo, I. S. P.; Jordão, L. T.; Germano, M. M. G.; Kleinert, J. J.; Oliveira, J. A. **Comparação de dois métodos para determinação do teor de carbono orgânico do solo**. VI Jornada Acadêmica da Embrapa Soja. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 95p.
- Ferrari, G.; Dell'agnola, G. Fractionations of the organic matter of soil by gel filtration through Sephadex. **Soil Science**, v. 96, p.418-421, 1963.
- Freitas, P.L.; Blancaneaux, P.; Gavinelli, E. Nível e natureza do estoque orgânico de latossolos sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.1, p.157-170, 2000.
- Gatto, A.; Barros, N. F. de; Novais, R. F.; Silva, I. R.; Mendonça, E. De. S.; Villani, E. M. de A. Comparação de métodos de determinação do carbono orgânico em solos cultivados com eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa-MG, v. 33, p. 735-740, 2009.
- González-Perez, M.; Martin-Neto, L.; Saab, S. C.; Novotny, E. H.; Milori, D. M. B. P.; Bagnato, V. S.; Colnago, L. A.; Melo, W. J.; Knicker, H. Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, <sup>13</sup>C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy. **Geoderma**, v. 118, p 181-190, 2004.
- González-Perez, M.; Milori, D. M. B.P.; Colnago, L. A.; Martin-Neto, L.; Melo, W. J. A laser-induced fluorescence spectroscopic study of organic matter in a Brazilian Oxisol under different tillage systems. **Geoderma**, Amsterdam, v. 138, p. 20-24, 2007.
- Gregorich, E.G.; Monreal, C.M.; Schnitzer, M.; Schulten, H.R. Transformation of plant residues into soil organic matter: chemical characterization of plant tissue, isolated soil fractions, and whole soils. **Soil Science**, v.161, p.680-693, 1996.
- Guerrini, I.A., Bull, L.T. **Encontro sobre matéria orgânica do solo: problemas e soluções**. Botucatu, FCA/UNESP, 1992. 203p.
- Hermle, S.; Anken, T.; Leifeld, J.; Weiskopf. The effect of the tillage system on soil organic carbon content under moist, cold-temperate conditions. **Soil & Tillage Research**, v. 98, n.1, p. 94-105, 2008.
- Jimenez, R.R.; Ladha, J.K. Automated elemental analysis: a rapid and reliable but expensive measurement of total carbon and nitrogen in plant and soil samples. **Comm. Soil Sc. Plant Anal.**, v. 24, p.1897-1924. 1993.
- Karlstrom, H.; Nordén, B.; Wikander, G. Spectroscopic peat classification and calibration using electron spin resonance and multivariate data analysis. **Soil Science**, v.157, p.300-311, 1994.
- Kononova, M. M. **Materia orgánica del suelo: su naturaleza, propiedades y métodos de investigación**. Barcelona: Oikos-tau, 1982. 364 p.
- Lal, R. **Methods and guidelines for assessing sustainable use of soil and water resources in the tropics**. Columbus, Ohio State University, 1994. 78p.
- Longo, J. V. **Fracionamento e caracterização de substâncias húmicas em materiais de solos**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1982. 66p. Dissertação de Mestrado.

- Martins, E. De L.; Coringa, J. Do E. S. ; Weber, O. L. dos S. Carbono orgânico nas frações granulométricas e substâncias húmicas de um Latossolo Vermelho Amarelo distrófico – LVAd sob diferentes agrossistemas. **Acta Amazonica**, v.39, n.3, p. 655-660, 2009.
- Matos, E. S.; Mendonça, E. De S.; Leite, L. F. C.; Galvão, J. C. C. Estabilidade de agregados e distribuição de carbono e nutrientes em Argissolo sob adubação orgânica e mineral. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n.9, p. 1221-1230, 2008.
- Mendonça, E. S.; Rowell, D. L. Dinâmica do alumínio e de diferentes frações orgânicas de um latossolo argiloso sob cerrado e soja. **R. bras. Ci. Solo**, Viçosa, v.18, p.295-303, 1994.
- Meyer, V.R. **Practical high-performance liquid chromatography**. West Sussex, John Wiley & Sons, 1993. 376p.
