

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

***“ESTUDOS FÍSICO-QUÍMICOS DO EFLUENTE PRODUZIDO POR  
FOSSA SÉPTICA BIODIGESTORA E O IMPACTO DO SEU USO NO  
SOLO”***

Adriana Soares Faustino\*

Dissertação apresentada ao Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração: Química Analítica.

Orientadora: Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira

Co-orientador: Dr. Wilson Tadeu Lopes da Silva

\* Bolsista CNPq

São Carlos  
2007

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

F268ef

Faustino, Adriana Soares.

Estudos físico-químicos do efluente produzido por fossa séptica biodigestora e o impacto do seu uso no solo / Adriana Soares Faustino. -- São Carlos : UFSCar, 2007. 121 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2007.

1. Efluente. 2. Análise espectral. 3. Matéria orgânica. 4. Ácido húmico. I. Título.

CDD: 543 (20<sup>a</sup>)

*A necessidade ensina a lebre a correr.*

*(Provérbio gaúcho)*

*À Deus por iluminar meus caminhos,*

*Aos meus amados pais Antônio e Margarida, pilares da minha vida; aos meus queridos irmãos Ademir e Alexandre pelo apoio e incentivo.*

*Dedico*

## **AGRADECIMENTOS**

À Dra. Ana Rita de Araújo Nogueira pela orientação, sugestões e auxílios na realização deste trabalho.

Ao Dr. Wilson Tadeu Lopes da Silva pela orientação, amizade e confiança durante a realização deste trabalho.

Ao Dr. Antônio Pereira Novaes pelo atencioso acompanhamento durante o trabalho.

Ao Dr. Marcelo Luiz Simões, Dr. Joaquim Araújo de Nóbrega, Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori, Dr. Ladislau Martin-Neto pelas sugestões e auxílio na realização deste trabalho.

Ao Renê e Godoy, pela valiosa e pronta ajuda sempre que necessitei.

À Dra. Maria Olímpia de Oliveira Rezende e ao pessoal do laboratório de Química Ambiental do IQSC-USP pela contribuição nas medidas de carbono.

À Lílian, pela valiosa ajuda no laboratório.

Ao Marcos e Gilberto Batista, da Embrapa Pecuária Sudeste, pelas medidas de macro e micronutrientes no solo.

À Cristina, da Embrapa Pecuária Sudeste, pelo auxílio no laboratório.

Aos Srs. Gilberto Morsseli e Paulo, responsáveis pelo Sítio Aparecida e pela Fazenda Morro Verde, respectivamente, onde foram coletadas as amostras da Fossa Séptica Biodigestora.

À Sobloco Construtora S.A., em especial ao Engenheiro Agrônomo Lourenço Chermam Salles da Fazenda Santa Cândida, onde foram coletadas as amostras de solo.

Às secretárias do Programa de Pós-graduação da UFSCar, Cristina, Aryane e Luciane, pela atenção, simpatia e ajuda.

Aos meus velhos amigos Daniela D., Eduardo, Marcus, Nilva, Sheila, Shirlei, Tânia, Tereza e Thatiane, que mesmo distantes, nunca deixaram de estar presentes. Obrigada pelo carinho.

Aos novos, Kelly, Eveline, Ursula, Fernanda, Lílian, Daniel e André pela paciência, companheirismo, boas conversas e risadas, que tornaram mais agradável minha estadia em São Carlos, muito obrigada.

Aos colegas e amigos de trabalho Aline, Ana Flávia, André, Bruno, Cléber, Danielle, Edilene, Fernanda, Fernando, Kelly, Larissa, Lilian, Lucimar, Robson e Ursula.

Aos colegas e amigos de trabalho do GAIA, Eveline, Carla, Silvéria, Rodolfo, Edivan, Mário, Fernanda, Wladiana, Alexandra, Daniela pelas sugestões e auxílio no laboratório.

À Embrapa Instrumentação Agropecuária e Embrapa Pecuária Sudeste por possibilitar a realização deste trabalho.

À Universidade Federal de São Carlos, em especial ao Departamento de Química.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

Ao Ministério do Desenvolvimento Agrário pelo apoio financeiro.

À minha querida família: *Pai, Mãe, Mimi e Sandro* pelo amor.

Ao MUR onde conheci pessoas maravilhosas, verdadeiros anjos de Deus na minha vida, que me ensinaram a SONHAR.

À *JESUS*, amigo de todas as horas, fonte de inspiração e vida, por não me deixar desistir duas vezes no mesmo dia, meu eterno agradecimento e espera.

E a todos que de alguma forma contribuíram significativamente para a realização deste trabalho, obrigada.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>I</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>IV</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....</b>	<b>V</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>VI</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>VII</b>
<b>CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO 2 – REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1 – TRATAMENTO DE ESGOTO .....	3
2.1.1 – <i>Tratamento de Esgoto na Área Rural</i> .....	4
2.2 – <i>Processos Biológicos</i> .....	5
2.2.1 – <i>Digestão Anaeróbia</i> .....	6
2.3 – FOSSA SÉPTICA BIODIGESTORA .....	7
2.4 – PROPRIEDADES QUÍMICAS DO SOLO.....	9
2.5 – MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO .....	11
2.5.1 – <i>Substâncias Húmicas</i> .....	12
2.5.1.1 – <i>Modelo Macromolecular para as Substâncias Húmicas</i> .....	12
2.5.1.2 – <i>Modelo Supramolecular para as Substâncias Húmicas</i> .....	14
2.6 – DISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES NO SOLO.....	15
2.7 – DISPOSIÇÃO DE RESÍDUOS NO SOLO.....	16
2.8 – EFEITO DA ADIÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS NAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E FÍSICAS DO SOLO .....	17
2.9 – MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS .....	18
2.9.1 – <i>Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i> .....	18
2.9.2. – <i>Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)</i> .....	20
2.9.3 – <i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</i> .....	22
2.9.4 – <i>Espectroscopia de Fluorescência em Solução</i> .....	26
2.9.4.1 – <i>Modalidade de Emissão</i> .....	28
2.9.4.2 – <i>Modalidade Sincronizada</i> .....	30
2.9.5 – <i>Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (FIL)</i> .....	31
2.10 – ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓTICA COM PLASMA ACOPLADO INDUTIVAMENTE (ICP OES) .....	33
2.11 – COMPOSIÇÃO ELEMENTAR.....	34
<b>CAPÍTULO 3 – OBJETIVOS .....</b>	<b>36</b>
<b>CAPÍTULO 4 – MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>37</b>
4.1 – PARTE 1: AMOSTRAS DE EFLUENTE .....	37
4.1.1 – <i>Amostragem e Preparo do Material da Fossa Séptica Biodigestora</i> .....	37
4.1.2 – <i>Análises do Efluente</i> .....	40
4.1.2.1 – <i>Parâmetros Físico-químicos</i> .....	40
4.1.2.2 – <i>Condutividade e pH</i> .....	40

4.1.2.3 – Análise Elementar e Teor de Cinzas.....	40
4.1.2.4 – Determinação de Macro e Micronutrientes no Efluente por Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES) .....	41
4.1.2.5 – Análises Espectroscópicas.....	41
<b>4.1.2.5.1 – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</b> .....	41
<b>4.1.2.5.2 – Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)</b> .....	41
<b>4.1.2.5.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear</b> .....	42
4.2 – PARTE 2: AMOSTRAS DE SOLO .....	43
4.2.1 – <i>Amostragem e Preparo de Solo</i> .....	43
4.2.2 – <i>Análises do Solo</i> .....	44
4.2.2.1 – Condutividade e pH do Extrato do Solo.....	44
4.2.2.2 – Análise de Macro e Micronutrientes Disponíveis no Solo.....	44
<b>4.2.2.3.1 – Extração de Macronutrientes (Ca, Mg, K, P) com Mistura de Resinas Trocadora de Íons</b> .....	44
<b>4.2.2.3.2 – Extração de Micronutrientes (Cu, Fe, Mn, Zn) Usando Solução de DTPA em pH 7,3</b> .....	45
4.2.2.3 – Determinação do Carbono Orgânico Total.....	46
4.2.2.4 – Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (FIL).....	46
4.3 – PARTE 3: AMOSTRAS DE ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDOS DO SOLO .....	47
4.3.1 – <i>Extração e Fracionamento de Ácidos Húmicos do Solo</i> .....	47
4.3.2 – <i>Análises dos Ácidos Húmicos</i> .....	48
4.3.2.1 – Análise Elementar e Teor de Cinzas.....	48
4.3.2.2 – Análises Espectroscópicas.....	48
<b>4.3.2.2.1 – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</b> .....	48
<b>4.3.2.2.2 – Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)</b> .....	48
<b>4.3.2.2.3 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</b> .....	49
<b>4.3.2.2.4 – Espectroscopia de Fluorescência em Solução</b> .....	49
<b>CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>51</b>
5.1 – CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE .....	51
5.1.1 – <i>Parâmetros Físico-químicos</i> .....	51
5.1.2 – <i>Análise Elementar</i> .....	53
5.1.3 – <i>Macro e Micronutrientes do Efluente</i> .....	55
5.1.4 – <i>Análises Espectroscópicas</i> .....	56
5.1.4.1 – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....	56
5.1.4.2 – Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) .....	60
5.1.4.3 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	62
5.2 – IMPACTO CAUSADO PELA ADIÇÃO DE EFLUENTE NO SOLO.....	73
5.2.1 – <i>Condutividade e pH</i> .....	73
5.2.2 – <i>Macro e Micronutrientes Disponíveis no Solo</i> .....	74
5.2.3 – <i>Carbono Orgânico Total (COT)</i> .....	75
5.2.3 – <i>Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (FIL)</i> .....	76
5.3 – MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO (ÁCIDOS HÚMICOS).....	77
5.3.1 – <i>Análise Elementar</i> .....	77
5.3.2 – <i>Análises Espectroscópicas</i> .....	79
5.3.2.1 – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....	79
5.3.2.2 – Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) .....	81
5.3.2.3 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	84
5.3.2.4 – Espectroscopia de Fluorescência em Solução .....	87



5.3.2.4.1 – Modalidade de Emissão.....	87
5.3.2.4.2 – Modalidade Sincronizada .....	92
<b>CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES .....</b>	<b>95</b>
<b>CAPÍTULO 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>97</b>

## **LISTA DE FIGURAS**

FIGURA 2.1 – A. Fossa rudimentar mostrada em um contexto ambiental. B. Esquema de uma fossa rudimentar	4
FIGURA 2.2 – Esquema da via de degradação anaeróbica da matéria orgânica .....	6
FIGURA 2.3 – Esquema do sistema da fossa séptica biodigestora (NOVAES <i>et al.</i> , 2002).....	8
FIGURA 2.4 – Modelo de estrutura para AH proposto por SCHULTEN e SCHNITZER (1993).....	13
FIGURA 2.5 – Modelo tridimensional de AH proposto por SCHULTEN e SCHNITZER (1997). Carbono : azul; Oxigênio: vermelho; Nitrogênio: preto e Hidrogênio: branco. As letras A, B e C indicam os espaços vazios presentes, provavelmente, na estrutura das SH.....	14
FIGURA 2.6 – Esquema de estrutura das SH proposto por SIMPSON <i>et al.</i> (2002), unidades vermelhas: cátions metálicos; unidades pretas: polissacarídeos; unidades azuis: polipeptídios; unidades verdes: cadeias alifáticas e unidades marrons: fragmentos aromáticos.....	15
FIGURA 2.7 – A. Esquema simplificado do fenômeno de RPE, mostrando o efeito Zeeman para um sistema com $I = \frac{1}{2}$ ; B. característica do espectro de absorção; e C. a primeira derivada do espectro de absorção, a qual é normalmente detectada nos espectrômetros de RPE, indicando os parâmetros: fator g, largura de linha do sinal ( $\Delta H$ ) e intensidade do sinal (I).....	20
FIGURA 2.8 – Esquema da estabilização do radical livre do tipo semiquinona (SENESI e SCHNITZER, 1977) .....	21
FIGURA 2.9 – Espectro típico de RPE de ácido húmico mostrando o sinal do radical livre do tipo semiquinona .....	22
FIGURA 2.10 – Dois níveis de energia dos hidrogênios, como descritos pela mecânica quântica, em um campo magnético de magnitude $B_0$ . $N$ é a população. A direção do campo magnético ( $\uparrow\uparrow\uparrow$ ) está para cima, paralelo à ordenada, e $B_0$ aumenta para a direita.....	23
FIGURA 2.11 – Na rotação no ângulo mágico, a amostra gira fazendo um ângulo de $54,74^\circ$ com a direção do campo magnético ( $B_0$ ) aplicado. O movimento rápido sobre este ângulo promedia em zero as interações dipolo-dipolo e as anisotropias do deslocamento químico (ATKINS, P. e PAULA, J. 2004).....	25
FIGURA 2.12 – Espectro RMN de $^{13}\text{C}$ típico de AH mostrando os grupos funcionais associados às bandas correspondentes (SKJEMSTAD <i>et al.</i> , 1998).....	26
FIGURA 2.13 – Níveis vibracionais e eletrônicos de uma molécula orgânica, e caminhos de decaimento radiativos e não radiativos (NARIMOTO, 2006).....	27
FIGURA 2.14 – Espectro de emissão de fluorescência de AH extraídos de solo tratado com lodo de esgoto, obtido segundo metodologia de ZSOLNAY <i>et al.</i> , (1999). Comprimento de onda de excitação $\lambda_{\text{exc}} = 240$ nm (NARIMOTO, 2006) .....	29
FIGURA 2.15 – Espectro de emissão de fluorescência de AH extraídos de solo tratado com lodo de esgoto, obtido segundo metodologia de MILORI <i>et al.</i> , (2002). Comprimento de onda de excitação $\lambda_{\text{exc}} = 465$ nm (NARIMOTO, 2006) .....	30
FIGURA 2.16 – Espectro de varredura sincronizada de AH extraídos de solo tratado com lodo de esgoto, obtido segundo metodologia de KALBITZ <i>et al.</i> , (2000). $\Delta\lambda = 55$ nm (NARIMOTO, 2006) .....	31
FIGURA 2.17 – Montagem experimental para realização de análises de fluorescência induzida por laser (NARIMOTO, 2006) .....	32
FIGURA 2.18 – A. Pastilhas de solo usadas para obtenção dos espectros. B. laser incidindo sobre uma pastilha de solo.....	33

FIGURA 4.1 – Sistema da fossa séptica biodigestora instalado no Sítio Aparecida – São Carlos/SP .....	37
FIGURA 4.2 – Sistema da fossa séptica biodigestora instalado na Fazenda Morro Verde – Itirapina/SP .....	38
FIGURA 4.3 – Sistema da fossa séptica biodigestora instalado na Fazenda Santa Cândida – São Carlos/SP.....	38
FIGURA 5.1 – Espectros de FTIR do material liofilizado das três caixas do sistema da fossa séptica biodigestora. O – inoculado com esterco Ovino; Os números iniciais 1, 2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema .....	57
FIGURA 5.2 – Espectros de FTIR do material liofilizado das três caixas do sistema da fossa séptica biodigestora. B – inoculado com esterco bovino; Os números iniciais 1,2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema .....	58
FIGURA 5.3 – Concentração de radicais livres do tipo semiquinona em $\text{spin g}^{-1}\text{C}^{-1}$ obtida para as amostras do material liofilizado das três caixas do sistema da fossa séptica biodigestora. O – inoculado com esterco Ovino; B – inoculado com esterco Bovino; 2FSC3 - Fazenda Santa Cândida. Os números iniciais 1, 2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006).....	62
FIGURA 5.4 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de amostras de efluente liofilizado. O – inoculado com esterco Ovino; Os números iniciais 1, 2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema.....	65
FIGURA 5.5 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de amostras de lodo liofilizado. L2O – lodo do sistema inoculado com esterco Ovino coletado em 07/2006; Os números seguintes à letra referem-se às caixas 1, 2 e 3 do sistema .....	66
FIGURA 5.6 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de amostras de efluente liofilizado. B – inoculado com esterco Bovino; Os números iniciais 1, 2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema.....	67
FIGURA 5.7 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de amostras de lodo liofilizado. L2B – lodo do sistema inoculado com esterco Bovino coletado em 07/2006; Os números referem-se às caixas 1, 2 e 3 do sistema .....	68
FIGURA 5.8 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de amostras de efluente (A) e lodo (B). 2FSC3 – Fazenda Santa Cândida, caixa 3, coleta 2; L2FSC3 – lodo da caixa 3 do sistema da Fazenda Santa Cândida coletado em 07/2006 .....	68
FIGURA 5.9 – Porcentagem dos grupos funcionais obtidas através dos espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ com VACP/MAS das amostras de efluente de cada caixa e nas três coletas. O – inoculado co esterco ovino; B – inoculado com esterco Bovino; Os números iniciais 1, 2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema .....	69
FIGURA 5.10 – Média da porcentagem dos grupos funcionais obtidas através dos espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ com VACP/MAS das amostras de efluente em cada coleta. O – sistema inoculado com esterco ovino; B – sistema inoculado com esterco Bovino; Os números iniciais 1, 2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) .....	70
FIGURA 5.11 – Porcentagem dos grupos funcionais obtidas através dos espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ com VACP/MAS das amostras de lodo coletado em 07/2006. L2O – lodo do sistema inoculado com esterco ovino; L2B – lodo do sistema inoculado com esterco Bovino; Os números seguintes à letra referem-se às caixas 1, 2 e 3 do sistema.....	71
FIGURA 5.12 – Porcentagem dos grupos funcionais obtidas através dos espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ com VACP/MAS das amostras de efluente e lodo. 2FSC3 – Fazenda Santa Cândida, caixa 3, coleta 2; L2FSC3 – lodo da caixa 3 do sistema da Fazenda Santa Cândida coletado em 07/2006 .....	71
FIGURA 5.12 – Concentração de macro e micronutrientes disponíveis no solo. A e B – macronutrientes; C e D – micronutrientes; CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fósforo e potássio; M: solo de mata. As numerações referem-se às profundidades amostradas – 1: 0-10 cm; 2: 10-20 cm e 4: 20-40 cm .....	74

FIGURA 5.13 – Porcentagem de carbono total em amostras de solo. CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fósforo e potássio; M: solo de mata .....	75
FIGURA 5.14 – Índice de humificação ( $H_{FIL}$ ) obtido através da fluorescência induzida por laser de amostras de solo dividido pela porcentagem de carbono orgânico das mesmas. CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fósforo e potássio; M: solo de mata .....	77
FIGURA 5.15 – Espectros de FTIR de AH extraídos de amostras de solos adubados com efluente (CE), solo com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) e solo de mata.....	80
FIGURA 5.16 – Concentração de radicais livres do tipo semiquinona em $spin\ g^{-1}C^{-1}$ obtida para as amostras de AH extraídos de solos adubados com efluente (CE), com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) e de solo de mata (M).....	83
FIGURA 5.17 – Espectros de RMN de $^{13}C$ dos AH extraídos do solo. CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fósforo e potássio; M: solo de mata. As numerações referem-se às profundidades amostradas – 1: 0-10 cm; 2: 10-20 cm e 4: 20-40 cm.....	84
FIGURA 5.18 – Porcentagem da área total das bandas nos espectros de RMN de $^{13}C$ com VACP/MAS das amostras de AH. CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fósforo e potássio; M: solo de mata. As numerações referem-se às profundidades amostradas – 1: 0-10 cm; 2: 10-20 cm e 4: 20-40 cm .....	86
FIGURA 5.19 – Espectros de emissão de fluorescência de AH extraídos do solo, medidos com comprimento de onda de excitação $\lambda_{ex} = 465\ nm$ . CE – solo adubado com efluente; NPK – solo com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio; M – solo de mata .....	88
FIGURA 5.20 – Índice de humificação, $A_{465}$ , obtido segundo metodologia de MILORI <i>et al.</i> , (2002) para os AH extraídos do solo. CE – solo adubado com efluente; NPK – solo com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio; M – solo de mata .....	89
FIGURA 5.21 – Espectros de emissão de fluorescência de AH extraídos do solo, medidos com comprimento de onda de excitação $\lambda_{ex} = 240\ nm$ . CE – solo adubado com efluente; NPK – solo com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio; M – solo de mata .....	90
FIGURA 5.22 – Índice de humificação, $A_4/A_1$ , obtido segundo metodologia de ZSOLNAY <i>et al.</i> , (1999) para os AH extraídos do solo. CE – solo adubado com efluente; NPK – solo com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio; M – solo de mata .....	91
FIGURA 5.23 – Espectros de varredura sincronizada de AH extraídos do solo, medidos com diferença de comprimento de onda de emissão e excitação $\Delta\lambda = 55\ nm$ . CE – solo adubado com efluente; NPK – solo com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio; M – solo de mata.....	93
FIGURA 5.24 – Índice de humificação, $I_{456}/I_{374}$ , obtido segundo metodologia de KALBITZ <i>et al.</i> , (2000) para os AH extraídos do solo. CE – solo adubado com efluente; NPK – solo com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio; M – solo de mata .....	94
FIGURA 5.25 – Correlação entre as metodologias de fluorescência propostas para avaliar o índice de humificação das substâncias húmicas: A. MILORI e ZSOLNAY; B. ZSOLNAY e KALBITZ e C. MILORI e KALBITZ .....	94

## **LISTA DE TABELAS**

TABELA 2.1 – Bactérias presentes no rumem bovino (RUIZ, 1992).....	9
TABELA 2.2 – Bandas no infravermelho do ácido húmico descritas por NIEMEYER <i>et al.</i> , (1992) .....	19
TABELA 4.1 – Nomenclatura adotada para as amostras de efluente.....	39
TABELA 4.2 – Nomenclatura adotada para as amostras de lodo de esgoto .....	40
TABELA 4.3 – Nomenclatura adotada para as amostras de solo.....	43
TABELA 5.1 – Parâmetros físico-químicos das amostras de efluente da caixa 3* .....	51
TABELA 5.2 – Composição elementar e teor de cinzas em amostras de efluente liofilizado* .....	53
TABELA 5.3 – Razões atômicas C/N e H/C das amostras de efluente liofilizado* .....	54
TABELA 5.4 – Composição mineral das amostras de efluente liofilizado da caixa 3* .....	55
TABELA 5.5 – Concentração de radicais livres do tipo semiquinona nas amostras de efluente liofilizado* .....	61
TABELA 5.6 – Porcentagem dos grupos aromáticos e alifáticos nas amostras de efluente e lodo obtidas através dos espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ * .....	72
TABELA 5.7 – Valores de pH e condutividade para as amostras de solo* .....	73
TABELA 5.8 – Composição elementar (carbono, nitrogênio, hidrogênio, enxofre e oxigênio) e teor de cinzas em amostras de AH extraídos do solo*.....	77
TABELA 5.9 – Razões atômica C/N e H/C das amostras de amostras de AH extraídos do solo .....	78
TABELA 5.10 – Concentração de radicais livres do tipo semiquinona e largura de linha das amostras de AH extraídos do solo CE, NPK e M, fornecidas por RPE* .....	82
TABELA 5.11 – Porcentagem dos grupos aromáticos e alifáticos nas amostras de AH obtidas através dos espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ .....	87

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ACF	Área do Espectro de Emissão de FIL
AF	Ácidos Fúlvicos
AH	Ácidos Húmicos
CEPAL	Comissão Econômica para a América Latina e o Caribe
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COT	Carbono Orgânico Total
CP	Polarização Cruzada
CTC	Capacidade de Troca Catiônica
CSA	Anisotropia do Deslocamento Químico
Da	Daltons
DBO	Demanda bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
FIA	Análise por Injeção em Fluxo
FIL	Fluorescência Induzida por Laser
FTIR	Infravermelho com Transformada de Fourier
HU	Humina
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP OES	Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Acoplado Indutivamente
IHSS	Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas
MAS	Rotação Segundo o Ângulo Mágico
MO	Matéria Orgânica
MOS	Matéria Orgânica do Solo
OD	Oxigênio Dissolvido
ONU	Organização das Nações Unidas
PNUD	Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento
rf	Radiofrequências
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RPE	Ressonância Paramagnética Eletrônica
SH	Substâncias Húmicas
SSF	Sólidos Suspensos Fixos
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
TMS	Tetrametilsilano
TFSA	Terra Fina Seca ao Ar
VA	Amplitude Variável

## **RESUMO**

A geração de efluente a partir do tratamento de esgoto vem se incrementando, e sua disposição final representa uma questão a ser resolvida. Assim uma das alternativas encontradas é sua utilização na agricultura como adubo orgânico, podendo substituir parte da adubação mineral. Essa prática, além de benéfica do ponto de vista da reciclagem de nutrientes, representa uma economia de água no setor agrícola, que é cerca de 70% do consumo total no Brasil. Este trabalho visou conhecer as características do efluente produzido pela Fossa Séptica Biodigestora, um sistema anaeróbio de tratamento de esgoto desenvolvido pela Embrapa Instrumentação Agropecuária, bem como de avaliar o impacto da aplicação do efluente no solo. Foram feitas três coletas do material das caixas das diferentes câmaras biodigestoras, em sistemas inoculados com esterco ovino e bovino. Este material foi analisado em seu estado bruto (líquido) em algumas análises para a determinação de parâmetros como condutividade, pH, DBO, DQO e teores de sólidos. Para as demais análises utilizou-se o sólido obtido após liofilização do líquido. As concentrações de macro e micronutrientes presentes no efluente foram estimadas usando a técnica de ICP OES. A matéria orgânica presente no efluente foi caracterizada segundo as espectroscopias de FTIR, RMN de  $^{13}\text{C}$  e RPE além da análise elementar. O efluente produzido apresentou caráter alcalino e concentrações significativas de sais nos dois sistemas analisados. Também foram observadas quantidades elevadas de  $\text{N-NH}_4^+$  e baixas de  $\text{N-NO}_3^-$ , típico de sistemas anaeróbios. A análise elementar do sólido, obtido após liofilização do líquido, mostrou que não há uma tendência na variação da composição elementar (C, H, N) ao longo do processo de biodigestão, os quais foram semelhantes tanto para o sistema inoculado com esterco ovino quanto bovino, assim como nas diferentes coletas. O efluente apresentou quantidade significativa de nutrientes em sua composição mineral. Através da caracterização espectroscópica da matéria orgânica do material liofilizado foi possível notar que não ocorreram muitas variações nos grupamento funcionais observados através dos espectros de FTIR, no decorrer do processo de biodigestão. A RMN de  $^{13}\text{C}$  possibilitou informações à cerca dos grupamentos aromáticos e alifáticos das amostras, mostrando que o efluente possui caráter bastante alifático. O efluente foi aplicado no solo durante três anos, sendo este solo classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo fase arenosa utilizado no cultivo de goiaba. Foram comparados os efeitos da adubação pelo efluente com adubação mineral do tipo NPK. Também foi analisado o solo de mata da região. Foram feitas análises de pH, condutividade, macro e micronutrientes, COT e FIL utilizando o solo intacto. Fez-se a extração dos AH dos solos. Os AH foram caracterizados segundo a composição elementar, FTIR, RMN de  $^{13}\text{C}$ , RPE e Fluorescência em solução. A adição do efluente proporcionou um aumento no pH do solo, observado principalmente na camada superficial. Foi observado um incremento nas concentrações de nutrientes no solo sob uso do efluente em comparação com o solo com adubação mineral NPK. Alterações na fração húmica do solo com efluente em relação aos solos com adubação NPK e de mata foram observadas. Através das técnicas de RMN de  $^{13}\text{C}$  e RPE foi possível notar diminuição na aromaticidade e no grau de humificação da matéria orgânica, respectivamente, devido à incorporação da matéria orgânica do efluente, de caráter bastante alifático. Nas técnicas de FIL e Fluorescência em solução, o grau de humificação para as amostras do solo com efluente foram muito similares à do solo com adubação mineral, não sendo observados, através destas técnicas, efeitos da adição do efluente. O efluente também forneceu macro e micronutrientes em quantidades significativas ao solo, não sendo observado efeito de salinização nas profundidades analisadas. Os resultados indicam o efeito benéfico do uso do efluente tratado pela Fossa Séptica Biodigestora na fertilidade do solo.

## **ABSTRACT**

The generation of effluent from the sewage treatment is daily increasing then its final disposition represents a mandatory question to be answered. An alternative is its agricultural utilization such as organic fertilizer as a partial substitute of mineral fertilizer. This practice, beyond inherent benefits due to nutrients recycling promotes agricultural water reuse, which is responsible of around 70% of the total water consumption in Brazil. It was developed a research following the stages of the domestic sewage treatment in the anaerobic system called "Septic Cesspool Biodigester", developed by Embrapa Agricultural Instrumentation, and also the impact observed in the soil after the application of the treated effluent. Three samplings were done in the different biodigestion chambers which were inoculated with either ovine or bovine manure. These effluents were analyzed according to its original state (liquid), regarding to the determination of some parameters such as conductivity, pH, OBD, OCD and solids content. Other analyses of the effluent were done in the solid obtained after freeze drying of the raw treated effluent. There were determined the mineral composition of the effluent, using the ICP-OES technique. The effluent organic matter was characterized by FTIR,  $^{13}\text{C}$ -NMR and EPR spectroscopies and, elemental analysis. The effluent presented alkaline character and significant salts concentration for both systems, high quantity of  $\text{N-NH}_4^+$  and low content of  $\text{N-NO}_3^-$ , characteristic of anaerobic systems. The elemental analysis of the solid obtained after the liquid freeze drying, showed that there was not a variation tendency in the percentages of C, H and N during biodigestion process. These values were similar to the either ovine or bovine inoculated systems, and to the different samplings. The effluent presented a quantity of macro e micro nutrients. Through the spectroscopic characterization of the organic matter present in the freeze dried material, it was possible to observe that there were not noticeable variations in the FTIR spectra in the course of the process monitoring. The  $^{13}\text{C}$  NMR supplied information about aromatic and aliphatic groups, showing that the effluent presented a high aliphatic content. The soil, classified as Yellow-redish Lattosol with sandy phase, was submitted to the effluent application during three years and was used for the "goiaba" orchard. Thus, there were compared the effects effluent in comparison of the NPK mineral fertilization as well as the soil of the native forest at the side of the orchard. Determinations of pH, conductivity, macro and micro nutrients content, TOC and LIF were done for the intact soil. Soil HA were extracted and characterized according to their elemental composition, FTIR,  $^{13}\text{C}$  NMR, EPR and solution fluorescence. The application of the treated effluent produced an increment in the pH value, mainly in the superficial layer. There was observed nutrients increment in soil submitted to the effluent application when compared with the NPK fertilized soil. Alterations in the humic fraction of the analyzed soil (after effluent application) were observed when compared with the forest and NPK samples. Results obtained by  $^{13}\text{C}$  NMR and EPR detected a general diminution of the aromaticity and the humification degree of organic matter, as a consequence of the aliphatic character of the organic matter present in the effluent. The humification degree of HA extracted from the applied effluent soil, determined by LIF and solution, were very similar to the ones observed in the mineral fertilized soil. The effluent supplied macro e micro nutrients in significant quantities to the soil, and it was not observed salinization effect in the analyzed depths. These results show the benefic effect of the utilization of Septic Cesspool Biodigester effluent regarding to the soil fertility.



---

## **CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO**

O Brasil regrediu na tarefa de reduzir pela metade a proporção da população rural sem acesso a saneamento adequado. Quase dois terços dos brasileiros que vivem fora de áreas urbanas ainda não contam com serviço básico. Isso significa que mais de 20 milhões de pessoas – o dobro da população de uma cidade como São Paulo – correm maiores riscos de contrair doenças infecciosas ou parasitárias, que são adquiridas principalmente pelo contato com o esgoto não tratado e / ou através da água do lençol freático, contaminada pelo uso de fossas rudimentares (fossa “negra”, poço, buraco). Em toda América Latina e Caribe, o Brasil é o quarto pior em saneamento rural. Os dados são do estudo “Objetivos de Desenvolvimento do Milênio – Uma visão a partir da América Latina e do Caribe”, divulgado em 2005 pela Comissão Econômica para a América Latina e o Caribe (CEPAL). Trata-se do mais amplo levantamento sobre o tema já feito na região, que envolveu a participação de doze agências da Organização das Nações Unidas (ONU), incluindo o Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD) (PNUD, 2005).

O relatório mostra que a proporção da população rural brasileira com acesso a saneamento adequado caiu de 37 % em 1990 para 35 % em 2002. O desempenho foi o pior da América Latina e fez com que o Brasil retrocedesse 6,3 % em relação ao que deveria alcançar para reduzir pela metade até o ano de 2015 a população rural carente de esgotamento sanitário, segundo os Objetivos do Desenvolvimento do Milênio, propostos pela ONU.

Um sistema desenvolvido pela Embrapa Instrumentação Agropecuária apresenta-se como uma forma de viabilizar o tratamento de esgoto doméstico em áreas rurais, sendo um sistema simples e de baixo custo para a população rural. Denominado de Fossa Séptica Biodigestora, o sistema promove o tratamento anaeróbico de fezes e urina através de duas câmaras de fermentação compostas por caixas d’água de 1000 L interligadas por sistema de sifão e uma caixa coletora de efluentes. O inoculante que transforma este material é o esterco bovino ou ovino recém coletado, cuja microflora tem capacidade de digerir qualquer tipo de alimento contido nestes dejetos, transformando o efluente obtido isento de germes patogênicos (salmonellas, shigellas e outros) e também de odores desagradáveis.

Devido a sua capacidade fertilizante, o efluente vem sendo indicado no preparo de solos e na adubação de pomares, apresentando efeito comparável ao da adubação química inorgânica à base de nitrogênio, fósforo e potássio, a um custo praticamente zero. O retorno ao solo desse líquido deve ser priorizado, pois transforma um resíduo de disposição

problemática em insumo de grande valor para a agricultura, já que o efluente fornece macronutrientes e micronutrientes às plantas, atua como condicionador do solo e dessa forma contribui para uma agricultura sustentável.

Para as condições brasileiras, a reciclagem agrícola de esgoto apresenta vários aspectos positivos em função da influência de um clima tropical, que expõe o solo à intensa atividade intempérica, proporcionando uma rápida mineralização da matéria orgânica. Considera-se a matéria orgânica como um conjunto de substâncias altamente heterogêneas que inclui numerosos compostos de carbono, variando de açúcares, proteínas e outros constituintes biológicos, ácidos orgânicos de baixas massas moleculares, como ácidos acético e oxálico, quase todos facilmente mineralizáveis, até um conjunto complexo de produtos recalcitrantes resultantes de transformações química e microbiana da matéria orgânica do solo (MOS) (BUDZIAK *et al.*, 2004). Essa mineralização disponibiliza uma gama de nutrientes ao meio, podendo ainda contribuir para a elevação do pH do solo e a redução da acidez potencial (SIMONETE *et al.*, 2003).

## **CAPÍTULO 2 – REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 – Tratamento de Esgoto**

O saneamento no Brasil ainda apresenta grandes problemas, conforme foi identificado pelas pesquisas realizadas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) no período de 1992-2002. Os dados referentes ao esgotamento sanitário são críticos, revelando índices de cobertura da população urbana, por redes coletoras de 51,6 % e um percentual desse esgoto coletado que passa por algum tratamento de cerca de 35 % (IBGE, 2004). O tratamento desse esgoto em geral é feito por combinação de processos físicos, químicos e biológicos, que reduzem a carga orgânica do esgoto antes do seu lançamento em corpos d'água. São considerados como tratados os esgotos sanitários que recebem, antes de serem lançados nos corpos d'água receptores, pelo menos o tratamento secundário, com a remoção do material mais grosseiro, da matéria orgânica particulada, e de parte da matéria orgânica dissolvida do efluente. Considera-se como forma de tratamento do esgoto sistemas como filtro biológico, o lodo ativado, as lagoas aeróbia, anaeróbia, facultativa, de estabilização, aerada, mista e de maturação, o vale de oxidação, a fossa séptica e o reator anaeróbio (IBGE, 2004). A escolha do sistema de tratamento é função das condições estabelecidas para a qualidade da água dos corpos receptores determinadas pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

O esgoto urbano é composto por resíduos domésticos e efluentes industriais sendo que se estes forem tóxicos devem ser tratados em unidades da própria indústria. A composição do esgoto é bastante variável, sendo que a matéria orgânica, especialmente as fezes humanas, confere ao esgoto sanitário suas principais características, mutáveis com o decorrer do tempo, pois sofre diversas alterações até sua completa mineralização ou estabilização. Enquanto o esgoto sanitário causa poluição orgânica e bacteriológica, o industrial geralmente produz poluição química.

Como resultado do baixo percentual de esgoto tratado tem-se que as Regiões Metropolitanas e grandes cidades concentram grandes volumes de esgoto, os quais são despejados sem tratamento nos rios e mares que servem de corpos receptores. Em consequência, a poluição das águas que cercam as maiores áreas urbanas é bastante elevada, dificultando e encarecendo, cada vez mais, a própria captação de água para o abastecimento.

Os corpos d'água podem se recuperar da poluição, ou depurar-se, pela ação da própria natureza, desde que sejam respeitados os limites de descarga poluidora em função da vazão do

corpo receptor. Frequentemente, os mananciais recebem descargas de efluentes muito elevadas para sua vazão e não conseguem se recuperar pela autodepuração, havendo a necessidade da depuração artificial ou tratamento do esgoto. O tratamento do efluente pode, inclusive, transformá-lo em água para diversos usos, como a irrigação, por exemplo, (SOUSA *et al.*, 2001; ORON *et al.*, 1999).

### 2.1.1 – Tratamento de Esgoto na Área Rural

O tratamento de esgoto em áreas urbanas no Brasil ainda não é suficiente para atender a crescente demanda da população, no entanto, apresenta-se num estágio avançado quando se considera a situação da população na área rural.

Segundo dados do IBGE (2002), na área rural do Brasil há cerca de 32 milhões de habitantes, que em sua maior parte carecem de sistemas de saneamento básico. Aproximadamente 16 % dessa população possuem rede coletora de esgotos e/ ou fazem uso de fossas sépticas. Contudo, a grande maioria (41%) utiliza-se de fossas rudimentares, mais conhecidas como “fossas negras”, como solução final para o esgoto doméstico gerado (IBGE, 2004).

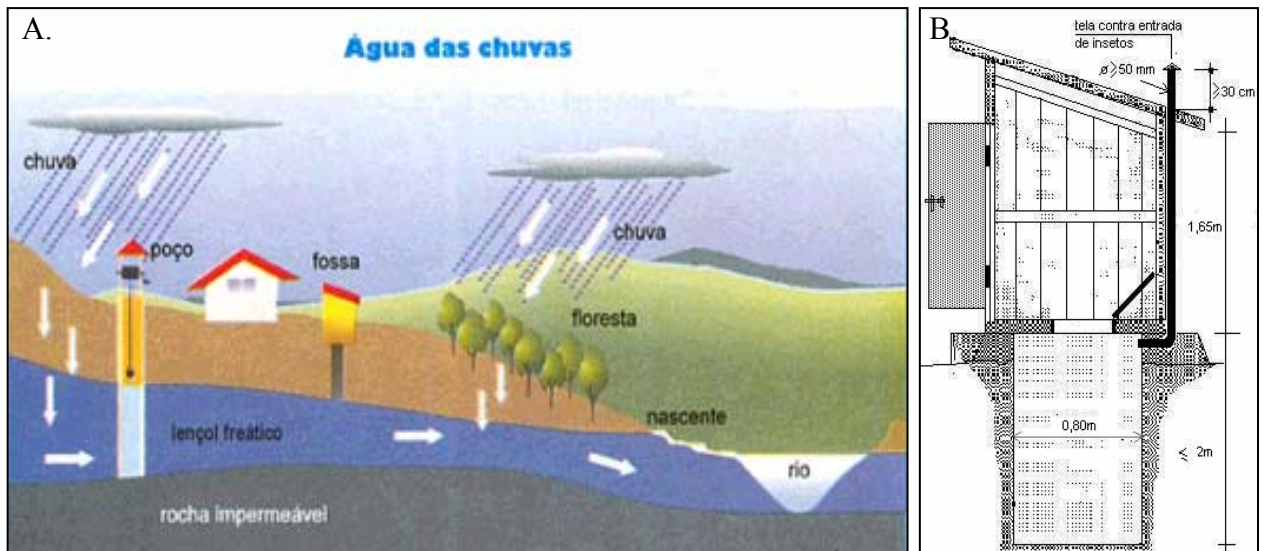


FIGURA 2.1 – A. Fossa rudimentar mostrada em um contexto ambiental. B. Esquema de uma fossa rudimentar

Essas fossas rudimentares são as principais responsáveis pela contaminação das águas subterrâneas que abastecem os “poços caipiras”. Na Figura 2.1A é apresentado um esquema mostrando uma fossa rudimentar em um panorama ambiental. O esgoto gerado na residência é depositado na fossa, que consiste de uma simples escavação feita no solo, sem qualquer revestimento interno de suas paredes (Figura 2.1B). No interior da fossa ocorrem reações na

matéria orgânica presente nas fezes, em virtude da intensa atividade microbiana, com a liberação de um líquido de odor desagradável e também com altas concentrações de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e coliformes fecais, denominado chorume. Este líquido se infiltra nas paredes da fossa e percola através do solo podendo atingir e contaminar as águas subterrâneas.

No Estado de São Paulo, verificaram-se alterações nas concentrações naturais de  $\text{NO}_3^-$  em águas subterrâneas. Dos poços analisados, 3% apresentaram concentrações de  $\text{NO}_3^-$  superiores a  $10 \text{ mg L}^{-1}$ . Ainda, segundo o relatório da CETESB (2004) foi registrado um aumento nas concentrações mínimas e máximas detectadas no período de 2001-2003, indicando um progressivo aporte de nitrato nesses poços atribuído, principalmente, à contaminação por esgoto doméstico. No mesmo relatório, também são mencionadas contaminações biológicas das águas subterrâneas, registrando a presença de coliformes fecais em concentrações na faixa de 1 a 5 % nos aquíferos analisados.

## 2.2 – Processos Biológicos

Os processos biológicos usados em tratamento de esgotos são aqueles onde os microrganismos utilizam a matéria orgânica biodegradável em um reator biológico para obtenção de energia para as suas atividades e como fonte de matéria prima para a sua reprodução. Nestes processos, duas reações principais ocorrem, a de respiração, em que os microrganismos utilizam a matéria orgânica para a obtenção de energia, gerando os chamados produtos finais da respiração ( $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ ) e a reação de síntese e reprodução em que a matéria orgânica é utilizada como matéria prima para a reprodução dos microrganismos. Ainda pode-se considerar que na falta de uma fonte externa de matéria orgânica, os microrganismos consomem matéria orgânica de sua própria composição, através de uma reação denominada respiração endógena.

No processo biológico, as reações de respiração podem ser pela via aeróbia, quando os microrganismos utilizam oxigênio dissolvido (OD) para converter a matéria orgânica biodegradável em dióxido de carbono e água. Na ausência de OD, porém com a presença de nitrato ( $\text{N-NO}_3$ ), em uma condição denominada anóxica, este pode ser utilizado em substituição ao OD para a reação de respiração, resultando também, como produtos finais da respiração dióxido de carbono e água e liberação de N-gasoso, em uma reação denominada de desnitrificação. Na ausência de OD e de  $\text{N-NO}_3$ , a reação de respiração é anaeróbia e tem como produtos finais dióxidos de carbono e gás metano (ALEM SOBRINHO, 2001).

### 2.2.1 – Digestão Anaeróbia

O processo de digestão anaeróbia é conhecido desde o final do século XIX, caracterizando-se pela estabilização da matéria orgânica em ambiente livre de oxigênio molecular (Figura 2.3). Devido à robustez e alta eficiência, a digestão anaeróbia está presente desde em simples fossas sépticas domésticas até em estações completamente automatizadas servindo a grandes regiões metropolitanas. Dentre os objetivos do processo anaeróbio estão as seguintes funções:

- redução substancial dos sólidos voláteis;
- redução significativa dos organismos patogênicos;
- estabilização de substâncias instáveis presentes no esgoto.

Normalmente, a digestão anaeróbia é opção preferida de estabilização, devido ao seu baixo custo operacional. A digestão anaeróbia gera como produtos da estabilização o gás carbônico e o gás metano, incentivando ainda mais esta opção de tratamento devido ao potencial energético gerado.

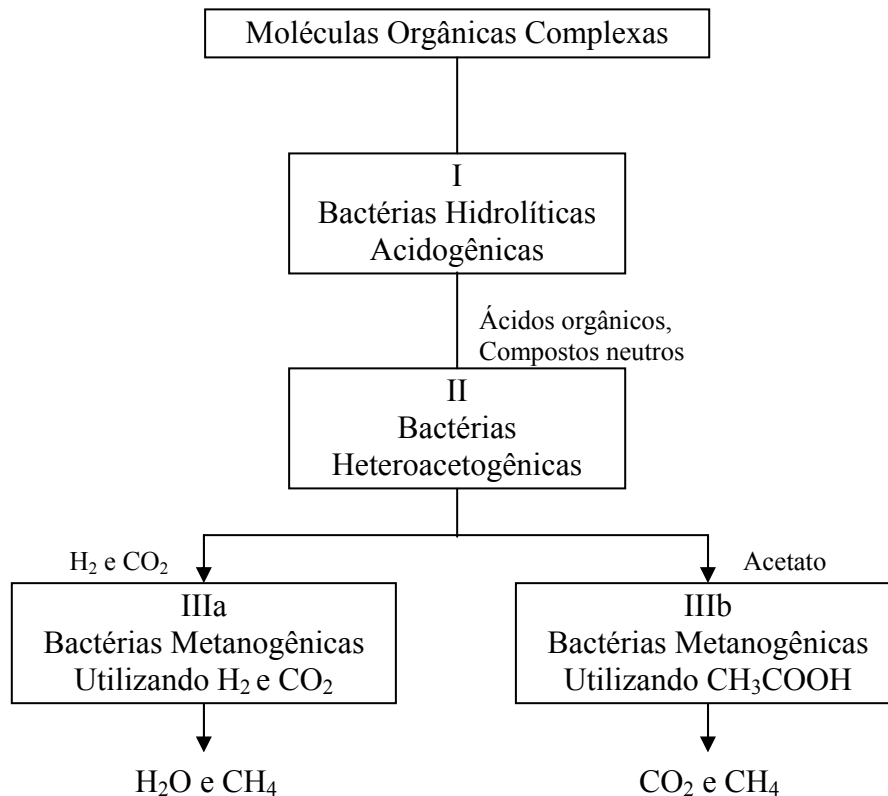


FIGURA 2.2 – Esquema da via de degradação anaeróbia da matéria orgânica

A digestão anaeróbia é um processo bioquímico de múltiplos estágios, capaz de estabilizar diferentes tipos de matéria orgânica. O processo anaeróbio ocorre basicamente em seis estágios principais (JEYASEELAN, 1997):

- 1) Hidrólise de biopolímeros orgânicos complexos (proteínas, carboidratos e lipídeos) em monômeros (aminoácidos, açúcares e ácidos graxos de cadeia longa) por bactérias hidrolíticas (grupo I) (acidogênicas);
- 2) Fermentação de aminoácidos e açúcares por bactérias hidrolíticas (grupo I);
- 3) Oxidação anaeróbia de ácidos graxos voláteis e álcoois pelas bactérias heteroacetogênicas (grupo II);
- 4) Oxidação anaeróbia de produtos intermediários tais como ácidos graxos voláteis pelas bactérias heteroacetogênicas (grupo II);
- 5) Conversão de hidrogênio a metano pelas bactérias metanogênicas utilizando hidrogênio e dióxido de carbono (grupo IIIa);
- 6) Conversão de acetato a metano pelas bactérias metanogênicas utilizando acetato (grupo IIIb).

No biodigestor coexistem três grupos de bactérias mutuamente dependentes entre si: bactérias acidogênicas hidrolíticas, bactérias acetogênicas e bactérias metanogênicas. Esta população permanece em equilíbrio dinâmico, variando sua concentração de acordo com as condições operacionais de cada biodigestor. Outros organismos encontrados e que podem desempenhar papel fundamental no processo de digestão são as bactérias redutoras de sulfato e as bactérias desnitrificantes (ALEM SOBRINHO, 2001).

### **2.3 – Fossa Séptica Biodigestora**

O sistema denominado Fossa Séptica Biodigestora foi desenvolvido na Embrapa Instrumentação Agropecuária, com o objetivo de promover o tratamento de esgoto em áreas rurais, onde segundo IBGE (2004) cerca de 84 % da população fazem uso de fossas rudimentares e/ ou não possuem qualquer tipo de captação/ tratamento do esgoto doméstico.

O sistema de fossa biodigestora contribui para a viabilização do tratamento de esgoto doméstico e conseqüente produção de efluentes desinfetados. Consiste em um tratamento biológico do esgoto por ação de digestão fermentativa, utilizando-se de esterco bovino/ ovino como meio inoculante de bactérias (Tabela 2.1). O sistema baseia-se no processo de biodigestão de resíduos orgânicos (proteínas, carboidratos, lipídeos) através da sua

decomposição anaeróbia por bactérias (BOLZONELLA *et al.*, 2005) produzindo resíduos desinfetados, evitando dessa forma, a proliferação de doenças veiculadas pela água poluída por esgoto doméstico (NOVAES *et al.*, 2002).

Um esquema do sistema é mostrado na Figura 2.2. O sistema é composto por duas caixas de fibrocimento de 1000 litros cada, conectadas exclusivamente ao vaso sanitário (pois as águas do chuveiro e da pia não apresentam potencial patogênico e sabão ou detergente possuem propriedade antibióticas que inibem o processo de biodigestão) e uma terceira caixa de 1000 litros que serve para coleta do efluente (adubo orgânico).

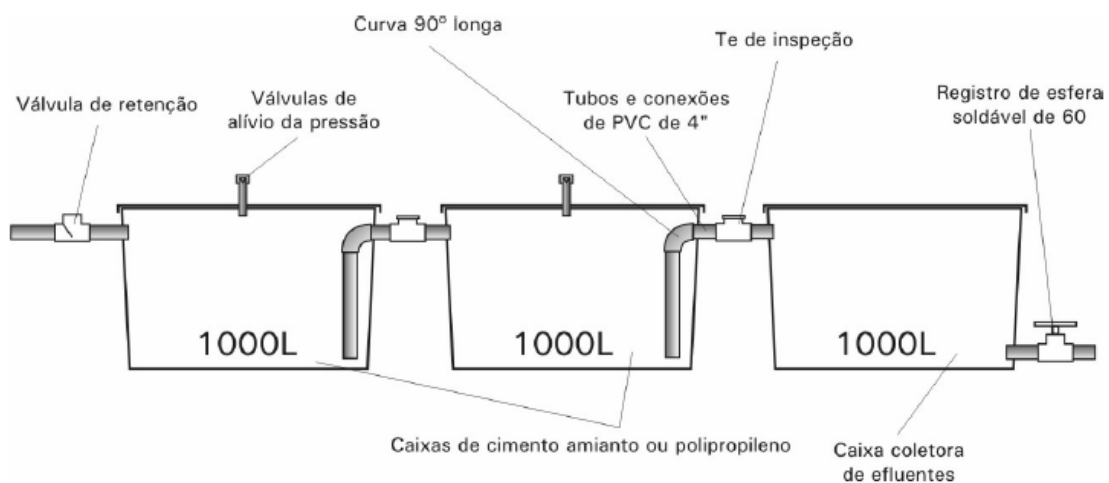


FIGURA 2.3 – Esquema do sistema da fossa séptica biodigestora (NOVAES *et al.*, 2002)

As tampas das caixas devem ser vedadas com borracha e unidas entre si por tubos e conexões de PVC de 4", com curva de 90° longa no interior das caixas e "T" de inspeção para o caso de entupimento do sistema. Os tubos e conexões devem ser vedados na junção com a caixa com cola de silicone e o sistema deve ficar enterrado para manter o isolamento térmico. Inicialmente, a primeira caixa deve ser preenchida com aproximadamente 20 litros de uma mistura 1:1 de água e esterco bovino (ou ovino) fresco. O objetivo desse procedimento é aumentar a atividade microbiana e conseqüentemente a eficiência da biodigestão, devendo ser repetido a cada 30 dias com 10 litros da mistura água / esterco através da válvula de retenção. A Tabela 2.1 apresenta os principais microrganismos existentes no esterco de bovinos, que atuam em simbiose na degradação dos substratos encontrados nas fezes humanas (carboidratos, proteínas, gorduras entre outros). O sistema possui duas chaminés de alívio colocadas sobre as duas primeiras caixas para descarga do gás acumulado (CH<sub>4</sub>). A coleta do efluente é feita através do registro de esfera de 60 mm instalado na caixa coletora.



O dimensionamento do sistema é indicado para uma família de no máximo cinco pessoas e permite que o material depositado nas caixas fermente por aproximadamente trinta dias, período suficiente para uma completa biodigestão (SCHOKEN-ITURRINO *et al.*, 1995).

TABELA 2.1 – Bactérias presentes no rumem bovino (RUIZ, 1992)

Tipos de Bactérias	Nomes
<b>Celulolíticas</b>	Bacteróides succinogenes, Ruminococcus flavefaciens, Ruminococcus albus, Ruminococcus Butyrivibrio fibrisolvens
<b>Hemicelulolítica</b>	Butyrífbrio fibrisolvens, Bacteróide ruminícola, Ruminococcus sp.
<b>Pectinolíticas</b>	Butyvífbrio fibrisolvens, Bacteróides ruminícola, Lachnospira multiparus, Succinivibrio dextrinosolvens, Treponema bryantii, Streptococcus bovis
<b>Amilolíticas</b>	Bacteróide amylophilus, Streptococcus bovis, Succimimonas Amylolitica, Bacteróide ruminícola
<b>Ureolíticas</b>	Succinivibrio dextrinosolvens, Selenomonas sp., Bacteróide ruminícola, Ruminococcus bromii, Butivibrio sp., Treponema sp.

Após o processo de desinfecção, o efluente gerado pode ser disposto em solo. Dentre os principais sistemas de disposição de águas residuárias no solo (irrigação, infiltração/percolação e escoamento à superfície) a irrigação de culturas tem sido o método mais acessível (FEIGIN *et al.*, 1991) e eficiente (DARWISH *et al.*, 1999), particularmente, nos países em desenvolvimento onde não há uma política para o custo de tratamento das águas residuárias (FRIEDEL *et al.*, 2000).

## 2.4 – Propriedades Químicas do Solo

O solo, apesar de sua importância vital para a humanidade constitui um material ainda pouco compreendido. O estudo de sua organização leva em conta os aspectos morfológicos e estruturais, isto é, estuda seus constituintes (minerais e orgânicos), suas dimensões e o modo como estes se encontram organizados. Envolve também a análise dos espaços vazios (poros), reflexo da organização de seus constituintes. Trata-se de um estudo estático que se baseia na caracterização do chamado perfil do solo. Os perfis se diferenciam através de horizontes,

segundo uma organização vertical, sendo os superiores mais ricos em matéria orgânica (horizonte O) e os inferiores sobretudo em minerais (horizontes E, B e C). Tais horizontes se distinguem pela cor, textura, estrutura e comportamento.

O solo em boas condições para o crescimento de plantas é constituído em seu horizonte superficial (horizonte A), por aproximadamente 50 % de material sólido, 25 % de água e 25 % de ar. A proporção de água e de ar no solo pode variar de maneira bastante acentuada e muito rapidamente, estando associada principalmente ao tamanho e quantidade de poros existente, disponibilidade de água e drenagem do terreno. A fase sólida, ao contrário, é mais constante (MELFI e MONTES, 2001). Essas condições influenciam diretamente as propriedades físico-químicas do solo.

São muitas as propriedades químicas do solo, sobretudo as relacionadas aos aspectos de fertilidade e nutrição de plantas. A troca iônica é uma delas, e está relacionada à presença de cargas superficiais, sendo entendida como um processo reversível, pelo qual íons retidos na superfície são substituídos por quantidades equivalentes de outros íons, estejam estes em solução ou ligados a uma outra fase sólida em contato com a primeira.

Nos solos, os mais importantes cátions trocáveis são o  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{NH}_4^+$ . Entre os ânions, os mais importantes são o  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  e os ânions dos ácidos húmicos.

Uma outra propriedade química é a capacidade de troca catiônica (CTC), que define a habilidade do solo em reter e adsorver cátions. Está relacionada à presença de cargas negativas na superfície das partículas coloidais (argilominerais, óxidos e oxihidróxidos de Fe e Al e compostos orgânicos – húmus).

A CTC depende da textura do solo e, mais particularmente, do teor de argila e matéria orgânica, pois tanto a argila quanto a matéria orgânica apresentam grandes superfícies específicas, e portanto são materiais bastante reativos, daí possuírem CTC elevada. Destas duas, a matéria orgânica, normalmente presente em menor quantidade, apresenta CTC cerca de cinco vezes àquela das argilas, podendo também apresentar grande variação em função da concentração dos grupos  $-\text{COOH}$  (MELFI e MONTES, 2001).

O pH é outra propriedade química essencial, pois determina sob que forma os elementos químicos estarão nas soluções que percolam o solo. Em função do pH do solo e do pKa dos elementos, pode-se prever sua existência sob uma forma catiônica (ou aniônica), sob forma de hidróxidos ou ainda sob forma de sais, sendo possível definir a mobilidade dos elementos em determinado solo, se conhecida a solubilidade dos produtos formados.

## 2.5 – Matéria Orgânica do Solo

A matéria orgânica (MO) é um importante constituinte do solo, sendo um componente fundamental na qualidade dos sistemas agrícolas em razão de seu conteúdo e sua qualidade serem os mais importantes fatores que mantêm a fertilidade dos solos e a sustentabilidade dos agroecossistemas (MARTIN-NETO *et al.*, 2004; REEVES, 1997).

Segundo STEVENSON (1994), a matéria orgânica do solo consiste de uma mistura de compostos em vários estágios de decomposição, que resultam da degradação biológica de resíduos de plantas e animais, e da atividade sintética de microrganismos, denominado húmus. Este material complexo pode ser dividido operacionalmente, em substâncias húmicas (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina) e não húmicas (proteínas, aminoácidos, polissacarídeos, ácidos orgânicos de baixa massa molar ceras e outros).

As substâncias não húmicas pertencem a grupos bem conhecidos da química orgânica e suas características físicas e químicas são bem conhecidas. Geralmente correspondem aos compostos facilmente degradados por microrganismos, tendo, normalmente, tempo curto de vida nos solos e sedimentos. Por sua vez, as substâncias húmicas (SH) são os maiores constituintes da fração orgânica dos solos, sendo que não apresentam estrutura nem massa molar definidas.