- Milori, D. M. B. P.; Galeti, H. V. A.; Martin-Neto, L.; Diecknow, J.; González-Perez, M.; Bayer, C.; Salton, J. Organic matter study of whole soil samples using laser-induced fluorescence spectroscopy. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 70, p. 57-63, 2006.
- Monteiro, K. F. G. et al. **Uso de resíduos vegetais no solo: Subsídios para a formação de terra preta nova em Tailândia (PA)**. Tailândia-Pará, p. 314-327, 2004. [http://www.biochar.org/joomla/images/stories/Cap\\_25\\_Katia.pdf](http://www.biochar.org/joomla/images/stories/Cap_25_Katia.pdf). 08 ago. 2012.
- Navarro, A. F.; Roig, A.; Cegarra, J.; Bernal, M. P. Relationship between total organic carbon and oxidizable carbon in calcareous soils. **Comm. Soil Sci. Plant. Anal.**, v.24, p. 2203-2212, 1993.
- Neal, R. H.; Younglove, T. The use of a dry combustion infrared instrumental technique to determine total and organic carbon in california soils. **Comm. Soil Sci. Plant. Anal.**, v. 24, p. 2733-2746, 1993.
- Nelson, D. W.; Sommers, L.E. **Total carbon, organic carbon, and organic matter**. In: Page, A.L., ed. *Methods of soil analysis. Chemical and mineralogical properties*. 2.ed. Madison, ASA/SSSA 1982. p.539-579.
- Nelson, D. W.; Sommers, L. E. **Total carbon, organic carbon and organic matter**. In: *Methods of Soil Analysis Part 3. Chemical Methods-SSSA Book Series n° 5*. Madison: Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, 1996. p.963-1010.
- Olszewski, N.; Costa, L. M.; Fernando Filho, E. I.; Ruiz, H. A.; Alvarenga, R. C. ; Cruz, J. C. Morfologia de agregados do solo avaliada por meio de análise de imagens. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 28, n. 5, p. 901-909, 2004.
- Pigatin, L. B. F. **Compostos orgânicos de origem agroindustrial e urbana aplicados à produção vegetal e fertilidade do solo**. São Paulo: Instituto de Química de São Carlos, , 2011. 118p. Dissertação de Mestrado.
- Pillon, C.N. **Alterações no conteúdo e qualidade da matéria orgânica do solo, induzidas por sistemas de cultura em plantio direto**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. 232p. Tese de Doutorado.
- Portugal, A. F.; Jucksch, I.; Schaefer, C. E. G. R.; Wendling, B. A. Determinação de estoques totais de carbono e nitrogênio e suas frações em sistemas agrícolas implantados em Argissolo Vermelho-Amarelo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 2091-2100, 2008.
- Reicosky, D. C.; Kemper, W. D.; Langdale, G. W.; Douglas, C. L.; Rasmunssen, P. E. Soil organic matter changes resulting from tillage and biomass production. **Journal of Soil and Water Conservation**, v. 50, p. 253-261, 1995.
- Rheinheimer, D. dos. S.; Campos, C.; Giacomini, S. J.; Conceição, P. C.; Bortoluzzi, E. C. Comparação de métodos de determinação de carbono orgânico total do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa-MG, v. 32, p. 435-440, 2008.
- Saidelles, F. L. F.; Caldeira, M. V. W.; Schumacher, M. V.; Balbinot, R. Uso de equações para estimar carbono orgânico em plantações de *Acacia mearnsii* de Wild. no Rio Grande do Sul – Brasil. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.33, n.5, p. 907-915, 2009.
- Salton, J.C.; Mielniczuk, J.; Bayer, C.; Boeni, M.; Conceição, P. C.; Fabricio, A. C.; Macedo, C. M. M. Broch, D. L. Agregação e estabilidade de agregados do solo em sistemas agropecuários em Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 11-21, 2008.
- Sampaio, T. F.; Fernandes, D. M.; Guerrini, I. A.; Boagiani, J. C.; Backes, C. Comparação entre os métodos para determinação de carbono orgânico em amostras de solo mensuradas por volume ou massa. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, n. 2, p 517-523, 2012.
- Santos, G.A.; Camargo, F.A.O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo**. Ed. Porto Alegre: Genesis, 1999. 491p.

- Schnitzer, M. Organic matter characterization. In: PAGE, A. L., ed. **Methods of soil analysis**. Chemical and mineralogical properties. 2.ed. Madison, ASA/SSSA, 1982. p. 581-624.