Quando se pensa em matéria orgânica destaca-se que é um constituinte do solo que pode representar até menos de 1 % do total em massa, em muitos solos, mas que pelas características químicas, envolvimento com as atividades biológicas, importância para a fertilidade do solo e nutrição das plantas, papel na agregação das partículas do solo, e reatividade com os demais constituintes endógenos e até exógenos ao solo (como pesticidas e metais pesados) tem papel muito relevante. Dentre as funções que a MO desempenha no solo, pode-se destacar:

- biológica: regula as atividades da microflora e dos organismos da microfauna;
- nutritiva: serve como fonte de nutrientes para o crescimento das plantas, retendo e fornecendo tanto os macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) quanto micronutrientes (Zn, Fe, Mn e Cu), impedindo a perda por lixiviação e arraste dos fertilizantes químicos;
- física e físico-química: melhora a capacidade de retenção de água, drenagem, aeração e conserva a estrutura do solo. É um dos grandes responsáveis pela CTC e pela capacidade tampão do solo. Participa também no processo de decomposição de agentes tóxicos, formando compostos complexos com metais tóxicos e pesticidas, ajuda na retenção de calor influenciando na germinação de sementes e desenvolvimento das raízes (STEVENSON, 1994).

### 2.5.1 – Substâncias Húmicas

Segundo ZECH *et al.* (1997), a humificação é a transformação de reservas macromorfologicamente identificáveis em compostos húmicos amorfos. Com isso, as principais transformações que ocorrem durante a humificação, são a perda de polissacarídeos e de compostos fenólicos, a modificação das estruturas de lignina, e o enriquecimento em estruturas aromáticas não lignínicas recalcitrantes. A humificação, bem como a decomposição de resíduo, é mediada primeiramente por processo microbiológico, controlado principalmente por variáveis locais específicas, tais como temperatura, regime de água no solo, pH e disponibilidade de nutrientes.

As SH são diferentes de outros biopolímeros do húmus, como carboidratos e proteínas, pois não apresentam estrutura molecular e propriedades físicas definidas e podem permanecer por um longo período no solo (recalcitrância). A presença de vários grupos cromóforos em sua estrutura resulta em absorção de energia em uma ampla faixa do espectro eletromagnético, o que lhe confere cores variando de marron-clara a escura. Desempenham um papel significativo na formação de agregados, no controle da acidez do solo e no ciclo de elementos nutrientes. As SH são amorfas, escuras, com grande conteúdo de grupos orgânicos, tais como, carboxílicos, fenólicos, enólicos, alcoólicos, quinonas entre outros e quimicamente complexas (STEVENSON, 1994; SAAB, 1999; MARTIN-NETO *et al.*, 2004).

Ainda hoje não existe um modelo estrutural para as substâncias húmicas que explique totalmente sua composição química, estrutura, forma e tamanho, sendo que os modelos existentes geram controvérsias e discussões (CLAPP e HAYES, 1999; BURDON, 2001; HAYES e CLAPP, 2001; MACCARTHY, 2001; PICCOLO, 2001).

#### 2.5.1.1 – Modelo Macromolecular para as Substâncias Húmicas

Até pouco tempo as SH eram consideradas como polímeros macromoleculares, com características similares às macromoléculas biológicas como proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos e lignina. SCHULTEN e SCHNITZER (1993), a partir de técnicas analíticas tais como pirólise, espectroscopia, degradação oxidativa e microscopia eletrônica, sugeriram a estrutura esquemática e macromolecular para os ácidos húmicos (AH), mostrada na Figura 2.4. Nessa estrutura, os AH contêm longas cadeias alifáticas, grupos OH fenólicos livres e ligados, nitrogênio e oxigênio como ponte de ligação dos grupos COOH localizados de diferentes formas nos anéis aromáticos. De acordo com a solubilidade em função do pH, as SH podem ser divididas operacionalmente, em ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina. Os

ácidos fúlvicos (AF) são solúveis em toda faixa de pH, os ácidos húmicos são solúveis em meio alcalino e a humina (HU) é insolúvel em toda faixa de pH (STEVENSON, 1994).

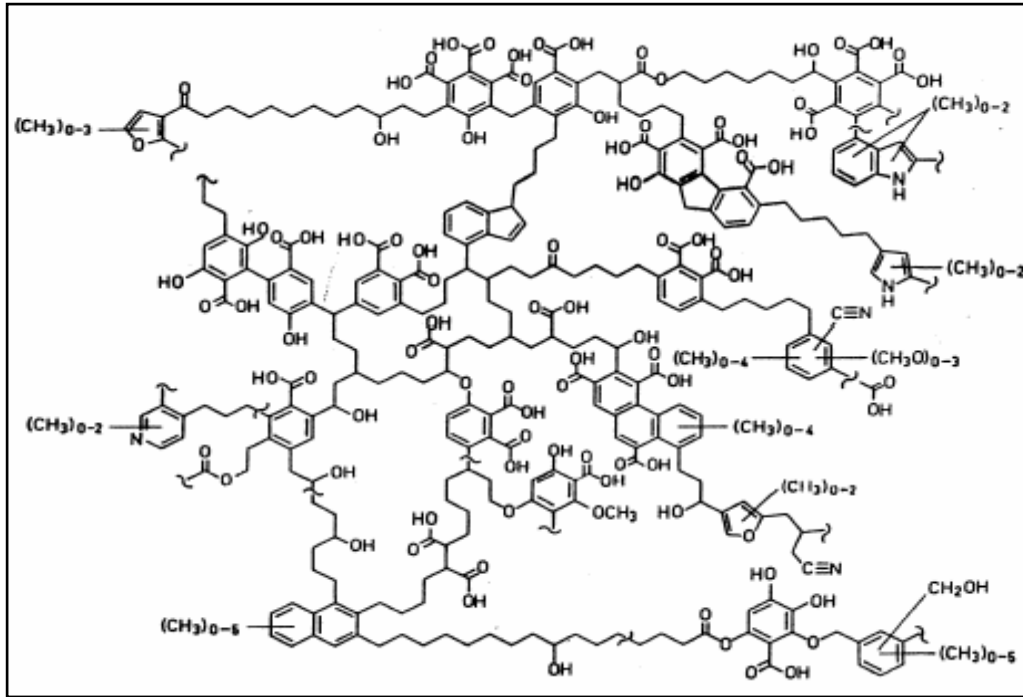


FIGURA 2.4 – Modelo de estrutura para AH proposto por SCHULTEN e SCHNITZER (1993)

Em 1997, SCHULTEN e SCHNITZER propuseram a existência de espaços vazios (Figura 2.5) de diferentes tamanhos, onde poderiam alojar-se outros compostos orgânicos, hidrofílicos ou hidrofóbicos, como carboidratos e materiais proteináceos, lipídeos, pesticidas e outros poluentes.

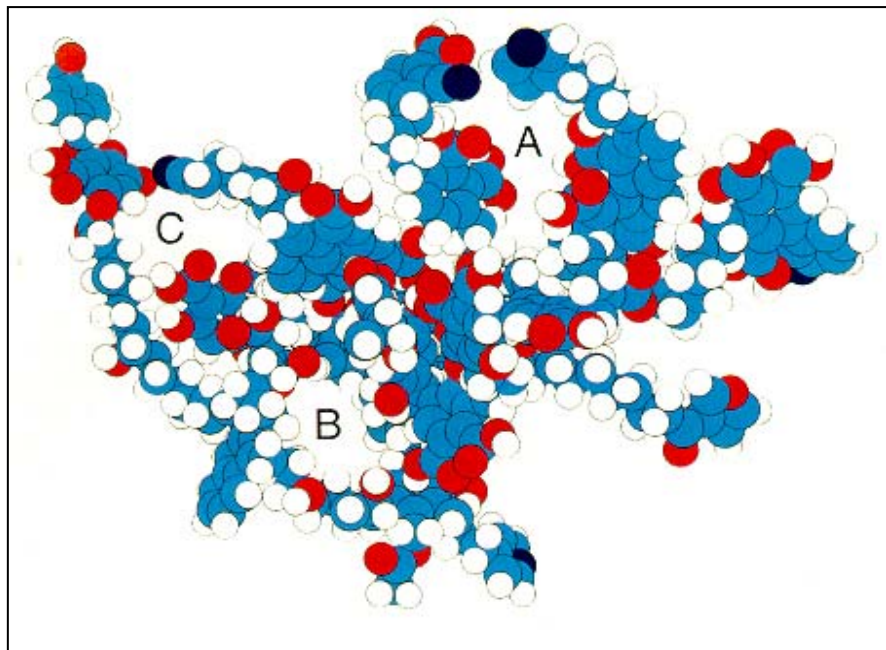


FIGURA 2.5 – Modelo tridimensional de AH proposto por SCHULTEN e SCHNITZER (1997). Carbono : azul; Oxigênio: vermelho; Nitrogênio: preto e Hidrogênio: branco. As letras A, B e C indicam os espaços vazios presentes, provavelmente, na estrutura das SH

### 2.5.1.2 – Modelo Supramolecular para as Substâncias Húmicas

A “química supramolecular” é definida como a química dos arranjos e das ligações intermoleculares, envolvendo entidades de grande complexidade que resultam da associação de duas ou mais espécies químicas unidas por forças intermoleculares, que podem ser ligações secundárias, ligações de hidrogênio, interações doador-aceptor (tipo ácido-base de Lewis) ou interações iônicas (OLENDZKI, 2006).

Segundo PICCOLO (2001), as SH seriam moléculas pequenas e heterogêneas, de várias origens e auto-organizadas em conformações supramoleculares. As superestruturas húmicas não estariam associadas por ligações covalentes, mas sim seriam estabilizadas por forças fracas, tais como interações hidrofóbicas do tipo van der Waals e ligações de hidrogênio, estas últimas sendo mais importantes quanto menor o valor de pH. Estas interações determinariam a estrutura conformacional nas supramoléculas de SH.

Considerando o modelo supramolecular, os ácidos fúlvicos são associações de pequenas moléculas hidrofílicas dispersas em solução devido à repulsão eletrostática das cargas negativas provenientes da dissociação dos grupos ácidos, como por exemplo, os carboxílicos, a qualquer valor de pH. Os ácidos húmicos são constituídos por associações de

estruturas predominantemente hidrofóbicas (cadeias polimetilênicas, ácidos graxos e esteróides), que são estabilizadas em pH neutro por forças dispersivas hidrofóbicas (van der Waals,  $\pi$ - $\pi$ , e ligações CH- $\pi$ ). Os ácidos húmicos crescem gradualmente em tamanho com o decréscimo do pH até a sua precipitação. Segundo PICCOLO (2001), a influência do pH ocorre por meio da protonação da molécula e conseqüente aumento das ligações de hidrogênio intermoleculares. O modelo supramolecular foi reforçado pelos resultados obtidos por SIMPSON, 2002 e SIMPSON *et al.*, 2002. Estes autores demonstraram que as substâncias húmicas extraídas de solos são formadas por uma mistura de substâncias agregadas de massa molecular em torno de 2000 Da e propuseram um esquema (Figura 2.6) para ilustrar como as principais estruturas identificadas nas substâncias húmicas poderiam formar um agregado na presença de cátions metálicos de ocorrência natural nos ecossistemas terrestres.

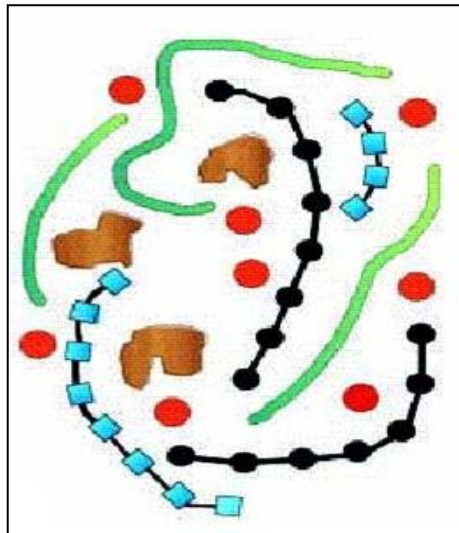


FIGURA 2.6 – Esquema de estrutura das SH proposto por SIMPSON *et al.* (2002), unidades vermelhas: cátions metálicos; unidades pretas: polissacarídeos; unidades azuis: polipeptídios; unidades verdes: cadeias alifáticas e unidades marrons: fragmentos aromáticos

## 2.6 – Disponibilidade de Nutrientes no Solo

A disponibilidade de nutrientes no solo leva em conta três fatores, considerando as interações entre os nutrientes e a matéria orgânica do solo. Eles são (1) resíduos de plantas e animais no solo, os quais sob decomposição liberam N, P, S e micronutrientes para o crescimento das plantas; (2) a biomassa microbiana, a qual serve como estoque temporário de nutrientes (com tempo médio de residência de meses a poucos anos); e (3) a fração húmica da matéria orgânica, que tem um longo tempo médio de residência (250 a 1000 anos).

A conversão de formas orgânicas de N, P e S para formas minerais disponíveis ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) ocorre através da atividade de microrganismos e é influenciada por fatores

que afetam a atividade microbiana (temperatura, umidade, pH, entre outros) bem como pelas razões C/N, C/P e C/S de resíduos de plantas em decomposição. Este processo é conhecido como mineralização e é sempre acompanhado pela conversão de formas minerais de nutrientes em formas orgânicas, sendo este processo denominado imobilização (STEVENSON, 1986).

## 2.7 – Disposição de Resíduos no Solo

Os trabalhos científicos sobre a utilização de esgotos tratados em práticas agrícolas têm demonstrado que sua disposição no solo adiciona uma série de substâncias que podem alterar suas propriedades físicas, químicas, físico-químicas e biológicas, afetando em geral, positivamente o desenvolvimento das plantas (MELO *et al.*, 1994; SOUSA *et al.*, 2001; FONSECA *et al.*, 2005; HUSSAR *et al.*, 2005; NGOLE *et al.*, 2006; FONSECA *et al.*, 2007).

Os resíduos de esgotos gerados após tratamento são constituídos essencialmente por matéria orgânica, de acordo com o tipo de tratamento ao qual foi submetido. Isso significa que sua disposição no solo permite a incorporação de uma quantidade apreciável de matéria orgânica (MO) nos horizontes superficiais do solo.

A MO, como sabido, desempenha um importante papel na definição de certos atributos do solo, determinando algumas de suas mais importantes propriedades físicas, químicas, físico-químicas e biológicas. Indiretamente, sua presença condiciona também a dinâmica das soluções no interior do solo, afetando, dessa forma, o próprio funcionamento do sistema pedológico (MELFI e MONTES, 2001).

O uso de efluentes provenientes do tratamento de esgotos na agricultura é uma prática comum em muitos países (SAADI *et al.*, 2006; FONSECA *et al.*, 2007). Em países de clima tropical como o Brasil, esse tipo de prática apresenta aspectos positivos em função da temperatura a qual o solo é exposto, o que favorece a uma intensa atividade intempérica, proporcionando uma rápida mineralização da MO e também disponibilizando nutrientes ao meio. A principal vantagem na utilização de efluentes reside na recuperação de um recurso de grande importância para a agricultura – a água; além disso, os constituintes desses efluentes são produtos que podem aumentar a fertilidade dos solos por conter nutrientes essenciais às plantas. Por outro lado, melhoram também a aptidão agrícola dos solos, devido à MO que lhe é adicionada, com a conseqüente formação de húmus.

A reutilização de efluentes oferece, ainda, vantagens do ponto de vista da proteção do ambiente na medida em que proporciona a redução ou mesmo a eliminação da poluição dos meios hídricos habitualmente receptores desse material. Paralelamente dá-se a recarga dos



aquíferos, beneficiada com a melhoria da qualidade da água derivada da depuração proporcionada aos efluentes através da percolação no solo (MIRANDA, 1995).

## **2.8 – Efeito da Adição de Resíduos Orgânicos nas Características Químicas e Físicas do Solo**

A adição de resíduos orgânicos provoca importantes alterações nos atributos físicos, químicos e físico-químicos do solo, em decorrência do aumento do conteúdo de MO. Vários autores mostraram os efeitos positivos que a adição de matéria orgânica provoca no estado de agregação das partículas, na porosidade, na densidade, na capacidade de retenção e infiltração de água, na temperatura, na capacidade de troca catiônica (CTC), no pH e na fertilidade do solo (METZGER e YARON, 1987; MARCIANO *et al.*, 1999, FONSECA *et al.*, 2005).

Alterações nas propriedades físico-químicas do solo afetam de forma acentuada sua funcionalidade, pois alteram a circulação das soluções no interior do solo. O pH é uma propriedade química essencial do solo, visto que a concentração hidrogeniônica define o comportamento dos elementos químicos no solo e também o comportamento dos seres vivos (fauna e flora). De uma maneira geral, a adição de resíduos orgânicos provoca um aumento no valor do pH e também nas cargas negativas do solo (BATAGLIA *et al.*, 1983), sendo que a existência de cargas elétricas condiciona a reatividade físico-química dos constituintes do solo com os íons que se encontram na solução do solo ou nos outros constituintes minerais, polímeros orgânicos ou minerais, que possuam cargas na superfície (MELFI e MONTES, 2001).

Normalmente, o valor de pH de águas residuárias usados em irrigação, não tem afetado significativamente o pH do solo, por causa do seu poder tampão. Dessa forma, não é de se esperar efeito direto do efluente no pH do solo, mesmo com a ocorrência de  $\text{HCO}_3^-$  (uma das formas presentes de alcalinidade) nas águas residuárias. No entanto, existe a possibilidade dessa alcalinidade associada às altas concentrações de  $\text{Na}^+$  e  $\text{CO}_3^{2-}$  em águas alcalinas, ocasionar um aumento no valor de pH do solo (BOUWER e IDELOVITCH, 1987).

## 2.9 – Métodos Espectroscópicos

### 2.9.1 – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A radiação infravermelha corresponde à parte do espectro eletromagnético entre as regiões do visível e das microondas. A espectroscopia no infravermelho é uma das ferramentas mais úteis para o químico na identificação de compostos orgânicos e inorgânicos, pois, com exceção de poucos compostos homonucleares tais como as moléculas de O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e Cl<sub>2</sub>, todas as espécies moleculares absorvem radiação infravermelha (SKOOG *et al.*, 2002). A região do infravermelho de maior utilidade para os químicos orgânicos está localizada entre 4000 e 400 cm<sup>-1</sup>. Há também uma região de 14290-4000 cm<sup>-1</sup>, chamada de infravermelho próximo e outra em 700-200 cm<sup>-1</sup>, denominada infravermelho distante.

A interação da radiação infravermelha com uma molécula envolve a interação de um componente oscilante do campo elétrico da radiação com o momento dipolo oscilante da molécula. Assim, para as moléculas absorverem radiação infravermelha como energia de excitação vibracional é necessário haver mudança em seu momento de dipolo, e quando há esta modificação, os compostos absorvem energia em certas regiões do espectro. As moléculas diatômicas homonucleares não apresentam mudança em seu momento dipolo, conseqüentemente não possuem absorção no infravermelho (SILVERSTEIN, 2000).

A absorção de radiação infravermelha pela molécula resulta em movimentos rotacionais e vibracionais dos grupos moleculares e de suas ligações químicas. As vibrações podem ocorrer tanto na forma de estiramento, na qual os átomos permanecem no mesmo eixo de ligação, variando-se o comprimento da ligação, como também na forma de deformação angular, onde as posições dos átomos mudam em relação ao eixo de ligação original (SILVERSTEIN, 2000).

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho é muito utilizada para identificar grupos funcionais presentes em compostos orgânicos, sendo de grande importância na avaliação da taxa de degradação de compostos de lodo de esgoto (GRUBE *et al.*, 2006) e também na caracterização das substâncias húmicas presentes no solo (STEVENSON, 1994). As informações obtidas na identificação de grupos funcionais como hidroxílicos, carboxílicos, carboxilatos, alifáticos, amínicos, entre outros, auxiliam a descrever a natureza dos AH das mais diferentes origens. Na Tabela 2.2 são apresentadas algumas bandas típicas das substâncias húmicas.

TABELA 2.2 – Bandas no infravermelho do ácido húmico descritas por NIEMEYER *et al.*, (1992)

Região (cm <sup>-1</sup> )	Origem
3380	Estiramento OH do grupo fenólico (contribuição de OH alifático, H <sub>2</sub> O e possivelmente NH)
3030	Estiramento CH aromático
2930	Estiramento CH assimétrico
2840	Estiramento CH simétrico
2600	Estiramento OH de H-ligado a –COOH
1720	Estiramento –C=O de –COOH
1610	Estiramento C=C aromático e/ou estiramento –COO <sup>-</sup> assimétrico
1520-1525	Estiramento C=C aromático, deformação N–H e estiramento C=N de amidas
1450	Deformação –CH de –CH <sub>3</sub> e dobramento –CH de –CH <sub>2</sub>
1350	Estiramento –COO simétrico e/ou dobramento –CH de alifáticos
1270	Estiramento –C–O de fenólico
1225	Estiramento –C–O e deformação OH de –COOH
1170	Estiramento –C–OH de alifáticos OH
1050 e 1040	Estiramento C–O de polissacarídeos ou derivados de polissacarídeos e Si–O de impurezas silicatadas
830	Vibração CH fora do plano. Impurezas argilosas
775	Vibração CH fora do plano

A espectrometria com transformações de Fourier (FTIR), que se desenvolveu muito nos últimos anos, tem várias vantagens sobre os instrumentos de dispersão. Como não se usam monocromadores, a totalidade da faixa de radiação passa simultaneamente pela amostra com enorme ganho de tempo. Isto permite resoluções extremamente altas ( $\leq 0,001 \text{ cm}^{-1}$ ). Além disto, o resultado de várias varreduras é combinado para diminuir os ruídos, gerando espectros com excelentes relação sinal/ ruído com relativamente pouca amostra (SILVERSTEIN, 2000).

### 2.9.2. – Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

A RPE refere-se à absorção de energia de elétrons desemparelhados de um átomo, molécula ou íon quando estes se encontram sujeitos à aplicação de um campo magnético. Assim, a condição necessária para se utilizar essa técnica é que o sistema em estudo apresente ao menos um elétron desemparelhado (WEIL *et al.*, 1994).

O fenômeno de RPE é baseado no efeito Zeeman eletrônico, ou seja, na capacidade de desdobrar o estado de energia do nível de spin, o que é obtido por meio da aplicação de campo magnético. Em seguida, com a aplicação de uma radiação eletromagnética, é possível gerar transição dos elétrons em diferentes estados de spin de menor energia para o estado excitado. No retorno ao estado fundamental, essa energia é devolvida ao meio e pode ser detectada. No caso do spin eletrônico, o estado de menor energia é  $m_s = -1/2$  e o estado excitado é  $m_s = +1/2$ , conforme ilustrado na Figura 2.7, a qual ilustra o fenômeno de RPE.

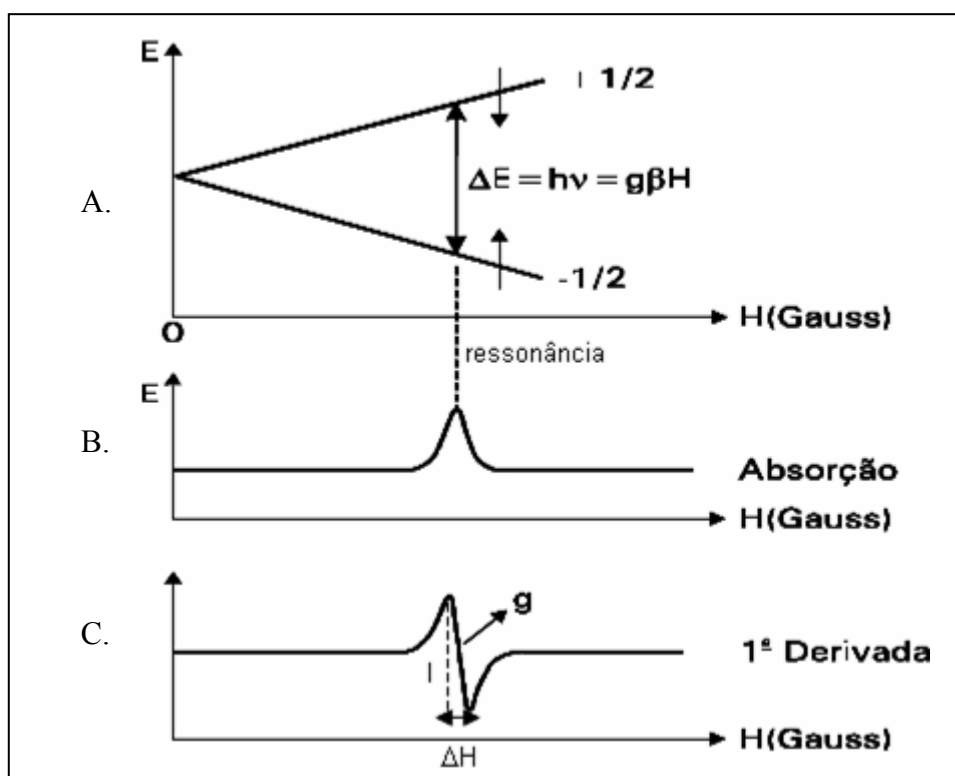


FIGURA 2.7 – A. Esquema simplificado do fenômeno de RPE, mostrando o efeito Zeeman para um sistema com  $I = 1/2$ ; B. característica do espectro de absorção; e C. a primeira derivada do espectro de absorção, a qual é normalmente detectada nos espectrômetros de RPE, indicando os parâmetros: fator g, largura de linha do sinal ( $\Delta H$ ) e intensidade do sinal (I)

As SH possuem radicais livres produzidos por grupos semiquinonas, formados pela deidrogenação oxidativa de compostos fenólicos (Figura 2.8), os quais são observáveis pela RPE (Figura 2.9).

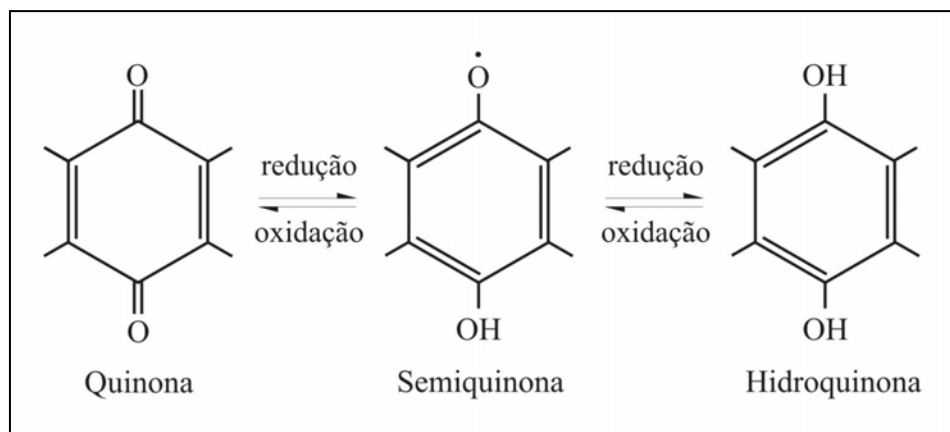


FIGURA 2.8 – Esquema da estabilização do radical livre do tipo semiquinona (SENESI e SCHNITZER, 1977)

A técnica de RPE tem sido muito usada em estudos à cerca do grau de humificação das SH (RIFFALDI e SCHNITZER, 1972; SENESI e SCHNITZER, 1977; MARTIN-NETO *et al.*, 1991; MARTIN-NETO *et al.*, 1994a). O grau de humificação está associado à estabilidade e complexidade das moléculas de SH, o que significa que cadeias maiores, com maior conteúdo de grupos aromáticos apresentarão maior grau de humificação. Assim, a RPE tem se mostrado útil na caracterização da matéria orgânica de solos submetidos a diferentes formas de manejo (GONZÁLEZ-PÉREZ *et al.*, 2004), sendo possível observar a diminuição do grau de humificação da matéria orgânica natural do solo quando são tratados com resíduos orgânicos (SANTOS, 2006).

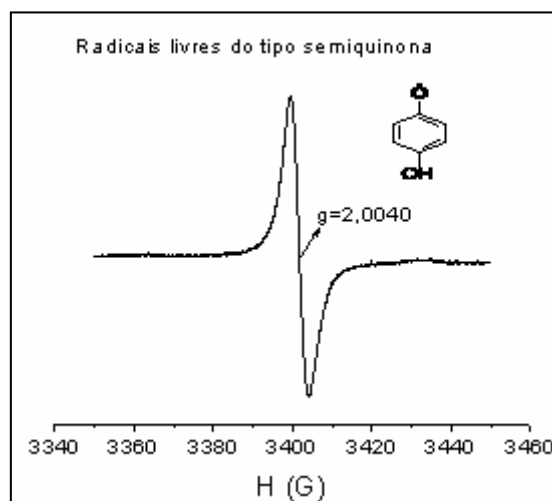


FIGURA 2.9 – Espectro típico de RPE de ácido húmico mostrando o sinal do radical livre do tipo semiquinona

A técnica de RPE possibilita também informações estruturais sobre a complexação dos íons metálicos paramagnéticos, grande parte micronutrientes (Fe, Cu, Cr, Mn, Mo) com as substâncias húmicas (MARTIN-NETO *et al.*, 1991). Resultados obtidos por OLENDZIK (2006) mostraram que os íons  $\text{Fe}^{3+}$  estão ligados a MOS através de grupos oxigenados, enquanto que os íons  $\text{Mn}^{2+}$ , observados na fração húmica formavam complexos de esfera externa com ela.

### 2.9.3 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

As técnicas de RMN fundamentam-se na absorção seletiva de radiofrequências por núcleos presentes em amostras colocadas em um campo magnético. Os núcleos assim excitados, apenas de forma muito tênue devido à pequena diferença de energia entre os estados energéticos, regressam ao estado fundamental emitindo energia radiante no domínio temporal, que após transformação matemática (aplicação de uma transformada de Fourier) apresentam variações no domínio das frequências. A determinação precisa dos valores destas radiofrequências específicas emitidas, que variam dependendo do campo magnético sentido pelos núcleos, e a velocidade de regresso ao estado fundamental (relaxação) constituem a essência das técnicas de RMN, permitindo não só a elucidação estrutural como também estudos da dinâmica molecular.

A absorção é função de determinados núcleos da molécula. Núcleos que possuem um número de spin,  $I$ , igual a  $\frac{1}{2}$  (por exemplo,  $^1\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ) apresentam uma distribuição de carga esférica e uniforme, o que facilita a obtenção dos espectros de RMN.

Segundo a mecânica quântica, o número de spin  $I$ , determina o número de orientações diferentes que um núcleo pode assumir quando colocado em um campo magnético uniforme, de acordo com a fórmula  $2I + 1$ . Na Figura 2.10 estão apresentados dois níveis de energia, com um pequeno excesso de população dos núcleos (com  $I = 1/2$ ) no estado de energia mais baixa ( $N_\alpha > N_\beta$ ) de acordo com a distribuição de Boltzmann. Os estados são identificados como  $1/2$  e  $-1/2$  (SILVERSTEIN, 2000; ATKINS, 2004).

O fenômeno da RMN ocorre quando se coloca a amostra em um campo magnético  $B_0$  e os núcleos com  $I > 0$  se orientam na direção de campo gerando  $2I + 1$  níveis de energia (Figura 2.10), a qual é representada pela equação

$$E = \frac{h\gamma B_0 I}{2\pi}$$

onde  $h$  é a constante de Planck e  $\gamma$  é a razão giromagnética. Esse desdobramento em níveis de energia é o efeito Zeeman. A diferença de energia entre os dois níveis é dada por

$$\Delta E = h\nu = \frac{h\omega}{2\pi}$$

onde  $\omega$  é denominada frequência de Larmor e é igual a  $-\gamma B_0$ . A espectroscopia de RMN consiste, então, em detectar a frequência ( $\omega = 2\pi\nu$ ) em que ocorre a transição entre os dois níveis de energia.

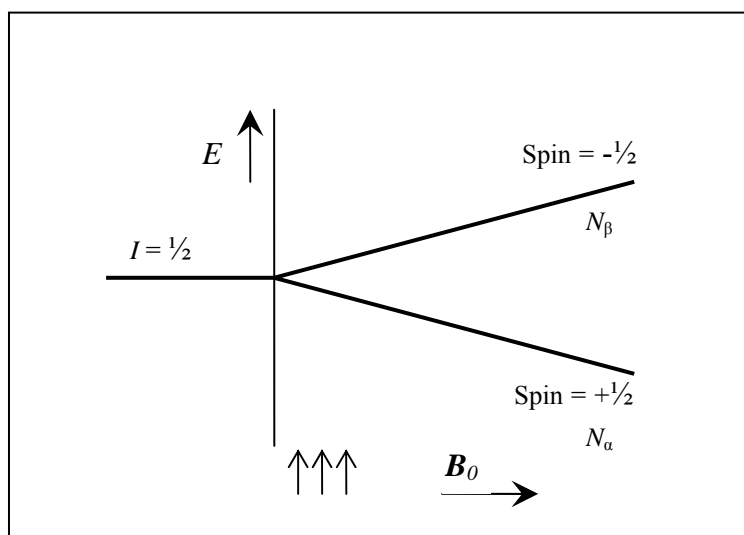


FIGURA 2.10 – Dois níveis de energia dos hidrogênios, como descritos pela mecânica quântica, em um campo magnético de magnitude  $B_0$ .  $N$  é a população. A direção do campo magnético ( $\uparrow\uparrow\uparrow$ ) está para cima, paralelo à ordenada, e  $B_0$  aumenta para a direita

A RMN tornou-se relevante na identificação de compostos orgânicos, uma vez que grupos de um dado núcleo ocupando posições diferentes numa molécula podem ser distinguidos em regiões diferentes do espectro, possibilitando dessa forma estudos à cerca da estrutura molecular em função, principalmente, dos núcleos de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ . O núcleo de  $^{12}\text{C}$  não é magneticamente “ativo” (o número de spin  $I$ , é igual a zero). O núcleo de  $^{13}\text{C}$ , porém, tem como o núcleo de  $^1\text{H}$ , número de spin igual a  $\frac{1}{2}$ . Como, entretanto a abundância natural de  $^{13}\text{C}$  é só 1,1 % da de  $^{12}\text{C}$  e sua sensibilidade apenas 1,6 % da do hidrogênio, a sensibilidade total do núcleo de  $^{13}\text{C}$ , em comparação com  $^1\text{H}$ , é cerca de 1/5700 (ATKINS, 2004).

Em virtude da baixa abundância natural do isótopo  $^{13}\text{C}$ , a atividade na espectroscopia de RMN de  $^{13}\text{C}$  somente desenvolveu-se, efetivamente, a partir do começo dos anos 1970 (vinte anos após o rápido desenvolvimento da espectroscopia de  $^1\text{H}$ ) quando foi introduzida a técnica pulsada com transformada de Fourier, a qual possibilitou a irradiação simultânea de todos os núcleos de  $^{13}\text{C}$ . A medida espectroscópica de RMN de  $^{13}\text{C}$ , pode ocorrer tanto com amostras na forma líquida quanto na sólida (SILVERSTEIN, 2000).

Na espectroscopia de RMN de  $^{13}\text{C}$  com amostras no estado líquido, elas são usualmente dissolvidas em solventes deuterados e o sinal de  $^{13}\text{C}$  do tetrametilsilano (TMS) é usado como referência interna. Os deslocamentos químicos observados vão até cerca de 240 ppm a partir do TMS, uma faixa aproximadamente 20 vezes maior do que a dos espectros de  $^1\text{H}$  comuns ( $\sim 12$  ppm). Em consequência desta larga faixa e de os sinais desacoplados serem agudos, as impurezas são facilmente detectadas e espectros de misturas podem ser analisados (SILVERSTEIN, 2000).

Para aplicação RMN de  $^{13}\text{C}$  aos sólidos, a principal dificuldade encontrada reside na baixa resolução características das amostras sólidas. Para obter um espectro com melhor resolução, problemas como o alargamento de linha devido tanto às interações dipolares heteronucleares ( $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ ) como à anisotropia do deslocamento químico, e a baixa sensibilidade devido aos longos tempos de relaxação spin-rede dos núcleos de  $^{13}\text{C}$  devem ser resolvidos. No estado líquido estas interações anisotrópicas estão presentes, mas são eliminadas pelo rápido movimento isotrópico das moléculas. Com o desenvolvimento de técnicas novas e sofisticadas tais como: desacoplamento de alta potência, técnica de rotação segundo o ângulo mágico (MAS, do inglês *Magic Angle Spinning*) e polarização cruzada (CP, do inglês *Cross Polarisation*) estas limitações da RMN no estado sólido têm sido melhoradas (ATKINS, P. e PAULA, J. 2004).

Utilizando o desacoplamento de alta potência é possível eliminar o alargamento das linhas no espectro RMN de  $^{13}\text{C}$  provocado principalmente pelas interações dipolares entre os



núcleos de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ . Estas interações surgem devido à influência dos hidrogênios que são abundantes e originam um campo local sob os núcleos de  $^{13}\text{C}$ . O desacoplamento é feito através da redução do momento magnético dos núcleos de  $^1\text{H}$  que são abundantes, pela aplicação de sua radiofrequência de ressonância, que mantém o momento dipolo magnético em alta rotação.

A técnica de MAS elimina os vestígios da interação dipolar  $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$  e minimiza os efeitos da anisotropia sobre o deslocamento químico através da rotação da amostra segundo o ângulo de  $54,74^\circ$ , denominado ângulo mágico, em relação ao campo aplicado (Figura 2.11).

A CP permite aumentar a sensibilidade dos núcleos de  $^{13}\text{C}$  e reduzir os longos tempos de relaxação spin-rede, mediante transferência da magnetização de spins de núcleos abundantes como  $^1\text{H}$  para os spins de núcleos pouco abundantes como os de  $^{13}\text{C}$ , contribuindo também para o aumento da resolução pelo incremento de magnetização total.

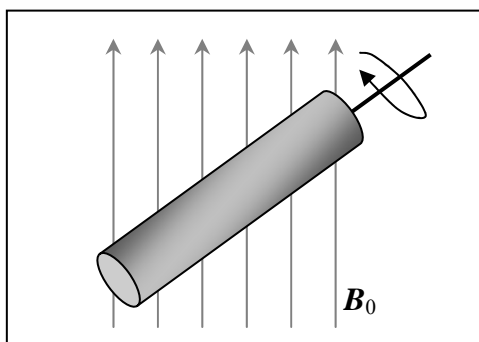


FIGURA 2.11 – Na rotação no ângulo mágico, a amostra gira fazendo um ângulo de  $54,74^\circ$  com a direção do campo magnético ( $B_0$ ) aplicado. O movimento rápido sobre este ângulo promedia em zero as interações dipolo-dipolo e as anisotropias do deslocamento químico (ATKINS, P. e PAULA, J. 2004)

Através da RMN de  $^{13}\text{C}$  podem-se identificar as diferentes vizinhanças dos respectivos núcleos, frente a um campo magnético aplicado e, que possibilitam caracterizar a estrutura das SH. No entanto, os espectros característicos das SH (Figura 2.12) apresentam bandas largas e sobreposição, o que impede uma atribuição exata. Porém, existe a possibilidade de se obter informação semiquantitativa mediante a integração dos picos largos e a associação com grupos funcionais característicos das SH. As principais regiões do espectro semiquantificadas por RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido em AH, mostrados na Figura 2.12, são pertinentes aos grupos alifáticos (0-45 ppm), N-alifáticos e metoxílicos (45-60 ppm), O-alifáticos (60-110 ppm), aromáticos (110-140 ppm), O-aromáticos (140-160 ppm), carboxílicos (160-185 ppm) e carbonílicos (185-230 ppm).

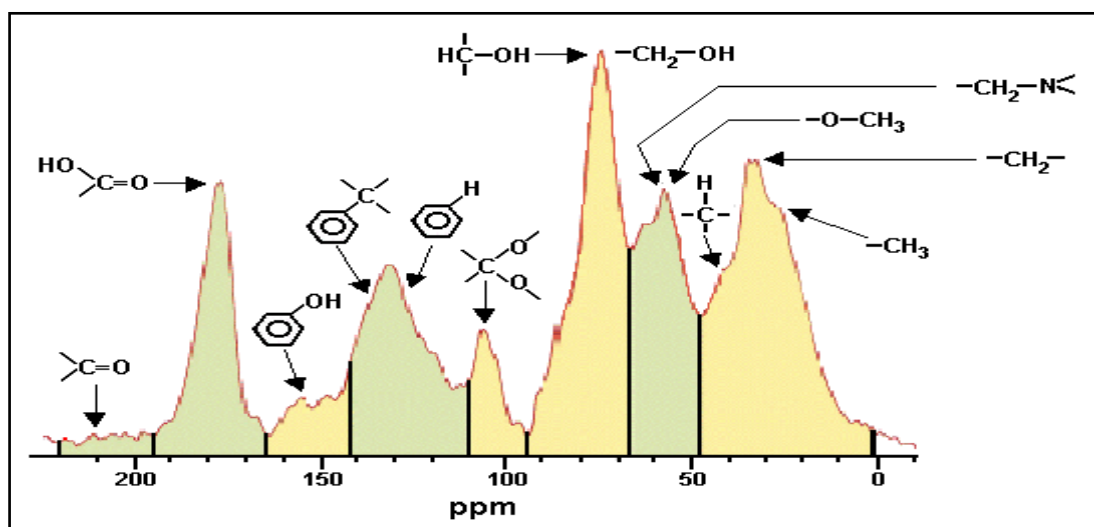


FIGURA 2.12 – Espectro RMN de  $^{13}\text{C}$  típico de AH mostrando os grupos funcionais associados às bandas correspondentes (SKJEMSTAD *et al.*, 1998)

## 2.9.4 – Espectroscopia de Fluorescência em Solução

Luminescência é a emissão de luz por uma substância quando submetida a algum tipo de estímulo. A luminescência é formalmente dividida em duas categorias, fluorescência e fosforescência, dependendo da natureza do estado excitado. O processo de luminescência de uma molécula está diretamente relacionado com os processos de absorção e dissipação de energia da mesma. A energia absorvida é dependente da diferença de energia entre o estado fundamental e o estado excitado (LAKOWICZ, 2004).

Quando a energia absorvida pela molécula não é suficiente para sua ionização ou dissociação, ela permanecerá no estado excitado por um determinado tempo, chamado tempo de vida do estado excitado. Logo em seguida, ela emite energia na forma de calor e/ ou luz. Essa luz emitida por esse processo é o que chamamos de luminescência. Dependendo do tempo de vida do estado excitado o processo é denominado fluorescência ou fosforescência (Figura 2.13). Estados excitados com tempos de vida curtos ( $10^{-7}$ - $10^{-9}$  s), no qual envolvem transições singleto-singleto, levam a processos chamados de fluorescentes. Os processos denominados fosforescentes requerem um estado intermediário tripleto, devido a reversão do spin entre o estado fundamental e o excitado, o qual retarda a emissão levando a estados excitados com tempo de vida longo ( $> 10^{-6}$  s) (LAKOWICZ, 2004).

No estado excitado singleto, o elétron excitado está emparelhado ao elétron que permaneceu no estado fundamental. Dessa forma, o spin retorna ao estado fundamental com a emissão de um fóton. Esse processo de transição eletrônica possui um tempo característico

próximo a 10 ns ( $10 \times 10^{-9}$  s) sendo denominado fluorescência. Para que ocorra determinada transição, a energia absorvida deve ser equivalente à diferença entre o estado eletrônico inicial e o excitado. Este valor representa o  $\lambda$  de excitação e é característico de uma estrutura molecular em particular. No retorno ao estado fundamental, o elétron emite energia que pode manifestar-se em forma de calor ou emissão de fótons com um  $\lambda$  específico, chamado  $\lambda$  de emissão, logo a energia emitida é menor que a absorvida por causa das perdas na forma de calor ou vibrações moleculares (LAKOWICZ, 2004).

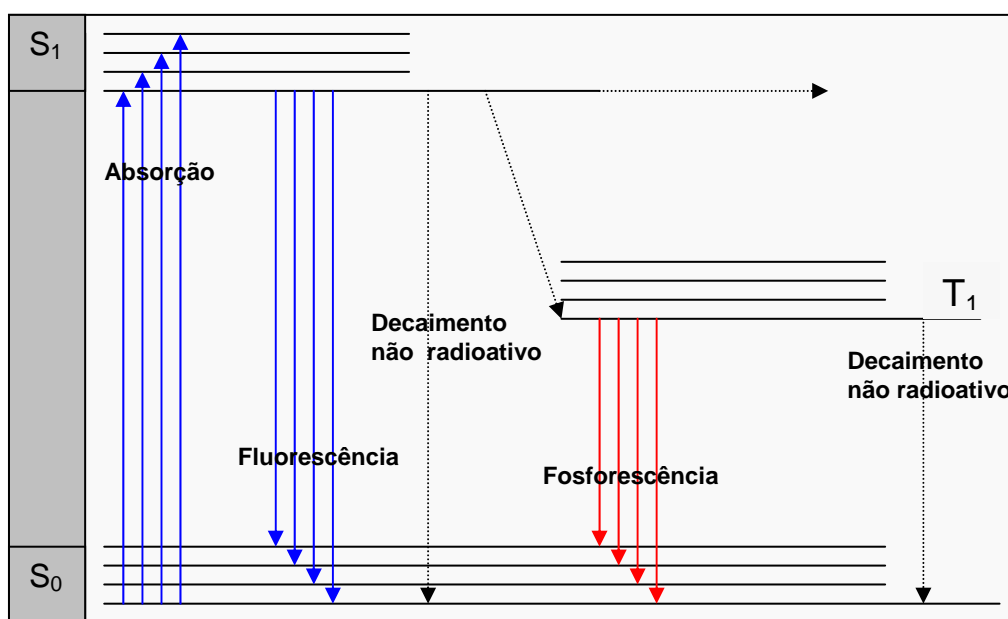


FIGURA 2.13 – Níveis vibracionais e eletrônicos de uma molécula orgânica, e caminhos de decaimento radiativos e não radiativos (NARIMOTO, 2006)

Na fluorescência, transições típicas envolvem a promoção de elétrons não ligantes ( $n$ ) ou ligantes ( $\pi$ ) para orbitais antiligantes  $\pi^*$ . Esses são altamente prováveis em compostos denominados fluoróforos, os quais são sistemas moleculares contendo átomos com pares de elétrons não compartilhados, tais como, oxigênio e nitrogênio e em estruturas aromáticas e/ou alifáticas conjugadas de insaturações com alto grau de ressonância, isto é, deslocalização eletrônica, como é observado para as SH do solo (SENESI *et al.*, 1991).

Não existe uma definição clara com respeito à composição química e estrutural da MO presente no solo. Sabe-se, por exemplo, que os principais constituintes desse material são as SH. Porém, a estrutura química dessas substâncias ainda é indefinida, pois existem grandes variações com relação a sua composição elementar, massa molecular, e concentração e tipos de grupos funcionais.

O uso da fluorescência nos estudos das SH está apoiado pela presença de várias estruturas fluorescentes intrínsecas à molécula húmica e seus precursores, particularmente aromáticos, fenóis e grupos quinona (SENESI *et al.*, 1991). Estruturas fluorescentes nativas ou incorporadas às SH constituem apenas uma pequena porção da macromolécula húmica, entretanto, sua variedade e a dependência de suas propriedades do meio de origem, permitem a obtenção de informações sobre seu comportamento fluorescente e sobre a natureza química da SH (SENESI e LOFFREDO, 1999). O comportamento fluorescente médio da molécula é o resultado da soma de todos os espectros individuais dos diferentes fluoróforos da molécula.

A espectroscopia de fluorescência tem sido usada para avaliar o índice de humificação da matéria orgânica do solo (ZSOLNAY *et al.*, 1999; KALBITZ *et al.*, 2000; OHNO, 2002; ZOLNAY, 2002; MILORI *et al.*, 2002; CARVALHO *et al.*, 2004). Para tal, têm sido propostas metodologias utilizando modalidades de emissão e de varredura sincronizada.

#### **2.9.4.1 – Modalidade de Emissão**

Em um espectro de emissão costuma-se definir um comprimento de onda específico para excitação das moléculas da amostra. O comprimento de onda da radiação incidente é definido a partir do espectro de absorção da amostra, sendo aquele no qual houve maior intensidade de radiação absorvida. Mantendo-se fixo o comprimento de onda de excitação é possível obter os comprimentos de onda e as intensidades das emissões provenientes da relaxação dos componentes da amostra.

ZSOLNAY *et al.*, (1999) propuseram uma metodologia para avaliar o índice de humificação da matéria orgânica do solo, utilizando um espectro de emissão de fluorescência com excitação em 240 nm. O índice de humificação, foi avaliado com base na área do espectro, a qual foi dividida em quatro partes. Dividindo-se a quarta parte do espectro pela primeira, obteve-se o índice, denominado  $A_4/A_1$ . Os autores utilizaram essa relação a despeito de que moléculas mais aromáticas fluorescem em comprimentos de onda maiores do que moléculas com estruturas mais alifáticas, as quais necessitam de maior energia para fluorescer. Dessa forma, a razão entre essas duas áreas é um indicativo de quão humificada (maior aromaticidade) está a MOS. Um espectro de fluorescência de emissão de uma solução de AH, segundo a metodologia de ZSOLNAY *et al.*, (1999), é apresentado na Figura 2.14.

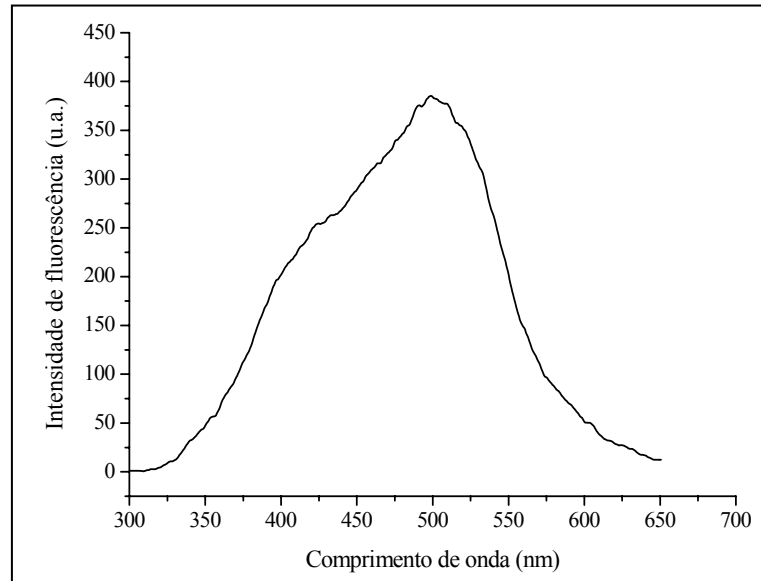


FIGURA 2.14 – Espectro de emissão de fluorescência de AH extraídos de solo tratado com lodo de esgoto, obtido segundo metodologia de ZSOLNAY *et al.*, (1999). Comprimento de onda de excitação  $\lambda_{exc} = 240$  nm (NARIMOTO, 2006)

MILORI *et al.*, (2002) propuseram utilizar como índice de humificação a área do espectro de emissão medido com o maior comprimento de onda correspondente ao máximo de intensidade de fluorescência obtido no espectro de excitação. Esta seria uma medida relativa à quantidade de compostos mais condensados e mais aromáticos. Denominou-se  $A_{465}$  o índice de humificação determinado segundo MILORI *et al.*, (2002), que neste caso é igual a integral da região total do espectro de emissão (Figura 2.15) da amostra com comprimento de onda de excitação  $\lambda_{exc} = 465$  nm.

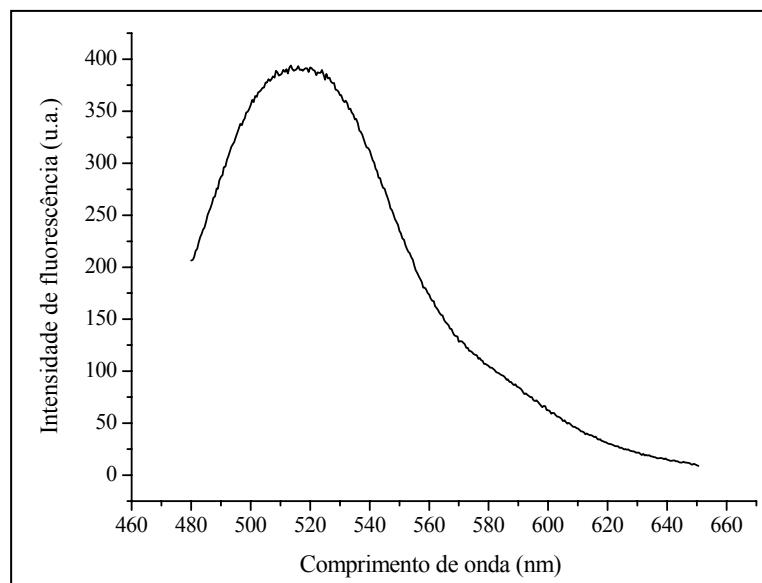


FIGURA 2.15 – Espectro de emissão de fluorescência de AH extraídos de solo tratado com lodo de esgoto, obtido segundo metodologia de MILORI *et al.*, (2002). Comprimento de onda de excitação  $\lambda_{exc} = 465$  nm (NARIMOTO, 2006)

#### 2.9.4.2 – Modalidade Sincronizada

O espectro de varredura sincronizada é obtido monitorando-se os comprimentos de onda de excitação e emissão de forma sincronizada com um intervalo constante entre ambos, onde  $\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{exc}$ . Ao utilizar a modalidade de emissão síncrona para estudar amostras contendo uma grande variedade de compostos orgânicos, tais como as SH, aumentam-se as chances de ocorrência de sobreposição de picos, podendo gerar distorções no sinal de fluorescência. No entanto, a resolução de um espectro de fluorescência pode ser comprimida ou expandida conforme diminui-se ou aumenta-se o valor de  $\Delta\lambda$  (VO-DINH, 1978). KALBITZ *et al.*, (2000) sugeriram um valor de  $\Delta\lambda = 55$  nm para avaliar o índice de humificação da matéria orgânica do solo. Nesta metodologia, os espectros de fluorescência sincronizados das SH apresentam dois picos em torno de 360 e 400 nm e um ombro próximo a 470 nm. Esse perfil muda dependendo do índice de humificação da matéria orgânica, podendo ser avaliado medindo-se a razão entre a intensidade de fluorescência em 400 e 360 nm ou em 470 e 360 nm. A Figura 2.16 mostra um espectro de fluorescência sincronizada obtido para uma solução de ácido húmico extraído de solo tratado com lodo de esgoto.

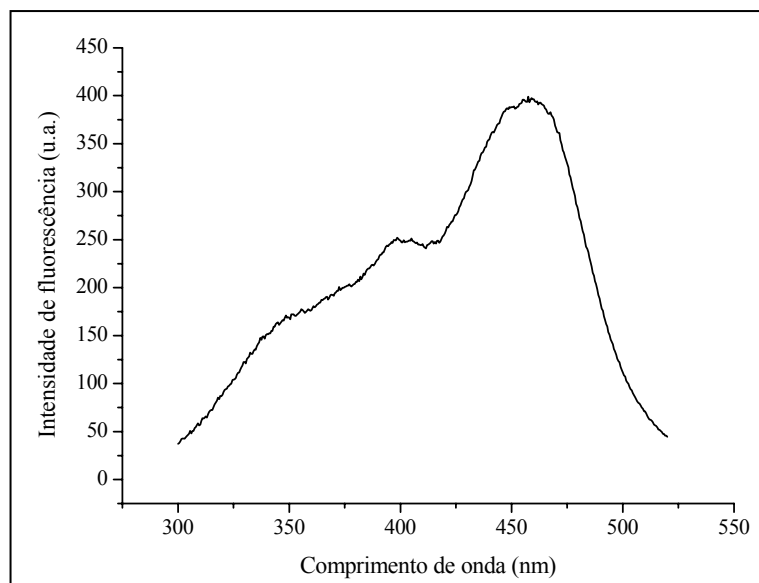


FIGURA 2.16 – Espectro de varredura sincronizada de AH extraídos de solo tratado com lodo de esgoto, obtido segundo metodologia de KALBITZ *et al.*, (2000).  $\Delta\lambda = 55$  nm (NARIMOTO, 2006)

### 2.9.5 – Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

O princípio básico da FIL é o mesmo exposto para fluorescência na sessão anterior. A diferença consiste apenas no fato da excitação do material fluorescente ser feita através de um laser. O uso do laser apresenta vantagens como a intensidade de luz mais alta num comprimento de onda de excitação específico produzindo assim melhor relação sinal-ruído quando comparada à fluorescência induzida por lâmpada, e maior seletividade na excitação tendo portanto, menos fatores de interferência no sinal da fluorescência.

Na Figura 2.17 tem-se um esquema básico da montagem experimental para realizar análises de FIL em amostras opacas usando um laser de argônio (Ar) como fonte de excitação. O prisma na saída do laser possibilita a separação da emissão laser da fluorescência de fundo do gás, permitindo uma excitação “limpa” da amostra. A lente coleta o sinal de fluorescência e focaliza sobre a fenda do monocromador. O filtro elimina a excitação espalhada pela superfície da amostra. O *chopper* serve para modular a luz numa frequência definida que serve de referência para o amplificador *lock-in*. Um sistema de aquisição controla o passo do monocromador e a leitura do sinal do *lock-in* gerando o espectro de emissão da amostra.

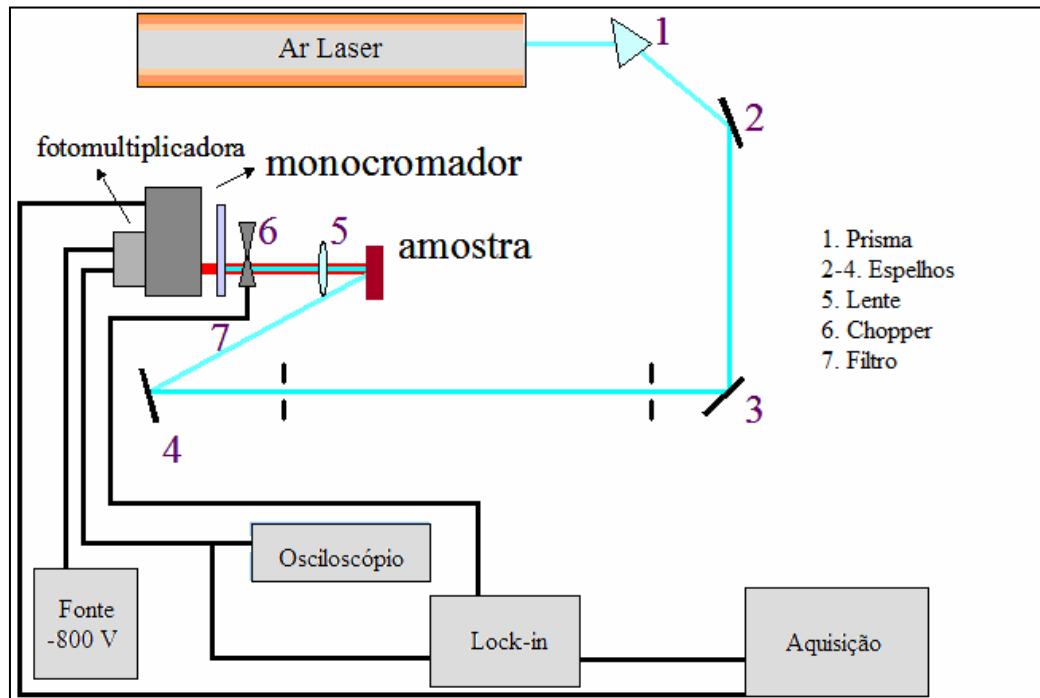


FIGURA 2.17 – Montagem experimental para realização de análises de fluorescência induzida por laser (NARIMOTO, 2006)

A espectroscopia de fluorescência induzida por laser tem se mostrado eficiente na análise da matéria orgânica de solos, fornecendo resultados satisfatórios de forma ágil, limpa e em condições próximas das naturais, visto que as amostras de solo não precisam ser submetidas a um tratamento prévio, como necessário em outras técnicas tais como RMN e RPE entre outras (MILORI *et al.*, 2003; MILORI *et al.*, 2004; MILORI *et al.*, 2006). Para a análise de FIL são utilizadas pastilhas de solo (aproximadamente 1 cm de diâmetro e 2 mm de espessura) prensadas em molde de aço, como apresentado na Figura 2.18A.