- Schnitzer, M.; Schulten, H.R. Analysis of organic matter in soil extracts and whole soils by pyrolysis-mass spectrometry. **Advances in Agronomy**, v. 55, p. 167-217, 1995.
- Schulten, H.R. Pyrolysis field ionization and field desorption mass spectrometry of biomacromolecules, microorganisms and tissue material. In: JONES, C.E.R.; CRAMERS, C.A. ed. **Analytical pyrolysis**. Amsterdam, Elsevier, 1977. p.17-28.
- Schulten, H.R.; Schnitzer, M. Chemical model structures for soil organic matter and soils. **Soil Science**, v. 162, p.115-130, 1997.
- Segnini, A. **Estrutura e estabilidade da matéria orgânica em áreas com potencial de sequestro de carbono no solo**. São Paulo: Instituto de Química de São Carlos, 2007. 131 p. Tese de Doutorado.
- Senesi, N.; Loffredo, E. The Chemistry of Soil Organic Matter. In: SPARKS, D. L. (Ed.). **Soil physical chemistry**. Boca Raton: CRC, 1999. Cap. 6, p. 242-370.
- Senesi, N.; Miano, T.M.; Brunetti, G. Methods and related problems for sampling soil and sediment organic matter. Extraction, fractionation and purification of humic substances. **Quim. Anal.**, v. 13, p.26-33, 1994.
- Silva, A. C.; Torrado, P. V.; Junior, J. de S. A. Métodos de quantificação da matéria orgânica do solo. **R. Un. Alfenas**, Alfenas, v.5, p.21-26, 1999.
- Silva, C.A.; Vale, F.R.; Mendonça, E.S.; Lima, J. M.; Carvalho, J. G. **Dinâmica da matéria orgânica e da mineralização do nitrogênio e enxofre em solos sob vegetação natural e cultivados com calcário e fósforo**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1997, 70 p. Tese de Doutorado.
- Silva, J.E.; Resck, D.V.S. **Matéria orgânica do solo**. In: VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. ed. *Biologia dos solos dos cerrados*. Planaltina, EMBRAPA-CPAC, 1997. p. 467-524.
- Skjemstad, J.O.; Taylor, J.A.; Blows, G. **The construction of a high energy UV photo-oxidiser for the investigation of carbon distribution in soil microaggregates**. CSIRO- Div.Soils. 1995, n°24, 6p.
- Stevenson, F. J. **Cycles of soil**. New York: John Wiley, 1984. 427 p.
- Stevenson, F.J. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**. 2. ed. John Willey, New York, USA. 1994, 496pp.
- Swift, R. S. Organic matter characterization. In: Sparks, D. L.; Page, A. L.; Helmke, P. A.; Loeppert, R. H.; Soltanpour, P. N.; Tabatabai, M. A.; Johnston, C. T.; Sumner, M. E. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: Soil Science Society of America; American Society of Agronomy, 1996. p. 1011-1020.
- Tan, K.H.; Lobartini, J.C.; Himmelsbach, D.S.; Asmussen, L.E. Composition of humic acids extracted under air and nitrogen atmosphere. **Comm. Soil Sci. Plant Anal.**, v.22, p.861-877, 1991.
- Tisdall, J.M.; Oades, J.M. Organic matter and water-stable aggregates in sils. **Journal of Soil Science**, London, v.33, p. 141-163, 1982.
- Toscano, H. **Determining the Fraction of Organic Carbon Guidance – IDEM (Indiana Department of Environmental Management)**. 2007. <http://lists.in.gov/pipermail/idem-risc/2007-October/000017.html>. 04 nov. 2012.
- USDA-NRCS. **Soil Quality Institute**. 2011. <http://soils.usda.gov/sqi/>. 08 nov. 2012.
- Walkley, A.; Black, I.A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Science**, v.37, p.29-38, 1934.
- Wendling, B.; Jucksch, I.; Mendonça, E. de S.; Neves, J.C.L. Carbono orgânico e estabilidade de agregados de um Latossolo Vermelho sob diferentes manejos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p.487-494, 2005.
- Wilson, M.A. **Analysis of functional groups in soil by nuclear magnetic resonance spectroscopy**. CSIRO, 1996. p.601-645.