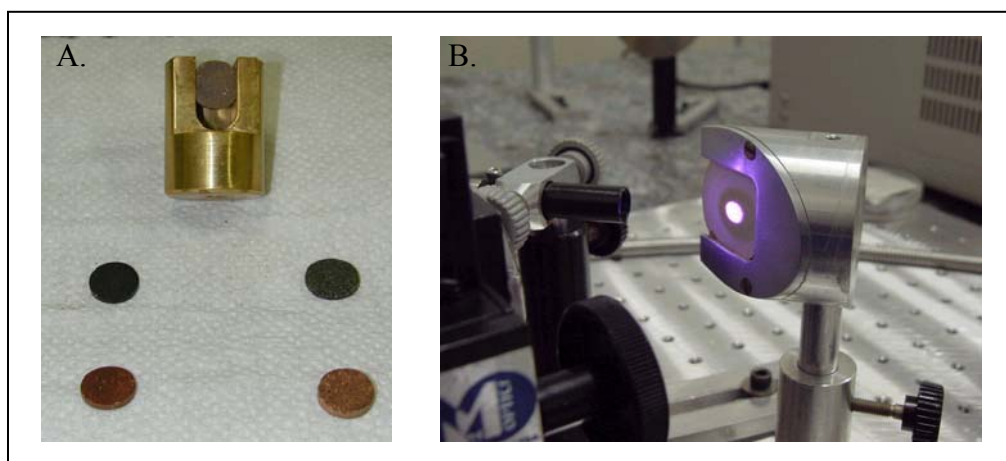


FIGURA 2.18 – A. Pastilhas de solo usadas para obtenção dos espectros. B. laser incidindo sobre uma pastilha de solo

A fluorescência do solo tem origem na MO, pois essa possui grupos funcionais ricos em ligações insaturadas contidas em sistemas rígidos. Esses grupos, denominados fluoróforos, estão presentes principalmente na MO mais humificada, tais como OH fenólicos livres e ligados, estruturas de quinona, grupos carboxílicos ligados e anéis aromáticos.

Utilizando a FIL, MILORI *et al.*, (2004) propuseram para obtenção do índice de humificação, a razão entre o valor da área sob a curva de fluorescência (ACF) com excitação em 458 nm e a porcentagem de carbono orgânico total (COT) presente na amostra de solo,

$$H_{FIL} = ACF/COT$$

a qual visa normalizar a relação entre intensidade de emissão e a concentração de grupamentos fluoróforos presentes na matéria orgânica da amostra.

## 2.10 – Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES)

A espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) é uma técnica analítica que pode ser usada para determinação de elementos em níveis de traços, baseada nos espectros de emissão dos mesmos (VANDECASTEELE e BLOCK, 1993).

O princípio fundamental da emissão atômica envolve a medida da intensidade da radiação eletromagnética na forma de luz emitida por átomos excitados e ou ionizados (ou também por moléculas). Nesse caso, átomos são excitados e/ ou ionizados e ao retornar ao estado fundamental emitem radiação em comprimento de onda específico.

A espectrometria óptica de emissão utiliza esse fenômeno para a determinação quantitativa de elementos (metais e alguns não metais) em uma ampla variedade de amostras (águas, materiais biológicos, clínicas, ambientais, alimentos, geológicos) IDE & NAKAMURA, 2002, TREVIZAN *et al.*, 2003. A amostra pode ser introduzida no plasma nas formas gasosa, líquida ou suspensão. Quando a amostra é introduzida na forma líquida ou de suspensão, geralmente usa-se o princípio de nebulização pneumática.

No nebulizador, ou na saída desse, um gás em alta vazão carrega a amostra para a câmara de nebulização onde as pequenas gotículas (aerossol) formadas são arrastadas e passam através do plasma, onde ocorrem os processos de secagem, atomização, excitação e ionização dos átomos.

O plasma é uma mistura gasosa condutora de eletricidade, parcialmente ionizado que, dependendo da fonte de radiofrequência empregada, pode atingir temperaturas da ordem de 6000 a 11000 °C, sendo esses valores de temperatura elevados, os responsáveis pelos processos de atomização, excitação e ionização citados anteriormente.

A radiação na forma de luz emitida pelos átomos ou íons no plasma é direcionada para o sistema óptico do equipamento onde será separada nos comprimentos de onda específicos que são detectados e quantificados.

Esse método tem sido bastante atrativo ao possibilitar análises multielementares em uma ampla faixa de concentração em uma mesma amostra. A alta temperatura e atmosfera inerte do gás argônio, usado no plasma, diminuem as interferências químicas da matriz, resultando em boa sensibilidade e com baixos limites de detecção (SANTOS, 1999).

## 2.11 – Composição Elementar

A determinação percentual dos elementos carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre em compostos orgânicos e organometálicos é uma das aplicações quantitativas mais importantes da cromatografia com fase gasosa. Usualmente, as amostras (1,0 mg) são pesadas em recipientes de estanho e introduzidas automaticamente em um tubo vertical de quartzo mantido a 1030 °C, pelo qual passa uma corrente constante de hélio. Quando a amostra

penetra no tubo, a corrente de hélio é enriquecida temporariamente por oxigênio e ocorre combustão rápida da amostra. A mistura de gases obtida passa sobre  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  para que a combustão seja quantitativa e sobre cobre, em  $650\text{ }^\circ\text{C}$ , para remover o excesso de oxigênio e reduzir os óxidos de nitrogênio a  $\text{N}_2$ . A mistura de gases passa, finalmente, por uma coluna cromatográfica mantida a  $100\text{ }^\circ\text{C}$  aproximadamente. Os diversos componentes ( $\text{N}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ) são separados e eluídos até um detector de condutividade térmica.

A análise elementar é muito utilizada na tentativa de identificar alterações na composição de SH extraídas de solos sob diferentes tratamentos e manejos, incluindo adição de lodo de esgoto tratado (SENESI *et al.*, 1989; NARIMOTO, 2006; SANTOS, 2006). Valores elevados da razão atômica H/C sugerem estruturas mais alifáticas, enquanto que valores baixos podem ser devidos a estruturas mais aromáticas.

A partir dos valores de composição elementar é possível calcular a razão atômica C/N, a qual indica o grau de incorporação do nitrogênio na estrutura húmica, o estado de humificação da MOS, e também tem sido utilizada para verificar a taxa de degradação de resíduos orgânicos no solo e em compostos orgânicos produzidos a partir de resíduos vegetais (DA SILVA *et al.*, 2004).

O processo de degradação de resíduos orgânicos no solo é acompanhado pela conversão de C e N em tecido microbiano. Neste processo, parte do carbono é liberada como  $\text{CO}_2$ . O teor de N em resíduos orgânicos, refletido pela razão C/N, é de grande importância na magnitude de dois processos opostos: mineralização e imobilização. Resíduos com razão C/N superiores a 30 resultam em baixas reservas de N mineral, devido à imobilização por microrganismos. Por outro lado, resíduos com razão C/N inferiores a 20 possibilitam um aumento no nível de N mineral através de sua mineralização (STEVENSON, 1986).

---

### **CAPÍTULO 3 – OBJETIVOS**

O objetivo deste trabalho foi de analisar a composição do efluente gerado pela fossa séptica biodigestora e sua ação fertilizante no solo, visando:

- compreender melhor a variabilidade da composição do efluente gerado em diversos locais e períodos do ano;
- compreender de forma mais precisa os processos de transformação da matéria orgânica, assim como a sua composição final;
- avaliar a influência do inoculante (bovino e ovino) nas características do efluente e;
- avaliar o impacto gerado na matéria orgânica e a disponibilidade de nutrientes para as plantas após a aplicação do efluente no solo.

## **CAPÍTULO 4 – MATERIAIS E MÉTODOS**

Nesse trabalho analisaram-se amostras de material proveniente das três caixas do sistema da fossa séptica biodigestora; amostras de solo adubados com efluente, com adubação mineral e solos de mata. Foram também analisados os ácidos húmicos extraídos do solo.

### **4.1 – Parte 1: Amostras de Efluente**

#### **4.1.1 – Amostragem e Preparo do Material da Fossa Séptica Biodigestora**

O efluente analisado neste trabalho foi coletado em três sistemas da Fossa Séptica Biodigestora, instalados no Sítio Aparecida, na Fazenda Morro Verde e na Fazenda Santa Cândida.

O Sítio Aparecida é uma pequena propriedade rural, localizada na cidade de São Carlos-SP, na qual desenvolvem-se atividades agrícolas familiares como cultivo de laranjas, e também pecuárias como a criação de gado bovino. Neste Sítio, em 2001, foi instalado o sistema da Fossa em substituição à fossa “negra”. O sistema, mostrado na Figura 4.1 é composto por três caixas de mil litros, as quais são adequadas para promover o tratamento do esgoto doméstico dos habitantes do sítio. Neste sistema é usado esterco bovino como inoculante.



FIGURA 4.1 – Sistema da fossa séptica biodigestora instalado no Sítio Aparecida – São Carlos/SP

A Fazenda Morro Verde localiza-se na cidade de Itirapina-SP. Nesta Fazenda, em abril de 2005, foi instalado no local um sistema da Fossa (Figura 4.2), de caráter experimental, no qual substituiu-se o esterco bovino usado como inoculante, por esterco ovino, visando avaliar e comparar a eficiência do processo de desinfecção. Esse experimento foi feito no intuito de atender as necessidades de tratamento de esgoto em propriedades rurais que não possuem criação de gado bovino, como frequentemente, encontradas na região nordeste.



FIGURA 4.2 – Sistema da fossa séptica biodigestora instalado na Fazenda Morro Verde – Itirapina/SP

Na Fazenda Santa Cândida, pertencente a Sobloco Construtora S.A., foi instalado um sistema da Fossa Séptica Biodigestora em 2003. O sistema foi redimensionado para promover o tratamento do esgoto gerado por quatro famílias (Figura 4.3), sendo utilizadas quatro caixas de cinco mil litros cada, ao invés de três caixas de mil litros, a qual é apropriada para uma família de no máximo cinco pessoas.



FIGURA 4.3 – Sistema da fossa séptica biodigestora instalado na Fazenda Santa Cândida – São Carlos/SP

No sistema instalado na Fazenda Santa Cândida coletou-se somente o material da caixa 3 para avaliar e comparar suas características com o efluente gerado nos sistemas de dimensões menores (composto de três caixas de 1000 litros), não sendo feita portanto, a análise do material presente nas demais caixas deste sistema.

Para os outros dois sistemas (da Fazenda Morro Verde e Sítio Aparecida) foram feitas três coletas, em outubro de 2005, julho e outubro de 2006. Coletaram-se dois litros do material de cada caixa (Figura 4.2) para análise da matéria orgânica, um litro para análise de parâmetros físico-químicos (Tabela 5.1, p. 51) realizada no Laboratório de Saneamento da Universidade de São Paulo (USP).

As amostras destinadas à análise de matéria orgânica foram congeladas e liofilizadas. O sólido obtido foi então moído em moinho criogênico e reservado.

As amostras foram nomeadas de acordo com o tipo de esterco usado como inoculante, com a época de coleta e também com relação as três caixas do sistema da fossa. A Tabela 4.1 apresenta a nomenclatura adotada para as amostras de efluente.

TABELA 4.1 – Nomenclatura adotada para as amostras de efluente

Nomenclatura	Data da coleta	Inoculante	Caixa	Local de Coleta		
1O1	1 <sup>a</sup> Outubro/2005	Esterco ovino	1	Itirapina		
1O2			2			
1O3			3			
2O1	2 <sup>a</sup> Julho/2006		1			
2O2			2			
2O3			3			
3O1	3 <sup>a</sup> Outubro/2006		1			
3O2			2			
3O3			3			
1B1	1 <sup>a</sup> Outubro/2005	Esterco bovino	1	São Carlos		
1B2			2			
1B3			3			
2B1	2 <sup>a</sup> Julho/2006		1			
2B2			2			
2B3			3			
3B1	3 <sup>a</sup> Outubro/2006		1			
3B2			2			
3B3			3			
2FSC3*	2 <sup>a</sup> Julho/2006				3	

\*Fazenda Santa Cândida

Em julho de 2006 fez-se também uma coleta do lodo de esgoto presente nas três caixas do sistema. O lodo foi congelado, liofilizado e posteriormente moído em moinho criogênico. A nomenclatura adotada para as amostras de lodo é descrita na Tabela 4.2.

TABELA 4.2 – Nomenclatura adotada para as amostras de lodo de esgoto

Nomenclatura	Data da coleta	Inoculante	Caixa	Local de Coleta
L2O1	2 <sup>a</sup> Julho/2006	Esterco Ovino	1	Itirapina
L2O2			2	
L2O3			3	
L2B1		Esterco Bovino	1	São Carlos
L2B2			2	
L2B3			3	
L2FSC3*			3	

\*Fazenda Santa Cândida

## 4.1.2 – Análises do Efluente

### 4.1.2.1 – Parâmetros Físico-químicos

Os parâmetros físico-químicos (Tabela 5.1, p.51) foram determinados segundo metodologias descritas no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater no Laboratório de Saneamento da USP em São Carlos.

### 4.1.2.2 – Condutividade e pH

Uma estimativa do teor total de sais em solução é obtida pela medida de sua condutividade elétrica (CE). A CE do efluente foi obtida após sua filtração. Para tal, calibrrou-se o condutivímetro (Condutivímetro Horiba, modelo ES-12E) com solução de KCl 0,01 mol L<sup>-1</sup>, sendo que a condutividade elétrica dessa solução é de 1,41 dS m<sup>-1</sup> a 25 °C. Lavou-se a célula de condutividade três vezes com água e encheu-a com o efluente filtrado. Usou-se um termostato para manter a temperatura a 25 °C.

Foram feitas análises de pH das amostras de efluente filtrado, utilizando eletrodo de vidro combinado.

### 4.1.2.3 – Análise Elementar e Teor de Cinzas

Foram feitas as análises químicas de C, N e H das amostras do sólido obtido após liofilização do efluente, usando equipamento Fisons - Modelo: EA1108/CHNS-O pertencente ao Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos. O oxigênio foi obtido por diferença %O = 100 - (%C + %N + %H + %S + %Cinzas).



O cálculo da razão C/N e H/C foi efetuado a partir dos percentuais de C, N e H divididos pelas suas respectivas massas atômicas.

Para a determinação de cinzas, aproximadamente 20 mg de amostras de efluente liofilizado foram calcinados durante duas horas a 700 °C em cadinho de platina, pré-seco e pesado. O teor de cinzas foi calculado, após a queima da matéria orgânica, por diferença entre a massa final do cadinho (cadinho calcinado) e inicial (cadinho tarado).

#### **4.1.2.4 – Determinação de Macro e Micronutrientes no Efluente por Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES)**

O conteúdo mineral foi obtido através da digestão por via seca de 0,10 g de efluente liofilizado pesadas em cadinho de porcelana. As amostras foram calcinadas em mufla elevando-se a temperatura até 550 °C, na qual permaneceu por duas horas. Após resfriamento até a temperatura ambiente, foram adicionados 10 mL de ácido clorídrico concentrado e aqueceu-se em banho de areia até completa evaporação do ácido. Novamente esperou-se alcançar a temperatura ambiente. Lavaram-se os cadinhos com 5 mL de HCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>, e em seguida com mais 5 mL de água deionizada, transferindo a solução para tubos plásticos com tampa. O volume final de extrato foi de 10 mL, em solução ácida 0,05 mol L<sup>-1</sup>. A digestão foi feita em duplicata. As amostras digeridas foram quantificadas em espectrômetro de emissão ótica com plasma de argônio induzido marca VARIAN, modelo Vista RL.

#### **4.1.2.5 – Análises Espectroscópicas**

##### **4.1.2.5.1 – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)**

As medidas foram feitas segundo metodologia bem conhecida na literatura (STEVENSON, 1994) utilizando um espectrofotômetro de FTIR Perkin Elmer, Paragon 1000 PC, da Embrapa Instrumentação Agropecuária. Os espectros de pastilhas das amostras do efluente liofilizado, preparadas com 1,0 mg de amostra e 100 mg de KBr, foram obtidos a partir de 64 varreduras, com resolução de 4 cm<sup>-1</sup>, no intervalo de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>. Para preparar as pastilhas foi utilizada uma pressão de 10 toneladas

##### **4.1.2.5.2 – Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)**

As medidas de RPE foram feitas segundo metodologia de MARTIN-NETO *et al.*, (1991). A potência de microondas utilizada foi de 2,0 mW para o material da fossa liofilizado. Usou-se amplitude de modulação de 1G<sub>pp</sub> (Gauss pico a pico), frequência de modulação de

100 KHz e 64 varreduras para obtenção dos espectros. Utilizou-se aproximadamente 20 mg de amostra para efetuar ao experimento, as quais foram inseridas em tubos de quartzo com diâmetro interno de 3,5 mm.

As medidas do nível de radicais livres do tipo semiquinona foram feitas utilizando-se método do padrão secundário (CHIEN *et al.*, 1997). A concentração desses radicais ( $\text{spin g}^{-1}$ ) foi obtida através da integral dupla do espectro de RPE, utilizando a aproximação  $I \times \Delta H^2$ , onde I corresponde a intensidade do sinal e  $\Delta H$  a largura de linha tomadas pico a pico (POOLE e FARACH, 1972). Posteriormente comparou-se a um padrão Strong Pitch com concentração de spins conhecida ( $3 \times 10^{15} \text{ spins cm}^{-1}$ ) fornecido pela Bruker, utilizando rubi sintético como padrão secundário (SINGER, 1959; MARTIN-NETO *et al.*, 1994a). A quantidade de radicais livres do tipo semiquinona foi normalizada pela massa de cada amostra.

Para efetuar as medidas utilizou-se um espectrômetro RPE de onda contínua da Bruker, modelo EMX de cavidade retangular, banda X (~ 9,0 GHz), pertencente a Embrapa Instrumentação Agropecuária.

#### 4.1.2.5.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Fizeram-se medidas de RMN de  $^{13}\text{C}$  com amostras sólidas, aproximadamente 300 mg de efluente liofilizado, utilizando-se as técnicas de rotação segundo o ângulo mágico (MAS), amplitude variável (VA) e polarização cruzada (CP) monitorando os núcleos do isótopo  $^{13}\text{C}$ . Foi utilizado um espectrômetro Varian 400 MHz Unity Inova, empregando uma sonda para amostras sólidas da marca Doty, pertencente a Embrapa Instrumentação Agropecuária. A frequência de ressonância foi 100,58 MHz ( $^{13}\text{C}$ ), a banda espectral utilizada para a CP foi de 50 KHz, tempo de contato de 1 ms, tempo de repetição de 500 ms, tempo de aquisição de 0,0128 ms. A janela espectral foi de 0-230 ppm. As amostras foram medidas em rotores de zircônia de 5 mm, com MAS de 6,4 KHz. A rampa no canal de  $^1\text{H}$  foi de 110-60% (em KHz) da condição de Hartman-Hahn (NOVOTNY, 2002). Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm em relação ao TMS e referenciados em relação ao hexametilbenzeno.

As porcentagens de alifaticidade e aromaticidade foram calculadas a partir das áreas dos espectros, segundo STEVENSON (1994):

$$\text{Alifaticidade (\%)} = \frac{\text{Área dos sinais de C alifático 0-110 ppm}}{\text{Área dos sinais de C 0-160 ppm}} \times 100\%$$

$$\text{Aromaticidade (\%)} = \frac{\text{Área dos sinais de C aromáticos 110-160 ppm}}{\text{Área dos sinais de C 0-160 ppm}} \times 100\%$$

## 4.2 – Parte 2: Amostras de Solo

### 4.2.1 – Amostragem e Preparo de Solo

O solo utilizado no experimento foi coletado na Fazenda Santa Cândida em São Carlos. Nesta fazenda, em 2003, foi instalado o sistema da Fossa Séptica Biodigestora para promover o tratamento do esgoto doméstico gerado pelas famílias locais.

Todo o efluente gerado após o processo de desinfecção é usado como adubo orgânico em uma plantação de goiaba da Fazenda. O solo analisado é classificado como Latossolo Vermelho Amarelo fase arenosa. A área de cultivo compreende aproximadamente nove hectares, os quais recebem aplicação de efluente três vezes ao ano, exceto em uma rua do goiabal, que é adubada somente com adubo do tipo NPK. Em toda a área cultivada é feita correção da acidez do solo com calcário.

A coleta foi feita em agosto de 2006. Coletaram-se as amostras na área de projeção da copa das frutíferas utilizando trado holandês, nas camadas de 0-10, 10-20 e 20-40 cm, de solos submetidos à adubação mineral do tipo NPK, solos adubados com efluente e de solo de uma mata nativa próxima ao goiabal. Foram coletadas amostras simples em cinco pontos diferentes para se obter a amostra composta representativa da área. Os solos foram acondicionados em bandejas plásticas, e secos à sombra. Em seguida foi realizada a limpeza manual para retirada das raízes e restos de plantas e posteriormente passado em peneira de 0,5 mm. A nomenclatura adotada para as amostras de solo é descrita na Tabela 4.3.

TABELA 4.3 – Nomenclatura adotada para as amostras de solo

Nomenclatura	Descrição	Profundidade (cm)
CE1	Solo adubado com efluente	0-10
CE2		10-20
CE4		20-40
NPK1	Solo com adubação mineral – NPK	0-10
NPK2		10-20
NPK4		20-40
M1	Solo de mata	0-10
M2		10-20
M4		20-40

Todas as amostras de solos foram submetidas a um processo de extração e fracionamento químico das substâncias húmicas por diferença de solubilidade, seguindo a

metodologia descrita pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) descrito no item 4.3.1. p.47.

## **4.2.2 – Análises do Solo**

### **4.2.2.1 – Condutividade e pH do Extrato do Solo**

Para determinar a condutividade das amostras de solo usou-se um método desenvolvido pelo Laboratório de Salinidade dos EUA, o qual extrai sais solúveis em água com base na relação água /solo (VAN RAIJ, 2001).

Para a obtenção dos extratos, adicionou-se 100 cm<sup>3</sup> de solo seco. Em seguida adicionou-se água deionizada até o ponto de saturação. Deixou-se em repouso por uma hora. Utilizando um funil de Buchner, filtrou-se a mistura recolhendo a solução em um frasco plástico com tampa. O condutivímetro foi calibrado com solução de KCl 0,01 mol L<sup>-1</sup>, sendo que a condutividade elétrica dessa solução é de 1,41 dS m<sup>-1</sup> a 25 °C. Lavou-se a célula de condutividade três vezes com água e encheu-a com o extrato do solo. Usou-se um termostato para manter a temperatura a 25 °C. As medidas foram feitas em duplicata.

Para a determinação do pH do solo foi misturado 10 cm<sup>3</sup> de terra fina seca ao ar (TFSA) com 25 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup>. As amostras foram agitadas por 15 minutos e deixadas em repouso durante duas hora. Em seguida, procedeu-se a leitura utilizando um eletrodo de vidro combinado.

### **4.2.2.2 – Análise de Macro e Micronutrientes Disponíveis no Solo**

A determinação dos nutrientes disponíveis no solo foi feita segundo a metodologia adotada pelo Instituto Agrônomo de Campinas, descrita por VAN RAIJ (2001).

#### **4.2.2.3.1 – Extração de Macronutrientes (Ca, Mg, K, P) com Mistura de Resinas Trocadora de Íons**

##### **a) Preparo de Soluções-padrão**

Foi preparada uma solução-padrão-estoque de cálcio, magnésio, potássio e fósforo. Essa solução contém, por litro, 50,0 mmol<sub>c</sub> de Ca<sup>2+</sup>, 10,0 mmol<sub>c</sub> de Mg<sup>2+</sup>, 3,0 mmol<sub>c</sub> de K<sup>+</sup> e 40,0 mg de P dissolvidos em solução 0,8 mol L<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub>Cl e 0,2 mol L<sup>-1</sup> de HCl.

Transferiu-se 0, 1, 2, 3, 4 e 5 mL da solução-estoque para balões volumétricos de 50 mL, identificados, respectivamente, por A, B, C, D, E e F. Completou-se os volumes com solução de NH<sub>4</sub>Cl 0,8 mol L<sup>-1</sup> em HCl 0,2 mol L<sup>-1</sup>.

### **b) Preparo dos Extratos**

Transferiu-se 2,5 cm<sup>3</sup> de terra para um frasco plástico cônico de 80 mL. Acrescentou-se 25 mL de água e uma esfera de vidro; tampou-se o frasco e agitou-o durante 15 minutos para promover a desagregação do solo. Em seguida, retirou-se a esfera de vidro e adicionaram-se 2,5 cm<sup>3</sup> de resina, medida com cachimbo provida de fundo de malha de poliéster. Fechou-se o frasco e agitou-o durante 16 horas, em agitador circular horizontal, a uma velocidade de 220 rpm. No dia seguinte, abriram-se os frascos e transferiu-se, com um jato de água, a suspensão de solo e resina para uma peneira com malha de poliéster de 0,4 mm de abertura. Lavou-se a resina com um mínimo de água possível, até parar de sair argila. Virou-se a peneira sobre um funil colocado em cima de um frasco plástico, de 100 mL. Transferiu-se toda a resina da peneira para o frasco, usando exatamente 50 mL de solução de NH<sub>4</sub>Cl 0,8 mol L<sup>-1</sup> em HCl 0,2 mol L<sup>-1</sup>. Transferiram-se também os 50 mL das soluções-padrão A, B, C, D, E e F, para frascos plásticos de 100 mL e adicionou-se 2,5 cm<sup>3</sup> de mistura de resinas a cada uma delas (essas soluções foram empregadas na construção da curva de calibração para cada elemento). Deixaram-se as suspensões em repouso por 30 minutos, para permitir a evolução do gás carbônico. Em seguida, fecharam-se os frascos e agitou-se por uma hora, a 220 rpm.

Os extratos foram utilizados para as determinações de cálcio, magnésio, potássio e fósforo. As quantificações de Ca, Mg foram feitas utilizando Espectrômetro Absorção Atômica por chama - marca VARIAN, modelo EspectraAA 800; o potássio foi medido em Fotômetro de Chama, marca Micronal modelo B262 e o fósforo foi quantificado em sistema FIA com Espectrofotômetro VIS, marca FEMTO, modelo 432, sendo esses equipamentos pertencentes à Embrapa Pecuária Sudeste-São Carlos.

**4.2.2.3.2** – Extração de Micronutrientes (Cu, Fe, Mn, Zn) Usando Solução de DTPA em pH 7,3

**a) Preparo da Solução Extratora DTPA** – ácido dietilenotriaminopentaacético (DTPA  $0,005 \text{ mol L}^{-1}$ ) + trietanolamina (TEA  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) + cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ), a pH 7,30

Adicionou-se em um Becker aproximadamente 200 mL de água deionizada, 1,96 g de DTPA e 14,9 mL de trietanolamina; agitou-se até completa dissolução. Em seguida, adicionou-se 1,47 g de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Transferiu-se a solução para um balão volumétrico de 1 L e completou-se o volume com água deionizada. Corrigiu-se o pH para  $7,30 \pm 0,05$  com ácido clorídrico  $4,0 \text{ mol L}^{-1}$ .

#### **b) Preparo dos Extratos**

Mediu-se  $20 \text{ cm}^3$  de solo, com auxílio de um molde tipo cachimbo, em frascos cônicos de polietileno e adicionou-se 40 mL da solução extratora de DTPA. Os frascos foram tampados e agitados durante duas horas a 220 rpm. Após a filtração da suspensão os extratos estavam prontos para as análises dos metais.

Os micronutrientes (Cu, Fe, Mn, Zn) disponíveis no solo foram quantificados em espectrômetro de absorção atômica por chama - marca VARIAN, modelo EspectraAA 800, pertencente a Embrapa Pecuária Sudeste-São Carlos.

#### **4.2.2.3 – Determinação do Carbono Orgânico Total**

Para a determinação da porcentagem do carbono orgânico total (COT) presente nos solos utilizou-se o equipamento Total Organic Carbon Analyzer, modelo TOC-V, marca Shimadzu, acoplado ao Solid Sample Module SSM-500A, marca Shimadzu, pertencente ao laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química de São Carlos da USP.

#### **4.2.2.4 – Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (FIL)**

Para as análises de FIL, as amostras de solo foram colocadas em um porta amostra com janela de quartzo com 1 cm de diâmetro.

A excitação da fluorescência foi feita com um laser de argônio (Coherent – modelo Innova 90C-458nm – 300 mW), sintonizado na linha de 458 nm com uma potência de 300 mW. A fluorescência das amostras foi coletada por uma lente convergente e focalizada sobre

a fenda do monocromador da marca CVI (120 g mm<sup>-1</sup> e “blaze” em 500 nm). A detecção é feita através de uma fotomultiplicadora Hamamatsu com pico de resposta espectral em 530 nm. O sinal da fotomultiplicadora foi amplificado e retificado por um amplificador *Lock-in* e em seguida enviado para o sistema de aquisição de dados, controlado por um microcomputador.

Os espectros foram obtidos com janela espectral de 470-650 nm e resolução igual a 0,5 nm.

As medidas foram feitas em duplicata, utilizando um Instrumento de FIL pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária.

### **4.3 – Parte 3: Amostras de Ácidos Húmicos Extraídos do Solo**

#### **4.3.1 – Extração e Fracionamento de Ácidos Húmicos do Solo**

As substâncias húmicas (SH) do solo foram extraídas segundo SWIFT *et al.*, (1996), partindo-se de 200 g de TFSA de amostra, após ter sido passada em peneira de 0,5 mm.

O valor de pH de cada amostra foi ajustado para 1-2 com adição de HCl 1 mol L<sup>-1</sup>. O volume da solução foi ajustado com HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> até atingir uma concentração final com uma relação de 10 mL de líquido por 1g de TFSA. A solução foi agitada eventualmente durante uma hora e, após deixar a solução em repouso, separou-se o sobrenadante por sifonação. O sobrenadante separado que seria utilizado para extração de ácidos fúlvicos (AF), foi descartado após neutralização.

Ao solo residual foi adicionado NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>, resultando no final uma relação solo-solução 1:10. A solução foi agitada durante 4 horas. A seguir, a suspensão ficou em repouso por 16 horas e o sobrenadante foi isolado através de uma centrifugação (10000 rpm – 10 min) e reservado para posterior acidificação. O material insolúvel, denominado humina, também foi descartado.

O sobrenadante isolado foi acidificado com HCl 6,0 mol L<sup>-1</sup>, com agitação simultânea até atingir pH 1,0 e mantido novamente em repouso por 16 horas. Em seguida, a solução foi centrifugada (10000 rpm – 10 min) para separar o AH (precipitado) e as frações de AF, sendo que as frações de AF foram descartadas.

A fração de AH foi redissolvida através da adição de um pequeno volume conhecido de KOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Adicionou-se 1,5 g KCl sólido, atingindo uma concentração de 0,3 mol

$L^{-1}[K^{+}]$ . Após, centrifugou-se a solução sob alta velocidade (15000 rpm – 10 min) para que os sólidos suspensos fossem removidos.

O AH foi então reprecipitado, adicionando-se HCl 6,0 mol  $L^{-1}$  com agitação simultânea até que fosse atingido pH 1,0-1,5, e após, a suspensão foi mantida em repouso por 16 horas. Centrifugou-se a solução (10000 rpm – 10 min) e o sobrenadante foi então descartado. O precipitado (AH) foi suspenso em solução HCl 0,1 mol  $L^{-1}$  + HF 0,3 mol  $L^{-1}$  num recipiente plástico e agitado durante 16 horas a temperatura ambiente.

A seguir a solução foi centrifugada (10000 rpm – 10 min) e o precipitado foi transferido para uma membrana de diálise (Spectra/Por 6000 – 8000Da), preparada segundo a metodologia de MC PHIE (1971), utilizando água deionizada. Procedeu-se a diálise contra água deionizada até que a água de diálise apresentasse teste negativo de  $Cl^{-}$  com nitrato de prata ( $AgNO_3$ ). Para isso, tal procedimento foi mantido durante aproximadamente cinco dias, fazendo-se a troca da água deionizada duas vezes por dia.

Após a diálise, as amostras foram congeladas e liofilizadas e o sólido obtido (AH) foi reservado para posteriores análises.

### **4.3.2 – Análises dos Ácidos Húmicos**

#### **4.3.2.1 – Análise Elementar e Teor de Cinzas**

A análise elementar e o teor de cinzas para as amostras de AH foram feitos conforme descrito no item 4.1.2.3.

#### **4.3.2.2 – Análises Espectroscópicas**

##### **4.3.2.2.1 – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)**

As análises de infravermelho das amostras de AH foram feitas conforme descrito no item 4.1.2.5.1.

##### **4.3.2.2.2 – Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)**

As medidas de RPE foram feitas segundo metodologia de MARTIN-NETO *et al.* (1991). A potência de microondas utilizada foi de 0,2 mW para as amostras de AH. Usou-se



amplitude de modulação de 1G<sub>pp</sub> (Gauss pico a pico), frequência de modulação de 100 KHz e 16 varreduras para obtenção dos espectros. Utilizou-se aproximadamente 20 mg de amostra para efetuar ao experimento, as quais foram inseridas em tubos de quartzo com diâmetro interno de 3,5 mm.

As medidas do nível de radicais livres do tipo semiquinona nos ácidos húmicos foram feitas utilizando-se método do padrão secundário (CHIEN *et al.*, 1997). A concentração desses radicais (spin g<sup>-1</sup>) foi obtida através da integral dupla do espectro de RPE, utilizando a aproximação  $I \times \Delta H^2$ , onde I corresponde a intensidade do sinal e  $\Delta H$  a largura de linha tomadas pico a pico (POOLE e FARACH, 1972). Posteriormente comparou-se a um padrão Strong Pitch com concentração de spins conhecida ( $3 \times 10^{15}$  spins cm<sup>-1</sup>) fornecido pela Bruker, utilizando rubi sintético como padrão secundário (SINGER, 1959; MARTIN-NETO *et al.*, 1994). A quantidade de radicais livres do tipo semiquinona foi normalizada pela massa de cada amostra.

Para efetuar as medidas utilizou-se um espectrômetro RPE de onda contínua da Bruker, modelo EMX de cavidade retangular, banda X (~ 9,0 GHz), pertencente a Embrapa Instrumentação Agropecuária.

#### 4.3.2.2.3 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

As análises de RMN de <sup>13</sup>C das amostras de AH foram feitas conforme descrito no item 4.1.2.5.2.

#### 4.3.2.2.4 – Espectroscopia de Fluorescência em Solução

Soluções estoque de 200 ppm foram preparadas dissolvendo-se 2,0 mg de AH em 10,0 mL de solução de NaHCO<sub>3</sub>. Em seguida, a partir destas, foram preparadas soluções de concentração 20 ppm, sendo que o pH da solução resultante ficou em torno de 8. As amostras foram colocadas em cubeta de quartzo multifacetada com tampa de teflon e analisadas a temperatura ambiente utilizando um espectrômetro de luminescência Perkin Elmer LS50B pertencente a Embrapa Instrumentação Agropecuária. As análises foram feitas em duplicatas.

Os espectros de fluorescência foram adquiridos nos modos de emissão e varredura sincronizada, segundo as metodologias propostas por ZSOLNAY *et al.*, (1999), MILORI *et al.*, (2002) e KALBITZ *et al.*, (2000).

a) Modalidade de Emissão

Na metodologia proposta por ZSOLNAY *et al.*, (1999), obtiveram-se os espectros de emissão com excitação em 240 nm, com intervalo de varredura entre 300 e 700 nm e filtro de 290 nm. Para determinar o índice de humificação denominado  $A_4/A_1$ , o espectro foi dividido em quatro partes. A área sob o maior quarto, entre 570 e 641 nm ( $A_4$ ) foi dividida pela área do menor quarto, entre 356 e 432 nm ( $A_1$ ).

Na metodologia proposta por MILORI *et al.*, (2002), foram obtidos os espectros de emissão com excitação em 465 nm, intervalo de varredura entre 480 e 700 nm e com filtro aberto. O índice de humificação denominado  $A_{465}$  foi determinado a partir da integral da região total dos espectros de emissão das amostras com comprimento de onda de excitação  $\lambda_{exc} = 465$  nm.

b) Modalidade de Sincronizada

Utilizando a metodologia de KALBITZ *et al.*, (2000), foram obtidos espectros de varredura sincronizada entre 300 e 520 nm simultaneamente com excitação e emissão com filtro aberto e diferença de comprimento de onda  $\Delta\lambda = 55$  nm para as amostras de ácidos húmicos extraídos do solo. A determinação do índice de humificação foi feita a partir da razão entre as intensidades de fluorescência em 456 e 374 nm.

## **CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 – Caracterização do Efluente**

#### **5.1.1 – Parâmetros Físico-químicos**

Na Tabela 5.1 estão listados os dados obtidos para o efluente (caixa 3 do sistema da fossa), das coletas 2 e 3, feitas em julho/2006 e outubro/2006, respectivamente.

TABELA 5.1 – Parâmetros físico-químicos das amostras de efluente da caixa 3\*

<b>Parâmetros</b>	<b>2O3</b>	<b>3O3</b>	<b>2B3</b>	<b>3B3</b>	<b>2FSC3</b>
<b>pH</b>	8,05	8,14	8,67	8,61	7,73
<b>DQO</b> (mgO <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	638	576	605	528	252
<b>DBO<sub>5</sub></b> (mgO <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	411	344	191	316	153
<b>N-NO<sub>3</sub></b> (mgN L <sup>-1</sup> )	0,86	2,02	0,66	3,27	3,31
<b>N-NH<sub>4</sub></b> (mgN L <sup>-1</sup> )	562	517	517	427	269
<b>N.Total</b> (mgN L <sup>-1</sup> )	614	672	568	541	287
<b>Fosfato Total</b> (mgPO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> L <sup>-1</sup> )	32	12	78	7	14
<b>Óleo / Graxa</b> (mg L <sup>-1</sup> )	44	34	67	28	39
<b>SST</b> (mg L <sup>-1</sup> )	96	117	134	130	66
<b>SSV</b> (mg L <sup>-1</sup> )	88	89	122	120	64
<b>SSF</b> (mg L <sup>-1</sup> )	8	28	12	10	2
<b>Condutividade</b> (dS cm <sup>-1</sup> )	5,35	4,24	4,63	2,98	2,62

\* Amostras: O – Sistema inoculado com esterco ovino, Fazenda Morro Verde; B – Sistema inoculado com esterco bovino, Sítio Aparecida; FSC – Fazenda Santa Cândida (inoculante esterco bovino); os números iniciais 2, 3 referem-se, respectivamente à ordem das coletas (07/2006 e 10/2006). DQO – Demanda Química de Oxigênio; DBO<sub>5</sub> – Demanda Bioquímica de Oxigênio; SST – Sólidos Suspensos Totais; SSV – Sólidos Suspensos Voláteis; SSF – Sólidos Suspensos Fixos

A Resolução N° 357 do CONAMA de março de 2005 estabelece as condições e padrões de lançamento de efluente em corpos de água. No entanto, o efluente analisado neste trabalho é indicado para uso como adubo orgânico sendo, portanto, disposto em solo. Para efluentes dispostos em solo, a Resolução N° 357 não estabelece valores para tais parâmetros,

somente faz menção no Artigo 29, de que “A disposição de efluentes no solo, mesmo tratados, não poderá causar poluição ou contaminação das águas”. Para que o efluente seja lançado em corpos de água é necessário antes, passar por um filtro de areia para remoção do material suspenso e também redução da DBO (NOVAES *et al.*, 2002).

Na Tabela 5.1 pode-se observar que o processo de biodigestão ao longo das caixas do sistema gera efluente, de caráter alcalino, com valores de pH superiores a 7,70.

Os valores para as concentrações de N-NH<sub>4</sub> (Tabela 5.1) variaram de 269 a 562 mg N L<sup>-1</sup> e para os teores de matéria orgânica, representados pela DQO e DBO<sub>5</sub>, os valores encontram-se na faixa de 153 a 658 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Esses resultados são superiores aos obtidos por METCALF e EDDY (1991) e SOUSA *et al.* (2001), nos quais efluentes de esgotos tratados utilizados em irrigação continham concentrações de nitrogênio amoniacal de 56 a 37 mg N-NH<sub>4</sub> L<sup>-1</sup> e de matéria orgânica (428 mg L<sup>-1</sup> de DQO e 155 mg L<sup>-1</sup> de DBO<sub>5</sub>). No entanto, segundo SOUSA *et al.*, (1998), quando o solo apresenta certa capacidade de armazenamento de nitrogênio (presença de matéria orgânica) pode parecer vantajoso utilizar-se, como adubo orgânico, efluente contendo mais nitrogênio amoniacal que na forma de nitrato, pois as plantas assimilam nitrogênio nas formas de nitrato e íon amônio. Dessa forma, o uso de efluente em culturas tem o mesmo efeito do nitrogênio aplicado na forma de fertilizante.

Os teores de sólidos suspensos fixos e suspensos voláteis são um indicativo da fração mineral e orgânica, respectivamente, presente no efluente. Os valores de SSV apresentaram-se praticamente constantes entre as amostras de um mesmo inoculante. No entanto, quando se comparam as amostras inoculadas com esterco ovino e bovino, nota-se que as amostras 2B3 e 3B3 têm concentração de SSV mais alta. Já a concentração de SSF variou de 8 a 28 mg L<sup>-1</sup>. A amostra 2FSC3 apresentou teores de sólidos bem inferiores aos observados para as demais amostras, possivelmente devido as maiores dimensões deste sistema, o que favorece a diluição desses sólidos.

A formação do efluente é influenciada por vários fatores dentre os quais estão a utilização do esterco (inoculante) recém coletado, sendo que este afeta diretamente o processo de biodigestão, e a mudança na alimentação humana, observada em especial, em épocas mais frias do ano, onde há maior tendência de consumir alimentos gordurosos. A influência deste último pode ser observada nos teores de óleo e graxas provenientes das gorduras e óleos usados na alimentação. Para as amostras 2O3 e 2B3, coletadas em agosto de 2006, esses teores são superiores aos das 3O3 e 3B3 coletadas em outubro de 2006. No geral, a análise dos parâmetros listados na Tabela 5.1 revela uma composição variável do efluente em virtude dos fatores mencionados.

### 5.1.2 – Análise Elementar

Os valores obtidos para composição elementar das amostras dos sólidos obtidos após liofilização do efluente e os respectivos teores de cinzas são apresentados na Tabela 5.2.

TABELA 5.2 – Composição elementar e teor de cinzas em amostras de efluente liofilizado\*

Amostras	C (%)	N (%)	H (%)	O (%)	Cinzas (%)
1O1	17	3	3	52	26
1O2	15	3	3	51	28
1O3	16	2	3	53	26
2O1	17	3	2	29	49
2O2	25	3	4	30	38
2O3	12	3	2	34	49
3O1	12	2	2	30	54
3O2	14	4	2	33	47
3O3	14	3	2	28	53
1B1	21	3	3	54	19
1B2	20	3	3	38	36
1B3	19	3	3	53	22
2B1	14	3	2	34	47
2B2	17	3	2	30	48
2B3	12	2	2	31	53
3B1	13	3	3	32	49
3B2	14	2	3	44	37
3B3	15	2	2	28	53
2FSC3	9	2	1	34	53

\*O – inoculado com estercor Ovino; B – inoculado com estercor Bovino; Os números iniciais 1,2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema. Oxigênio determinado por diferença.

A análise elementar proporcionou informações sobre a distribuição dos elementos químicos principais (C, N, H e O) na matéria orgânica do efluente, na qual não foram observadas diferenças nas concentrações desses elementos com relação ao inoculante utilizado.

Os teores de carbono ao longo das três caixas do sistema variaram de 12 a 25 %, considerando as três coletas analisadas. Os percentuais obtidos para N e H nas amostras foram bastante similares, encontrando-se na faixa de 2-4 %. Já nos teores de O e cinzas observam-se variações significativas, conforme pode ser visto na Tabela 5.2. Os valores obtidos por análise elementar / cinzas variaram aleatoriamente, não sendo observada qualquer tendência ao longo do processo de biodigestão ou mesmo nas três coletas analisadas.

Na Tabela 5.3 estão apresentadas as razões C/N calculadas a partir dos dados obtidos por análise elementar. O material apresenta concentração elevada de compostos nitrogenados, resultando em uma relação C/N baixa. Em virtude disto espera-se que haja uma rápida

mineralização do N-orgânico do efluente e que o N-efluente faça parte do ciclo do nitrogênio tão logo ele atinja o solo (FEIGIN *et al.*, 1991). Assim, a relação C/N deste resíduo é modificada de tal forma a atingir no final a relação C/N da matéria orgânica do solo, geralmente entre 9-14 (LUCHESE, 2002).

A degradação de resíduos orgânicos no solo é acompanhada pela conversão de C e N em tecido microbiano. Esta biomassa, juntamente com os resíduos em decomposição, representa a fase ativa da matéria orgânica do solo e atua diretamente no desenvolvimento das plantas ao liberar N durante o processo de mineralização.

TABELA 5.3 – Razões atômicas C/N e H/C das amostras de efluente liofilizado\*

Amostras	C/N	H/C
1O1	6,6	1,9
1O2	5,8	2,1
1O3	9,3	2,0
2O1	6,6	1,7
2O2	9,7	1,9
2O3	4,7	2,0
3O1	7,0	1,6
3O2	4,1	2,0
3O3	5,4	2,1
1B1	8,2	2,0
1B2	7,8	1,8
1B3	7,4	1,8
2B1	5,4	2,0
2B2	6,6	1,4
2B3	7,0	2,3
3B1	5,1	2,4
3B2	8,2	2,3
3B3	8,8	1,7
2FSC3	5,25	1,3

\*O – inoculado com esterco Ovino; B – inoculado com esterco Bovino; Os números iniciais 1,2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema

A razão H/C representa uma estimativa do grau de saturação das moléculas, sendo que para ácidos húmicos de solo esta razão é em torno de 1,0 (STEVENSON, 1994). Na Tabela 5.3 podem-se observar valores superiores a 1,0 para todas as amostras de efluente analisadas, indicando, dessa forma o caráter alifático da matéria orgânica do efluente.

### 5.1.3 – Macro e Micronutrientes do Efluente

Uma estimativa da composição mineral do efluente é apresentada na Tabela 5.4. O efluente possui quantidades significativas de macronutrientes (K, P, Ca e Mg) e menores de micronutrientes (Fe, Mn, Zn e Cu). Esses nutrientes possivelmente se encontram ligados à matéria orgânica do efluente, sendo liberados de forma gradual para o solo.

TABELA 5.4 – Composição mineral das amostras de efluente liofilizado da caixa 3\*

<b>Elementos (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>1O3</b>	<b>2O3</b>	<b>3O3</b>	<b>1B3</b>	<b>2B3</b>	<b>3B3</b>	<b>2FSC3</b>
<b>Na</b>	179,55 (0,39)	214,94 (5,88)	239,25 (2,70)	210,74 (0,40)	273,19 (6,11)	222,17 (30,43)	231,71 (3,63)
<b>K</b>	134,48 (4,52)	134,06 (6,69)	143,07 (2,03)	109,67 (0,41)	126,93 (2,30)	109,66 (12,46)	117,78 (0,10)
<b>P</b>	44,26 (0,78)	43,00 (1,48)	39,31 (0,18)	43,45 (0,30)	41,13 (1,63)	43,03 (7,26)	67,95 (0,04)
<b>Ca</b>	42,51 (0,42)	36,82 (1,29)	30,14 (0,57)	23,46 (0,00)	17,95 (0,27)	17,24 (2,92)	38,25 (1,24)
<b>Mg</b>	14,57 (0,15)	10,78 (0,35)	8,12 (0,27)	7,62 (0,06)	2,06 (0,26)	4,13 (0,60)	19,47 (0,43)
<b>Fe</b>	0,70 (0,03)	0,30 (0,02)	0,47 (0,02)	0,84 (0,20)	0,15 (0,02)	0,38 (0,24)	0,55 (0,06)
<b>Mn</b>	0,11 (0,00)	0,04 (0,01)	0,02 (0,00)	0,11 (0,00)	0,02 (0,00)	0,06 (0,01)	0,15 (0,00)
<b>Zn</b>	0,26 (0,01)	0,07 (0,01)	0,17 (0,01)	0,40 (0,01)	0,08 (0,01)	0,25 (0,05)	0,15 (0,01)
<b>Cu</b>	0,05 (0,01)	0,03 (0,00)	0,04 (0,01)	0,10 (0,01)	0,04 (0,00)	0,09 (0,03)	0,08 (0,00)

\*O – inoculado com esterco Ovino; B – inoculado com esterco Bovino; FSC – Fazenda Santa Cândida. Os números iniciais 1,2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema. () desvio médio das medidas, n=2

Observaram-se também altas concentrações de sódio, quando comparados com as obtidas para os nutrientes. No entanto, essas concentrações estão dentro da faixa de 50-250 mg L<sup>-1</sup> observada para efluentes secundários de esgoto tratado no mundo, segundo FONSECA (2001), com exceção da amostra 2B3 que apresentou valor superior a 250 mg L<sup>-1</sup>. Geralmente, pelo fato do efluente ser salino (Tabela 5.4), o seu uso como adubo orgânico pode provocar aumento na salinidade no solo. O excesso de sais na zona radicular (independentemente das espécies iônicas presentes) prejudica a produtividade das plantas. Isso ocorre porque a maior

concentração da solução irá exigir da planta mais energia para conseguir absorver água (efeito osmótico), uma energia que será desviada dos processos metabólicos essenciais (BIEROLAI *et al.*, 1984).

## **5.1.4 – Análises Espectroscópicas**

### **5.1.4.1 – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)**

A análise da matéria orgânica do efluente por infravermelho forneceu informações a respeito dos grupos funcionais presentes no material. Analisando os espectros das Figuras 5.1 e 5.2 observa-se que ocorre variação nos grupamentos funcionais da matéria orgânica do efluente, no entanto essa variação não segue uma tendência ao longo do processo de biodigestão (da caixa 1 a 3).

A interpretação dos espectros de FTIR foi feita de acordo com vários estudos encontrados na literatura (SCHNITZER e KHAN, 1978; SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000; NAKANISHI, 1962; PICCOLO e STEVENSON, 1982; BLOOM e LEENHER, 1989; CANELLAS *et al.*, 2001; POLAK *et al.*, 2005).



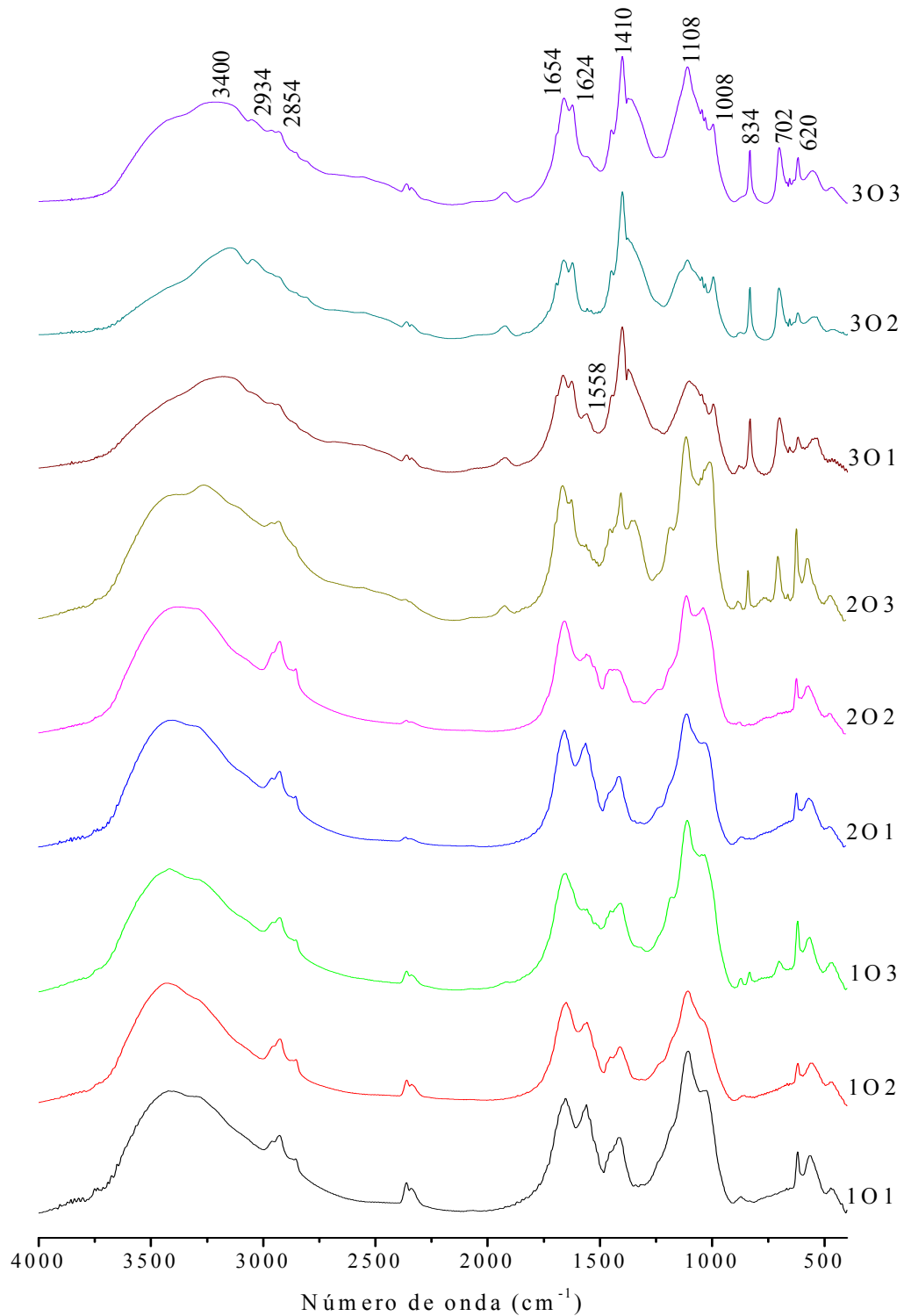


FIGURA 5.1 – Espectros de FTIR do material liofilizado das três caixas do sistema da fossa séptica biodigestora. O – inoculado com esterco Ovino; Os números iniciais 1, 2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema

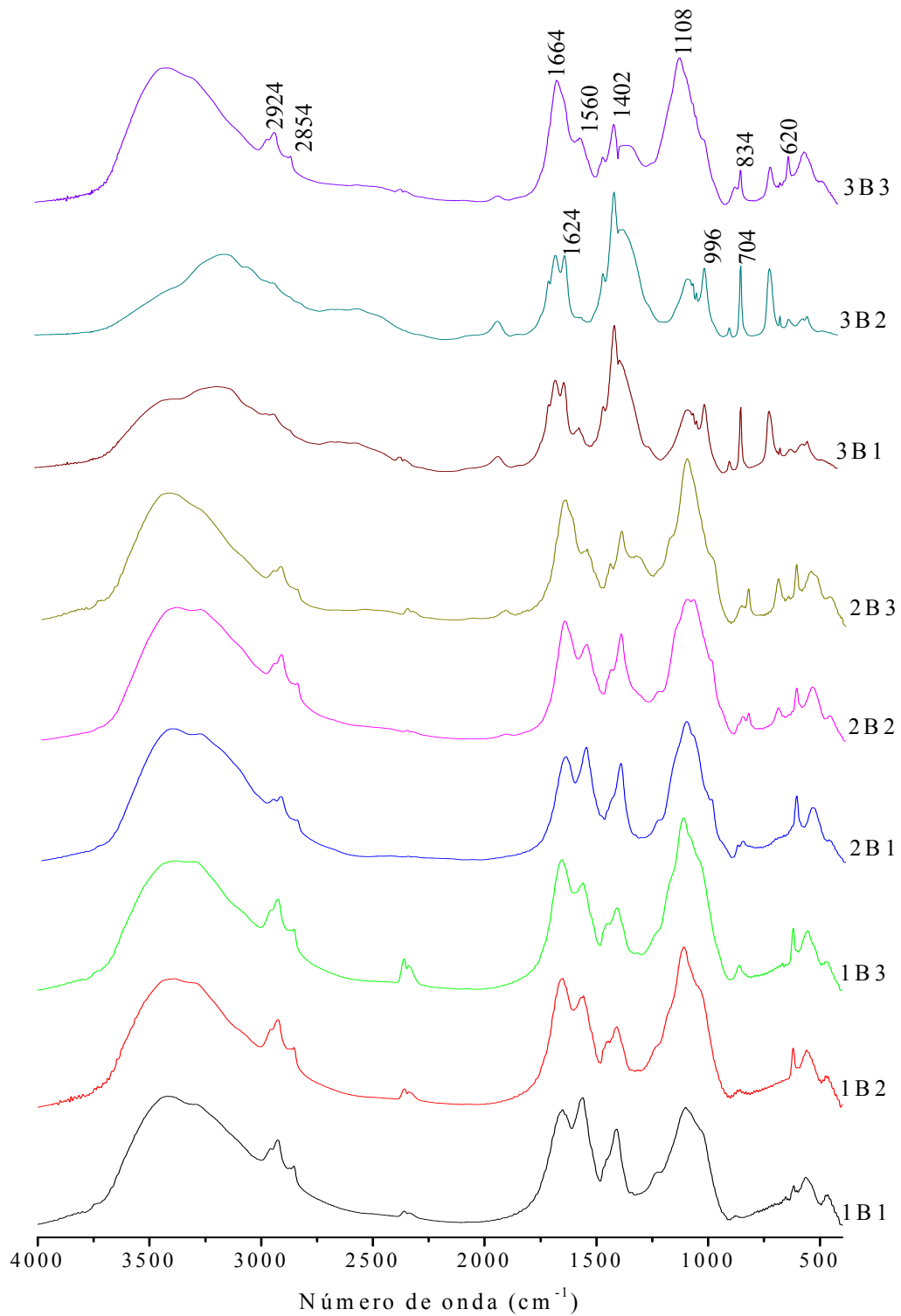


FIGURA 5.2 – Espectros de FTIR do material liofilizado das três caixas do sistema da fossa séptica biodigestora. B – inoculado com esterco bovino; Os números iniciais 1,2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema

Os espectros das amostras apresentaram na região de 3000 a 3500  $\text{cm}^{-1}$  uma banda forte e larga centrada em aproximadamente 3400  $\text{cm}^{-1}$ , que pode ser atribuída ao estiramento  $\nu$  (O-H) da água ligada e a vários grupos contendo OH. Nessa mesma região, observou-se ainda uma segunda banda centrada em torno 3270  $\text{cm}^{-1}$ , que é atribuída ao estiramento  $\nu$  (N-H) de grupos amins presentes nas moléculas.

Na região de 2934 e 2854  $\text{cm}^{-1}$  encontram-se os estiramentos assimétrico e simétrico, respectivamente, de estiramento C-H de grupos  $\text{CH}_2\text{-CH}_3$  (CELI *et al.*, 1997), o que revela a presença de grupos alifáticos da matéria orgânica presente no efluente. No entanto, para as amostras da coleta 3 (Figuras 5.1 e 5.2) essa banda somente é observada na amostra 1B3.

Uma banda centrada em 1660  $\text{cm}^{-1}$  pode ser atribuída ao estiramento  $\nu$  (C=O) de grupos cetonas e a presença de íons carboxilatos (deformação axial assimétrica) (CANELLAS *et al.*, 2001). Para a amostra 2O3 e as da coleta 3 também foi observado uma banda em 1624  $\text{cm}^{-1}$ , atribuída ao estiramento de íons  $\text{COO}^-$  ligados a metais (PICCOLO, 1982).

Uma outra banda, em 1400  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída aos estiramentos  $\nu$  ( $\text{COO}^-$ ) de grupos carboxilatos, sendo estes resultados coerentes com o caráter alcalino do efluente (Tabela 5.1).

Em 1560  $\text{cm}^{-1}$ , é observada (exceto nas amostras da coleta 3) uma banda devido às vibrações do esqueleto em anéis aromáticos (C=C). Nota-se uma tendência à diminuição na intensidade relativa dessa banda (1560  $\text{cm}^{-1}$ ) quando se comparam as amostras no decorrer do processo de biodigestão (da caixa 1 a 3).

Na região de 1100 a 1000  $\text{cm}^{-1}$  observaram-se bandas provenientes do estiramento C-O de polissacarídeos. A forte intensidade nessa região é praticamente constante nas amostras durante todo o processo, em virtude de muitos polissacarídeos apresentarem alta resistência à degradação biológica (PICANÇO *et al.*, 2000).

A região de baixa frequência entre 800 a 400  $\text{cm}^{-1}$  é de difícil identificação, geralmente atribuída a compostos aromáticos. No entanto, nessa região também ocorre absorção de compostos silicatados. Dessa forma, sendo o material analisado não submetido a qualquer processo de purificação pode-se atribuir as bandas observadas nos espectros a impurezas do tipo silicatadas.

#### 5.1.4.2 – Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

A RPE tem sido muito usada na análise da matéria orgânica do solo, fornecendo informações à cerca da concentração de radicais livres do tipo semiquinona (Figura 5.3), sendo esta concentração usada como parâmetro para avaliar o índice de humificação da matéria orgânica.

NOVAES *et al.*, (2006) observaram um aumento na concentração dos radicais semiquinonas para amostras do lodo presente nas caixas do sistema da fossa, indicando assim um aumento na humificação da matéria orgânica. Porém, os fatores envolvidos na formação do efluente, dentre eles o processo de degradação anaeróbia e o curto espaço de tempo do material no sistema, sugerem não haver processo de humificação considerado significativo na parte líquida do sistema. Sendo assim, buscou-se avaliar a concentração desses radicais na matéria orgânica do efluente de forma a compreender as alterações na fração húmica do solo causadas pela sua adição.

Na Tabela 5.5 estão apresentados os resultados obtidos para as concentrações de radicais livres do tipo semiquinona observadas para as amostras do sólido obtido após liofilização do material das caixas.

TABELA 5.5 – Concentração de radicais livres do tipo semiquinona nas amostras de efluente liofilizado\*

<b>Amostras</b>	<b>Radicais livres do tipo semiquinona (spin g<sup>-1</sup> de C (10<sup>17</sup>))</b>
1O1	0,94 ± 0,05
1O2	3,17 ± 0,11
1O3	2,12 ± 0,04
2O1	1,61 ± 0,00
2O2	1,72 ± 0,03
2O3	2,15 ± 0,00
3O1	1,83 ± 0,01
3O2	2,19 ± 0,35
3O3	2,07 ± 0,13
1B1	0,60 ± 0,03
1B2	1,89 ± 0,00
1B3	1,17 ± 0,06
2B1	nd
2B2	1,60 ± 0,08
2B3	2,00 ± 0,02
3B1	1,95 ± 0,22
3B2	1,16 ± 0,16
3B3	1,11 ± 0,06
2FSC3	1,52 ± 0,05

\*O – inoculado com esterco Ovino; B – inoculado com esterco Bovino; FSC – Fazenda Santa Cândida. Os números iniciais 1, 2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema. Potência 2mW. nd – não detectado

Analisando a Figura 5.3, observou-se que não há uma tendência entre as concentrações de radicais livres do tipo semiquinona, as quais variaram aleatoriamente ao longo de processo de biodigestão e também entre as diferentes coletas do efluente. As amostras apresentaram baixas concentrações de radicais semiquinonas, sendo que para a amostra 2B1 não foi detectado sinal quantitativo.

A RPE é uma técnica extremamente sensível e sob condições favoráveis o limite de detecção para centros paramagnéticos encontra-se no intervalo de  $10^{11}$  a  $10^{12}$  spin g<sup>-1</sup>, o que equivale à parte por bilhão (NOVOTNY, 2002). Essa alta sensibilidade é o que possibilita a análise de materiais complexos como resíduos orgânicos não purificados. Considerando o fato de que a intensidade do sinal dos espectros de RPE é proporcional à raiz quadrada da potência (WEIL *et al.*, 1994), aplicou-se potência de 2,0 mW para as amostras de efluente, em virtude da baixa relação sinal / ruído (s/r), visando obter um sinal quantitativo (apropriada relação s/r) de radicais livres do tipo semiquinona. Isto se deve, provavelmente, à heterogeneidade de compostos orgânicos, bem como minerais presentes no efluente. Portanto, os resultados apresentados na Tabela 5.5 não são diretamente comparáveis aos obtidos para os ácidos húmicos (Tabela 5.10), pois para esses, utilizou-se potência de 0,2 mW em virtude da

abundância de centros paramagnéticos e, conseqüentemente maior relação s/r, presentes nos ácidos húmicos.

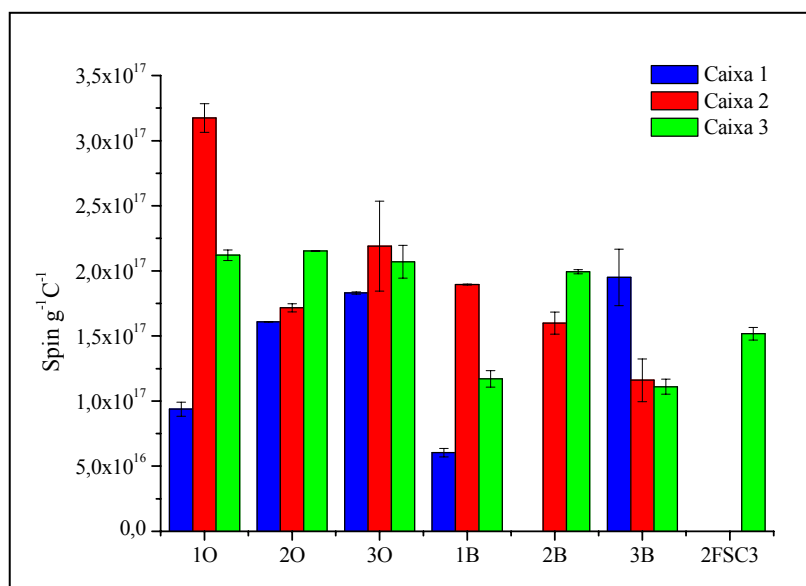


FIGURA 5.3 – Concentração de radicais livres do tipo semiquinona em  $\text{spin g}^{-1}\text{C}^{-1}$  obtida para as amostras do material liofilizado das três caixas do sistema da fossa séptica biodigestora. O – inoculado com esterco Ovíno; B – inoculado com esterco Bovino; 2FSC3 - Fazenda Santa Cândida. Os números iniciais 1, 2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006)

### 5.1.4.3 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Experimentos de RMN de  $^{13}\text{C}$  foram feitos, a fim de se obter informações sobre a composição de grupos funcionais do material presente nas três caixas do sistema da fossa.

Como mencionado no Capítulo 2, a principal dificuldade da aplicação da RMN de  $^{13}\text{C}$  aos sólidos reside na baixa resolução características das amostras sólidas. Problemas como o alargamento de linha devido tanto às interações dipolares heteronucleares ( $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ ) como à anisotropia do deslocamento químico, e a baixa sensibilidade devido aos longos tempos de relaxação spin-rede dos núcleos de  $^{13}\text{C}$  devem ser resolvidos. As técnicas MAS e CP têm possibilitado melhores resultados, diminuindo estas limitações da RMN no estado sólido.

Contudo, os espectros observados para amostras sólidas, como os analisados neste trabalho, apresentam bandas largas e sobrepostas, o que inviabiliza a identificação de linhas da forma que é feita para a RMN no estado líquido. Também são observadas bandas laterais que podem comprometer a quantificação do sinal. Estas bandas ocorrem quando a velocidade de rotação da amostra em torno do ângulo mágico ( $54,74^\circ$ ) é menor que a anisotropia do deslocamento químico (CSA) (PEURAVOURI *et al.*, 2003). Para grupos carbonílicos e

aromáticos, as bandas laterais são ditas de primeira ordem, apresentando valores de intensidade usualmente <10 % da intensidade observada para a banda central. Ainda, são geradas bandas de segunda e terceira ordens, no entanto, estas podem ser negligenciadas, pois apresentam intensidade <1,0 % da banda central. Uma das formas de se minimizar a interferência das bandas laterais é integrando sua área e subtraindo-a da área do espectro. Contudo, neste trabalho não foi feita a subtração dessas bandas laterais nos espectros, somente uma estimativa de sua área, a qual representa em média 2,8 % para as amostras de efluente e lodo.

Porém, existe a possibilidade de se obter informação semiquantitativa mediante a integração de regiões específicas e a associação com grupos funcionais característicos das SH. Os principais grupos detectados por RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido em AH, mostrados na Figura 2.12, são grupos alifáticos (0-45 ppm), N-alifáticos e metoxílicos (45-60 ppm), O-alifáticos (60-110 ppm), aromáticos (110-140 ppm), O-aromáticos (140-160 ppm), carboxílicos (160-185 ppm) e carbonílicos (185-230 ppm).

Nas Figuras 5.4, 5.5, 5.6, 5.7 e 5.8 estão apresentados os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  das amostras liofilizadas de efluente inoculados com esterco bovino ou ovino, e de lodos, coletados no fundo de cada caixa. Os espectros obtidos para as amostras de efluente foram muito similares, apresentaram bandas largas e sobrepostas. A intensidade do pico em aproximadamente 164 ppm, atribuído a C-carboxílico, apresentou grande variação entre as coletas, tanto para esterco ovino quanto bovino. Pôde-se observar ainda, que a matéria orgânica do efluente é rica em carboidratos (pico ~72 ppm), proteínas (~55 ppm) e em outros compostos de caráter alifático indicado pelos picos em aproximadamente 30 e 23 ppm. Baixa intensidade foi observada para carbonos aromáticos, os quais absorvem em torno de 130 ppm.

Os espectros obtidos para os lodos apresentaram menor intensidade nas bandas observadas para os compostos alifáticos (0-45 ppm) em comparação com os obtidos para os sólidos suspensos do efluente. Para o lodo, tanto do sistema inoculado com esterco ovino quanto para bovino, foi observado maior intensidade para o pico referente a carboidratos (~74 ppm) em relação aos demais grupos ao longo do espectro.

As porcentagens obtidas para os grupos funcionais presentes nas amostras de efluente e lodo, calculadas a partir dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (PRESTON, 1996), estão apresentadas nas Figuras 5.9, 5.10, 5.11 e 5.12. As amostras de efluente apresentaram caráter fortemente alifático, enquanto que para o lodo a porcentagem de grupos alifáticos obtida é menor e de grupos aromáticos, ligeiramente maior.

Não foi observada tendência na variação do percentual dos grupos funcionais nas amostras de efluente, o que reforçou os dados obtidos por RPE, os quais indicaram haver composição variável do material ao longo do sistema, assim como nas diferentes coletas.

Analisando os valores médios das porcentagens dos grupos funcionais em cada coleta (Figura 5.10), observou-se que esses valores são muito similares estatisticamente. Dessa forma, não foram observadas variações na matéria orgânica presente no efluente em função do inoculante utilizado (esterco ovino ou bovino) ou mesmo da época em que foram coletados.



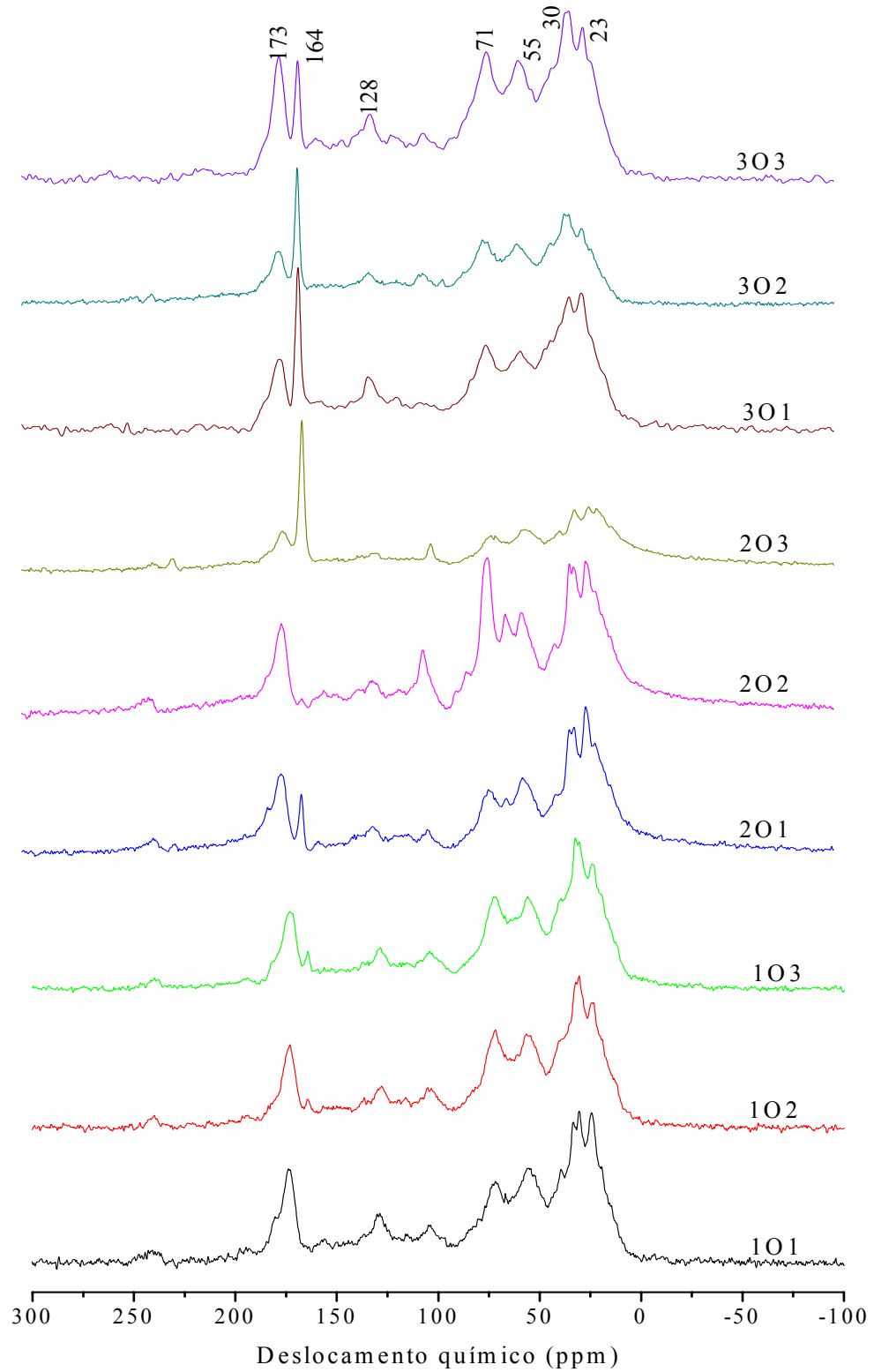


FIGURA 5.4 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de amostras de efluente liofilizado. O – inoculado com esterco Ovino; Os números iniciais 1, 2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema

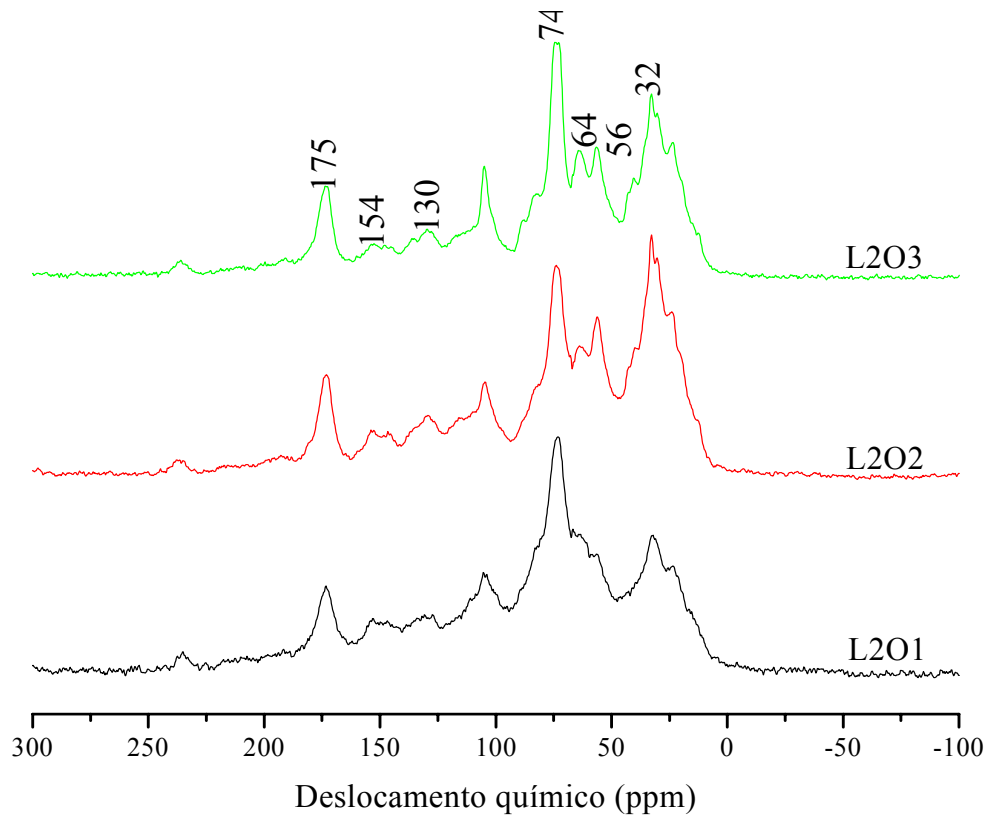


FIGURA 5.5 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de amostras de lodo liofilizado. L2O – lodo do sistema inoculado com esterco Ovino coletado em 07/2006; Os números seguintes à letra referem-se às caixas 1, 2 e 3 do sistema

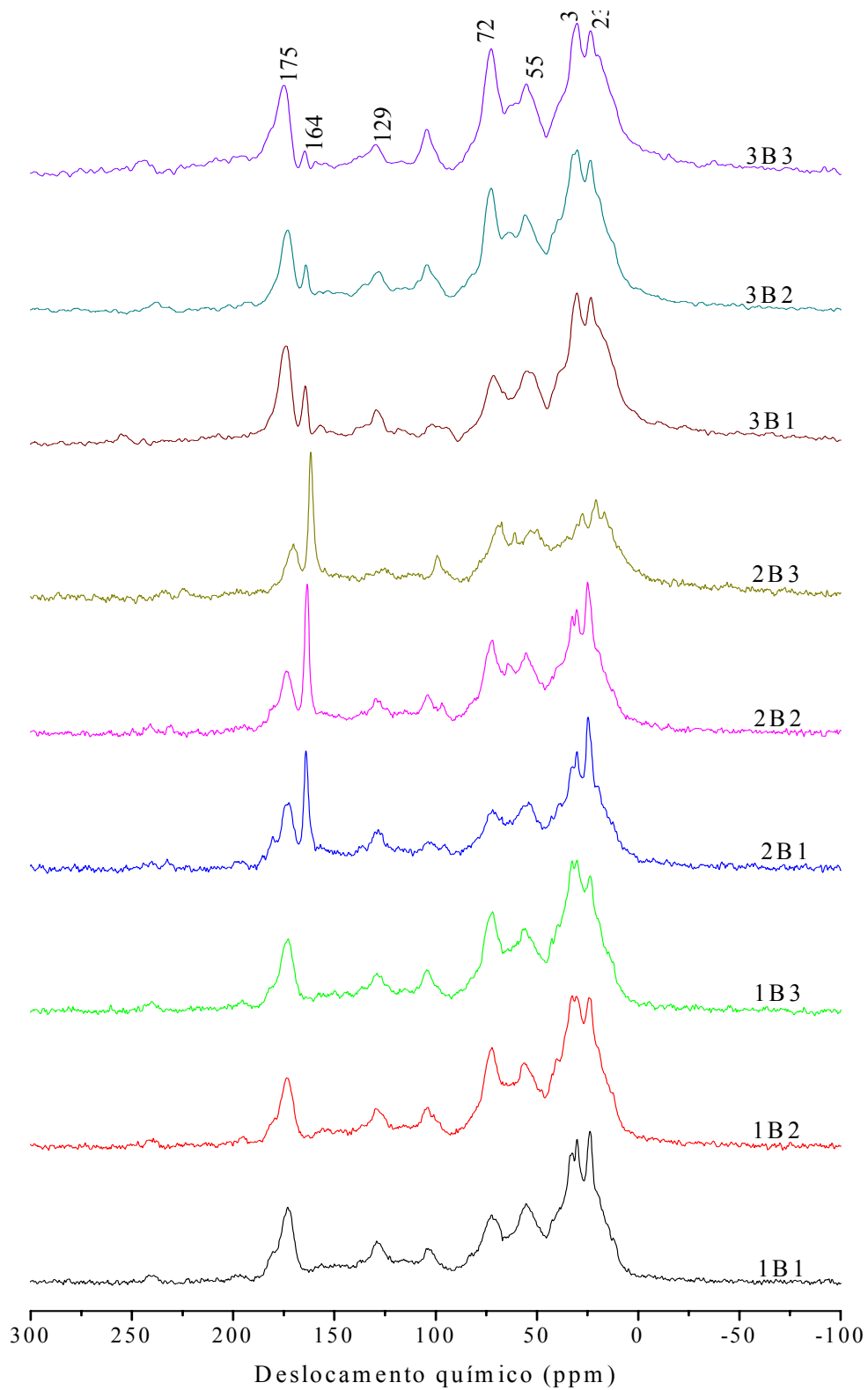


FIGURA 5.6 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de amostras de efluente liofilizado. B – inoculado com esterco Bovino; Os números iniciais 1, 2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema

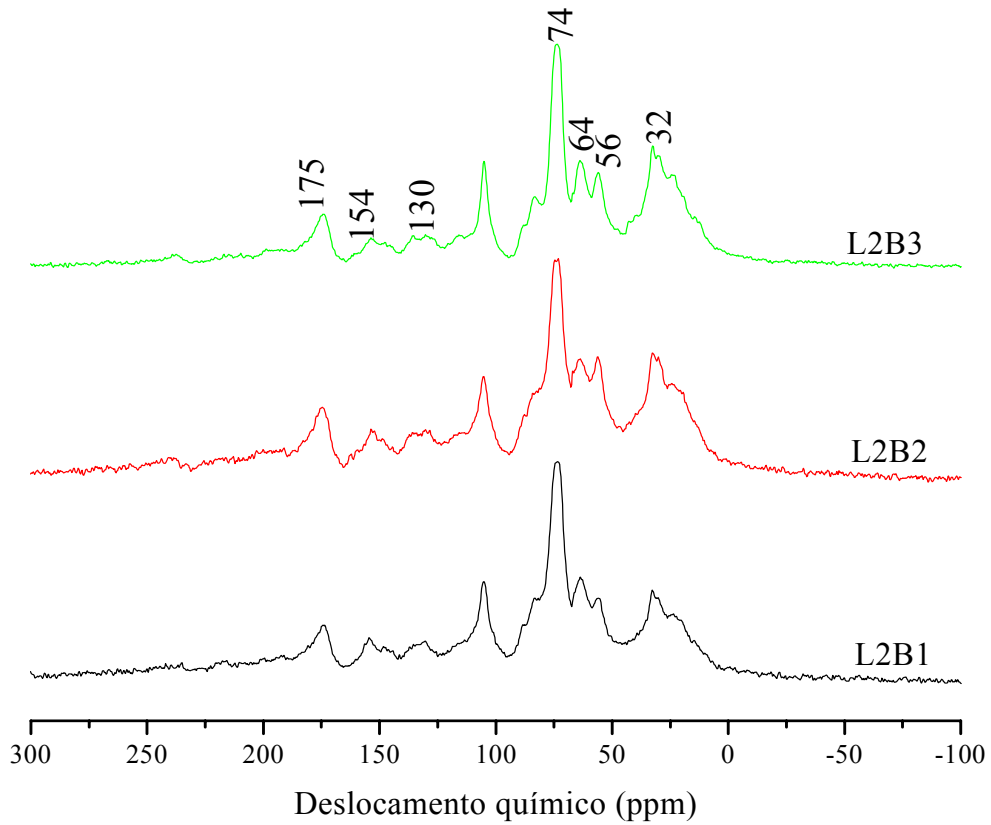


FIGURA 5.7 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de amostras de lodo liofilizado. L2B – lodo do sistema inoculado com estercor Bovino coletado em 07/2006; Os números referem-se às caixas 1, 2 e 3 do sistema

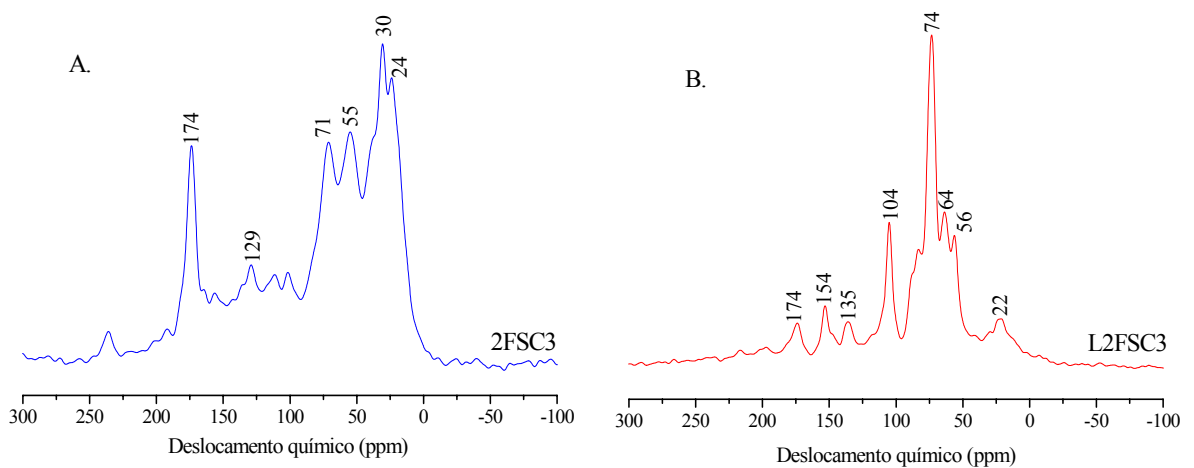


FIGURA 5.8 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de amostras de efluente (A) e lodo (B). 2FSC3 – Fazenda Santa Cândida, caixa 3, coleta 2; L2FSC3 – lodo da caixa 3 do sistema da Fazenda Santa Cândida coletado em 07/2006

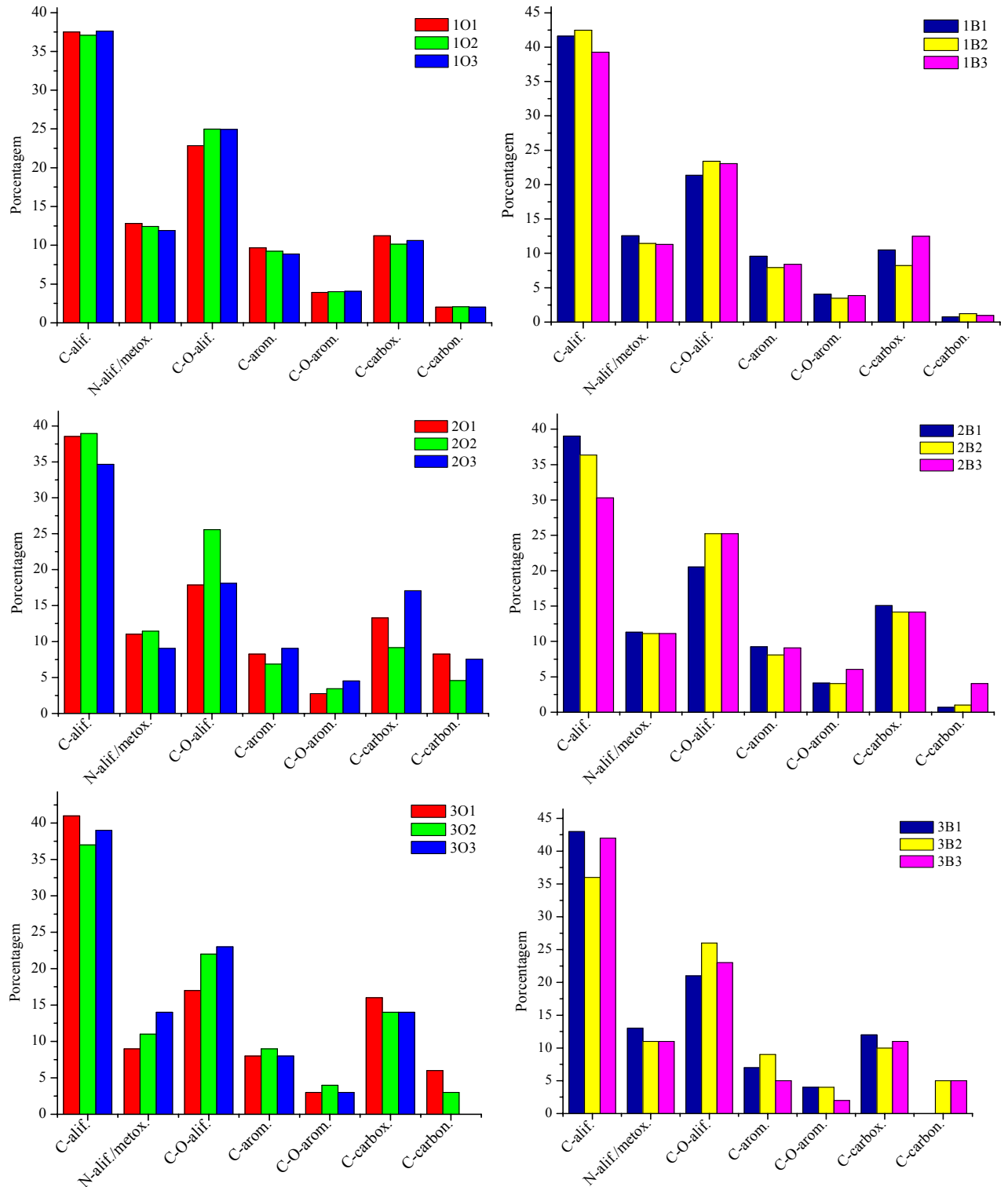


FIGURA 5.9 – Porcentagem dos grupos funcionais obtidas através dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  com VACP/MAS das amostras de efluente de cada caixa e nas três coletas. O – inoculado co esterco ovino; B – inoculado com esterco Bovino; Os números iniciais 1, 2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema

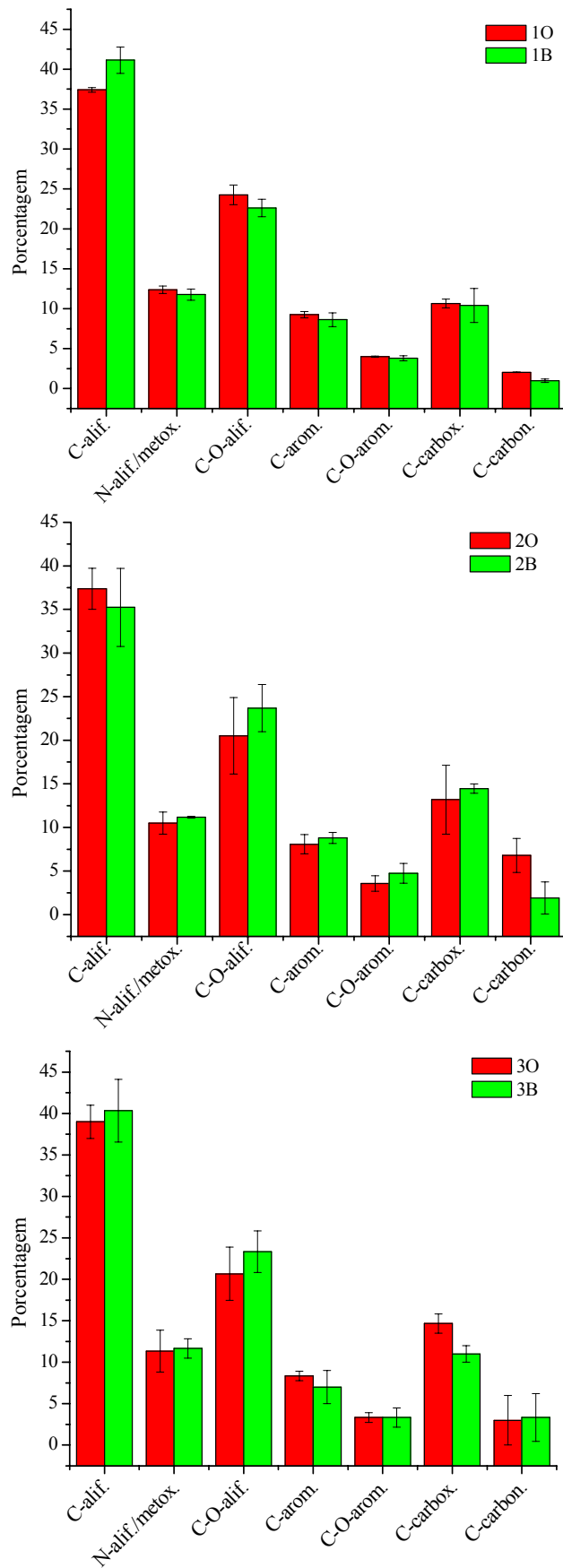


FIGURA 5.10 – Média da porcentagem dos grupos funcionais obtidas através dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  com VACP/MAS das amostras de efluente em cada coleta. O – sistema inoculado com esterco ovino; B – sistema inoculado com esterco Bovino; Os números iniciais 1, 2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006)

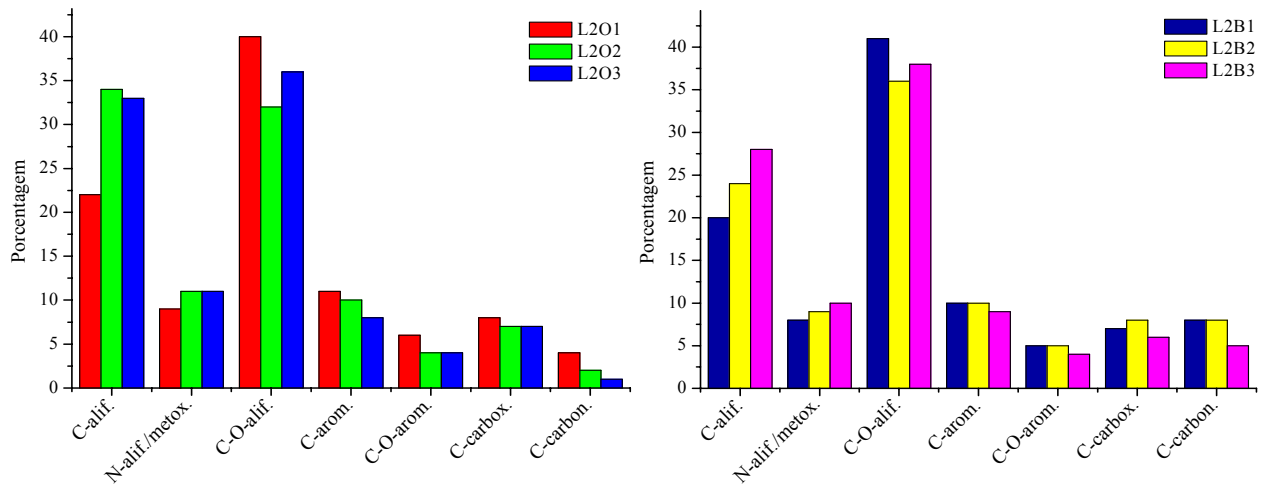


FIGURA 5.11 – Porcentagem dos grupos funcionais obtidas através dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  com VACP/MAS das amostras de lodo coletado em 07/2006. L2O – lodo do sistema inoculado com esterco ovino; L2B – lodo do sistema inoculado com esterco Bovino; Os números seguintes à letra referem-se às caixas 1, 2 e 3 do sistema

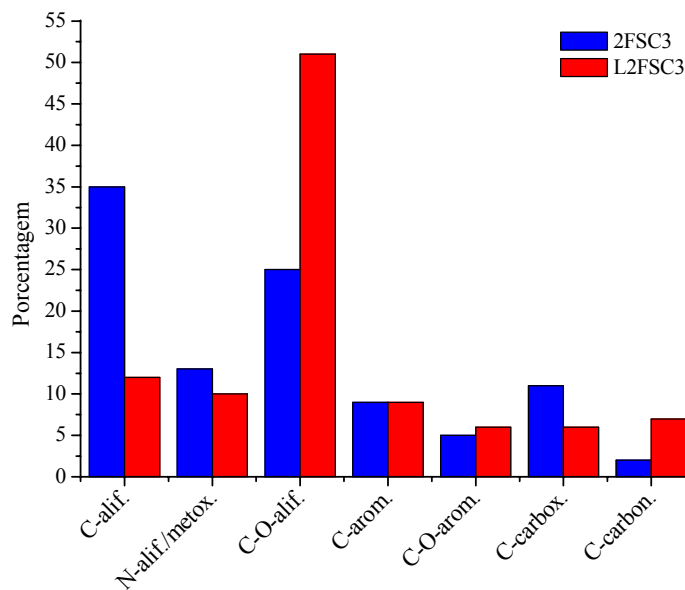


FIGURA 5.12 – Porcentagem dos grupos funcionais obtidas através dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  com VACP/MAS das amostras de efluente e lodo. 2FSC3 – Fazenda Santa Cândida, caixa 3, coleta 2; L2FSC3 – lodo da caixa 3 do sistema da Fazenda Santa Cândida coletado em 07/2006

Na Tabela 5.6 estão apresentados os dados referentes às porcentagens de grupamentos aromáticos e alifáticos observadas para as amostras de efluente e lodo. Observando-se os valores isolados, nota-se que ocorreu variação no percentual de grupos aromáticos e alifáticos ao longo do processo de biodigestão. No entanto, quando se analisaram os valores médios obtidos para cada coleta, não foram observadas mudanças no grau de aromaticidade /

alifaticidade das amostras, possivelmente, devido ao pequeno número de amostras analisado, o que resultou em valores estatisticamente iguais.

A porcentagem de aromaticidade /alifaticidade observada para as amostras de efluente foram similares às obtidas para o lodo, indicando um baixo grau de aromaticidade do material presente na Fossa Séptica.

TABELA 5.6 – Porcentagem dos grupos aromáticos e alifáticos nas amostras de efluente e lodo obtidas através dos espectros de RMN de <sup>13</sup>C\*

Amostras	Aromaticidade (%)		Alifaticidade (%)	
	Valor em cada caixa	Média entre as caixas	Valor em cada caixa	Média entre as caixas
1O1	16		84	
1O2	15	15,3 ± 0,6	85	84,7 ± 0,6
1O3	15		85	
2O1	14		86	
2O2	12	14,7 ± 3,0	88	85,3 ± 3,0
2O3	18		82	
3O1	14		86	
3O2	16	14,3 ± 1,5	84	85,7 ± 1,5
3O3	13		87	
1B1	15		85	
1B2	13	14,0 ± 1,0	87	86,1 ± 1,0
1B3	14		86	
2B1	16		84	
2B2	14	16,3 ± 2,5	86	83,7 ± 2,5
2B3	19		81	
3B1	13		87	
3B2	14	12,0 ± 2,6	86	88,0 ± 2,6
3B3	9		91	
LO1	19		81	
LO2	15	15,7 ± 3,0	85	84,3 ± 3,0
LO3	13		87	
LB1	17		83	
LB2	18	16,3 ± 2,1	82	83,7 ± 2,1
LB3	14		86	
2FSC3	16		84	
LFSC3	16	-	84	-

\*O – inoculado com esterco Ovino; B – inoculado com esterco Bovino; Os números iniciais 1, 2 e 3 referem-se, respectivamente, à ordem de coleta das amostras (10/2005; 07/2006 e 10/2006) e os seguintes à letra, às caixas 1, 2 e 3 do sistema; L – lodo

Na Tabela 5.3 podem-se observar valores superiores a 1,0 para todas as amostras de efluente analisadas, indicando, dessa forma o caráter alifático da matéria orgânica do efluente, sendo essa informação coerente com os dados obtidos por RMN de <sup>13</sup>C e FTIR.



## 5.2 – Impacto Causado pela Adição de Efluente no Solo

### 5.2.1 – Condutividade e pH

Os valores de pH obtidos para as amostras de solo são mostrados na Tabela 5.7. Analisando esses resultados pode-se observar que o solo analisado possui caráter bastante ácido, isso é mais nítido se compararmos os solos de mata, que não recebem qualquer tipo de corretivo de acidez, com os demais solos que são tratados com calcário. O solo adubado com efluente apresentou valor de pH ligeiramente superior ao solo com adubação mineral em especial na primeira camada. Segundo YAN *et al.*, (1996) a adição de resíduos orgânicos pode ocasionar aumento no pH do solo devido, principalmente a dois diferentes processos: descarboxilação de ânions orgânicos consumindo  $H^+$  e liberando  $CO_2$  ( $R-CO-COO^- + H^+ \rightarrow R-CHO + CO_2$ ) e desaminação de aminoácidos. Porém, a contribuição deste último processo é provavelmente de menor importância, pelo fato de o grupo aminoácido encontrar-se predominantemente protonado.

TABELA 5.7 – Valores de pH e condutividade para as amostras de solo\*

Amostras de solo	pH			Condutividade a 25 °C (dS m <sup>-1</sup> )		
	0-10 cm	10-20 cm	20-40 cm	0-10 cm	10-20 cm	20-40 cm
<b>CE</b>	5,15 ± 0,01	4,59 ± 0,01	4,68 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,12 ± 0,01
<b>NPK</b>	4,81 ± 0,01	4,40 ± 0,01	4,47 ± 0,01	0,20 ± 0,00	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01
<b>M</b>	3,57 ± 0,01	3,64 ± 0,01	3,73 ± 0,01	0,33 ± 0,00	0,20 ± 0,01	0,19 ± 0,01

\*CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fósforo e potássio; M: solo de mata

A condutividade está relacionada com o conteúdo de sais na solução do solo. Na Tabela 5.7 é possível observar um decréscimo nesse conteúdo conforme aumenta a profundidade no solo. Dentre os solos analisados, o de mata apresentou maiores concentrações de sais. Pôde-se observar também que o solo adubado com efluente desde o segundo semestre de 2003, não apresentou excesso de salinidade, visto que seus valores de condutividade estão na faixa de 0,0-2,0 dS m<sup>-1</sup> e dentro desta faixa os efeitos da salinidade são geralmente negligenciáveis (TOMÉ Jr., 1997).

### 5.2.2 – Macro e Micronutrientes Disponíveis no Solo

As concentrações de nutrientes disponíveis no solo são mostradas na Figura 5.12. Verificou-se um aumento nas concentrações dos macronutrientes quando adicionado o efluente, em relação ao solo adubado com NPK, já os teores de micronutrientes para esses dois solos foram semelhantes.

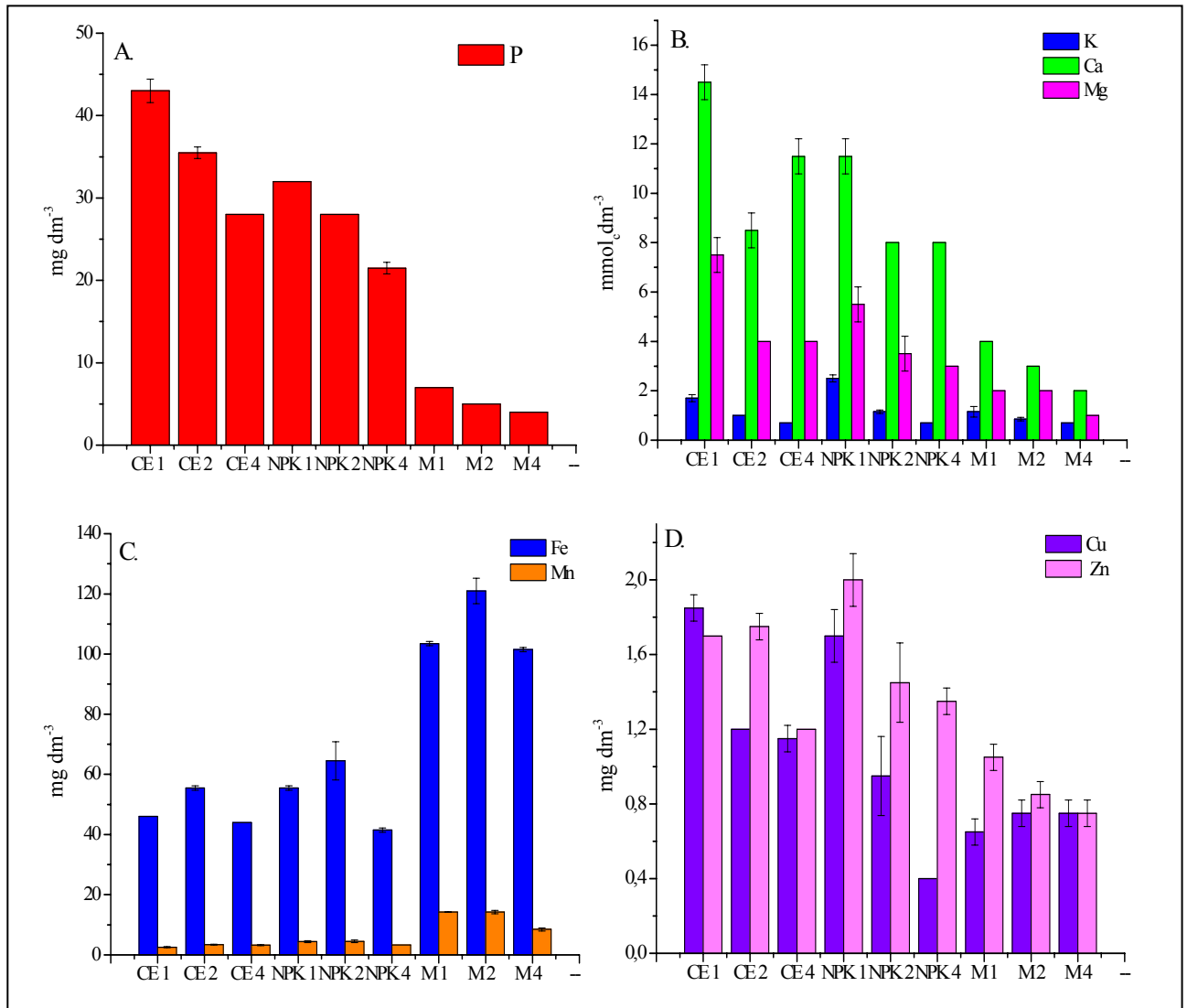


FIGURA 5.12 – Concentração de macro e micronutrientes disponíveis no solo. A e B – macronutrientes; C e D – micronutrientes; CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fósforo e potássio; M: solo de mata. As numerações referem-se às profundidades amostradas – 1: 0-10 cm; 2: 10-20 cm e 4: 20-40 cm

O solo de mata apresentou baixas concentrações de nutrientes, exceto de ferro e manganês, que foram superiores aos demais solos analisados. Possivelmente, devido ao

caráter ácido deste solo, o qual favorece a disponibilidade de ferro e manganês, abundantes no solo analisado.

Esse aporte de nutrientes no solo, ocasionado pela adição do efluente, é importante, pois possibilita a diminuição do uso de fertilizantes químicos. Na Fazenda Santa Cândida, onde foi instalado este experimento, faz-se, normalmente, uso de fertilizante mineral a base de nitrogênio, fosfato e potássio três vezes ao ano. Em 2006, foi feita somente uma aplicação, visto que as concentrações de nutrientes no solo foram consideradas satisfatórias.

### 5.2.3 – Carbono Orgânico Total (COT)

Na Figura 5.13 são mostradas as porcentagens de carbono total obtidas para as amostras de solo. Os solos analisados apresentaram percentuais de carbono variando de 0,63 a 2,16 % C. Para as amostras pertinentes ao solo de mata observou-se maior teor de carbono que os demais solos analisados, em virtude de esse solo não ter sido submetido a qualquer forma de manejo. Comparando os solos adubados (Figura 5.13), pode-se observar que o solo que recebeu aplicação de efluente apresentou maior teor de carbono. Esse aporte proporcionado é importante, pois dessa forma o efluente se torna mais uma alternativa para a elevação dos teores de matéria orgânica no solo.

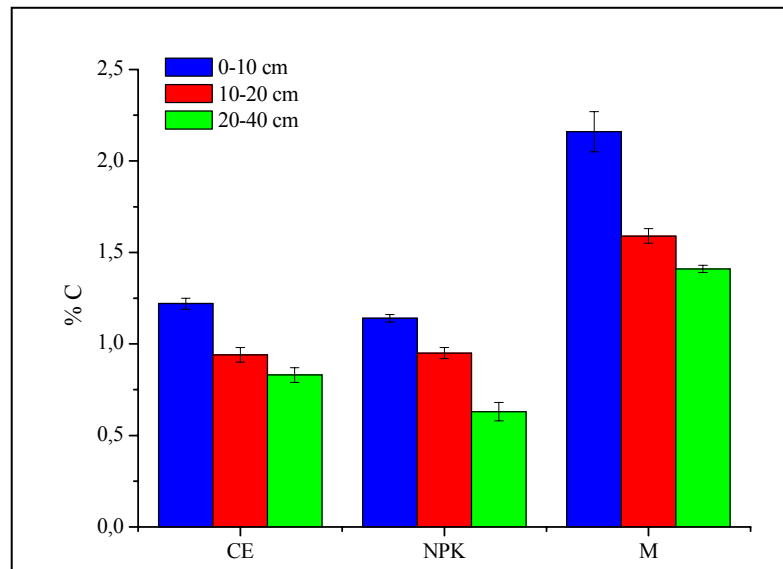


FIGURA 5.13 – Porcentagem de carbono total em amostras de solo. CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fosfato e potássio; M: solo de mata

O aporte de matéria orgânica provocado pela adição de efluente é pequeno se comparado diretamente com o solo que recebeu adubação mineral. No entanto, deve-se

considerar que o foram feitas poucas aplicações de efluente no solo desde que o sistema da fossa foi instalado, no ano de 2003. Dessa forma, os resultados obtidos indicam uma tendência ao aumento dos teores de carbono no solo com efluente. Contudo, a elevação e posterior manutenção de teores elevados de carbono no solo dependerá de aplicações sucessivas do resíduo (OLIVEIRA *et al.*, 2002), visto que os efeitos sobre os teores de carbono podem ser temporários (MELO *et al.*, 1994) em decorrência da decomposição da matéria orgânica.

Corroborando com LEITE *et al.*, (2004), os resultados obtidos para os teores de carbono apresentaram maiores concentrações na camada superficial (0-10 cm), e diminuem linearmente conforme se aumenta à profundidade.

### 5.2.3 – Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

As análises de FIL foram feitas a fim de se obter informação a respeito do índice de humificação ( $H_{FIL}$ ) da matéria orgânica do solo, usando amostras de solo intacto. A proposta de cálculo deste índice de humificação é a razão entre o valor da ACF e o valor de COT presente na amostra de solo intacto (MILORI *et al.*, 2004), ou seja:

$$H_{FIL} = ACF/COT$$

O índice de humificação obtido através da FIL está representado na Figura 5.14. Nela pode-se observar que as amostras de 0-10 e 10-20 cm para os solos CE e NPK apresentaram valores bem próximos para o índice de humificação. Já para a amostra na profundidade de 20-40 cm, observou-se que o solo com adubação mineral do tipo NPK obteve maior índice de humificação. Os menores valores no solo CE representam um aporte de MO recente proveniente do efluente ou da atividade microbiana. As amostras de AH do solo de mata apresentaram grau de humificação  $H_{FIL}$  bem inferior aos demais solos, sendo que esse comportamento não foi observado nos outros índices de humificação avaliados. Essa grande diferença pode ser atribuída ao fato de a FIL analisar solos intactos, sem qualquer processo de extração das SH, estando presentes todos os grupamentos fluoróforos da matéria orgânica do solo, podendo ocorrer dessa forma, um efeito de diluição da matéria orgânica humificada, diminuindo o sinal de fluorescência.

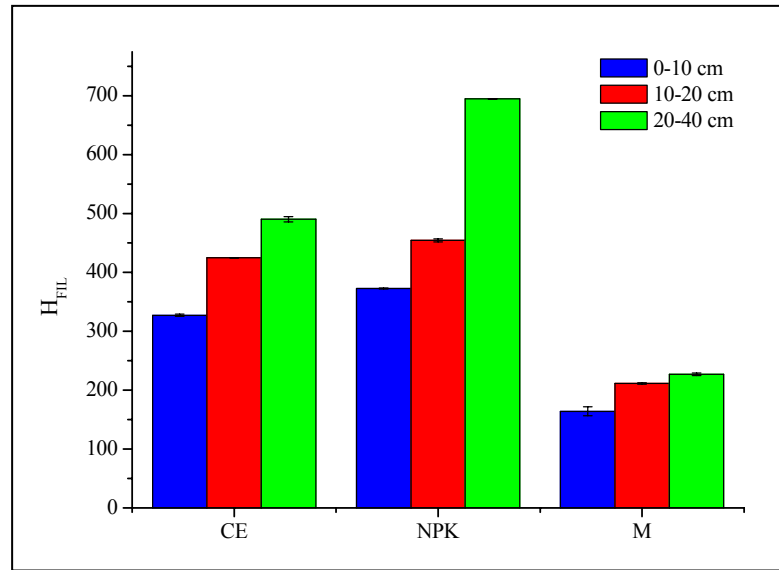


FIGURA 5.14 – Índice de humificação ( $H_{FIL}$ ) obtido através da fluorescência induzida por laser de amostras de solo dividido pela porcentagem de carbono orgânico das mesmas. CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fosfato e potássio; M: solo de mata

### 5.3 – Matéria Orgânica do Solo (Ácidos Húmicos)

#### 5.3.1 – Análise Elementar

Os valores obtidos para a composição elementar dos AH e os teores de cinzas estão apresentados na Tabela 5.8.

TABELA 5.8 – Composição elementar (carbono, nitrogênio, hidrogênio, enxofre e oxigênio) e teor de cinzas em amostras de AH extraídos do solo\*

Amostras	C (%)	N (%)	H (%)	S (%)	O (%)	Cinzas (%)
CE1	48	4	5	2	37	4
CE2	47	4	5	2	36	6
CE4	48	4	4	2	36	5
NPK1	48	4	5	2	37	4
NPK2	48	4	5	2	36	5
NPK4	49	4	5	2	36	3
M1	49	4	3	2	40	1
M2	50	4	5	3	38	1
M4	50	4	4	2	38	2

\*CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fosfato e potássio; M: solo de mata. As numerações referem-se às profundidades amostradas – 1: 0-10 cm; 2: 10-20 cm e 4: 20-40 cm. Oxigênio determinado por diferença

A análise elementar proporcionou informações sobre a distribuição dos elementos químicos principais (C, N, H, S e O) nos AH, sendo que não foram observadas diferenças significativas nos percentuais desses elementos nos três solos analisados.

A razão C/N (Tabela 5.9) obtida para as amostras de AH variaram de 13,7 a 16,0. Dados na literatura indicam que a razão obtida está dentro da faixa esperada para AH extraídos de solo. (NICOLARDOT *et al.*, 2001). Para as amostras de solo de mata observou-se um aumento dessa razão ao longo do perfil do solo, indicando um aumento no índice de humificação dessas amostras.

TABELA 5.9 – Razões atômica C/N e H/C das amostras de amostras de AH extraídos do solo

Amostras*	C/N	H/C
CE1	14,2	1,29
CE2	13,7	1,27
CE4	14,3	1,11
NPK1	14,1	1,22
NPK2	14,0	1,25
NPK4	14,5	1,23
M1	14,7	0,82
M2	15,3	1,12
M4	16,0	1,02

\*CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fosfato e potássio; M: solo de mata. As numerações referem-se às profundidades amostradas – 1: 0-10 cm; 2: 10-20 cm e 4: 20-40 cm

De acordo com STEVENSON (1994), a razão H/C pode ser usada para avaliar o grau de insaturação dos ácidos húmicos. Quanto maior esta razão menor é o grau de insaturação das moléculas. Na Tabela 5.9, observa-se que os AH dos solos CE apresentaram maiores valores de H/C, indicando que essas amostras possuem maior grau de saturação que os demais AH, possivelmente devido à incorporação da matéria orgânica presente no efluente. A razão H/C observada para as amostras de AH de mata mostrou que este material possui alto grau de insaturação.

## 5.3.2 – Análises Espectroscópicas

### 5.3.2.1 – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As análises de infravermelho foram feitas visando obter informações sobre a composição de grupos funcionais, dos ácidos húmicos extraídos dos solos.

As possíveis atribuições dos sinais foram baseadas no conhecimento acumulado pela RMN de  $^{13}\text{C}$  em solos e ácidos húmicos nos trabalhos descritos na literatura WILSON 1984 e 1987; SCHNITZER e PRESTON, 1986; PRESTON *et al.*, 1994ab, 1996; KÖGEL-KNABER, 1997; SCHULTEN e SCHNITZER, 1997; VEEMAN, 1997; ZECH *et al.*, 1997; CELI *et al.*, 1997.

Os espectros de infravermelho para as amostras de AH são apresentados na Figura 5.15.

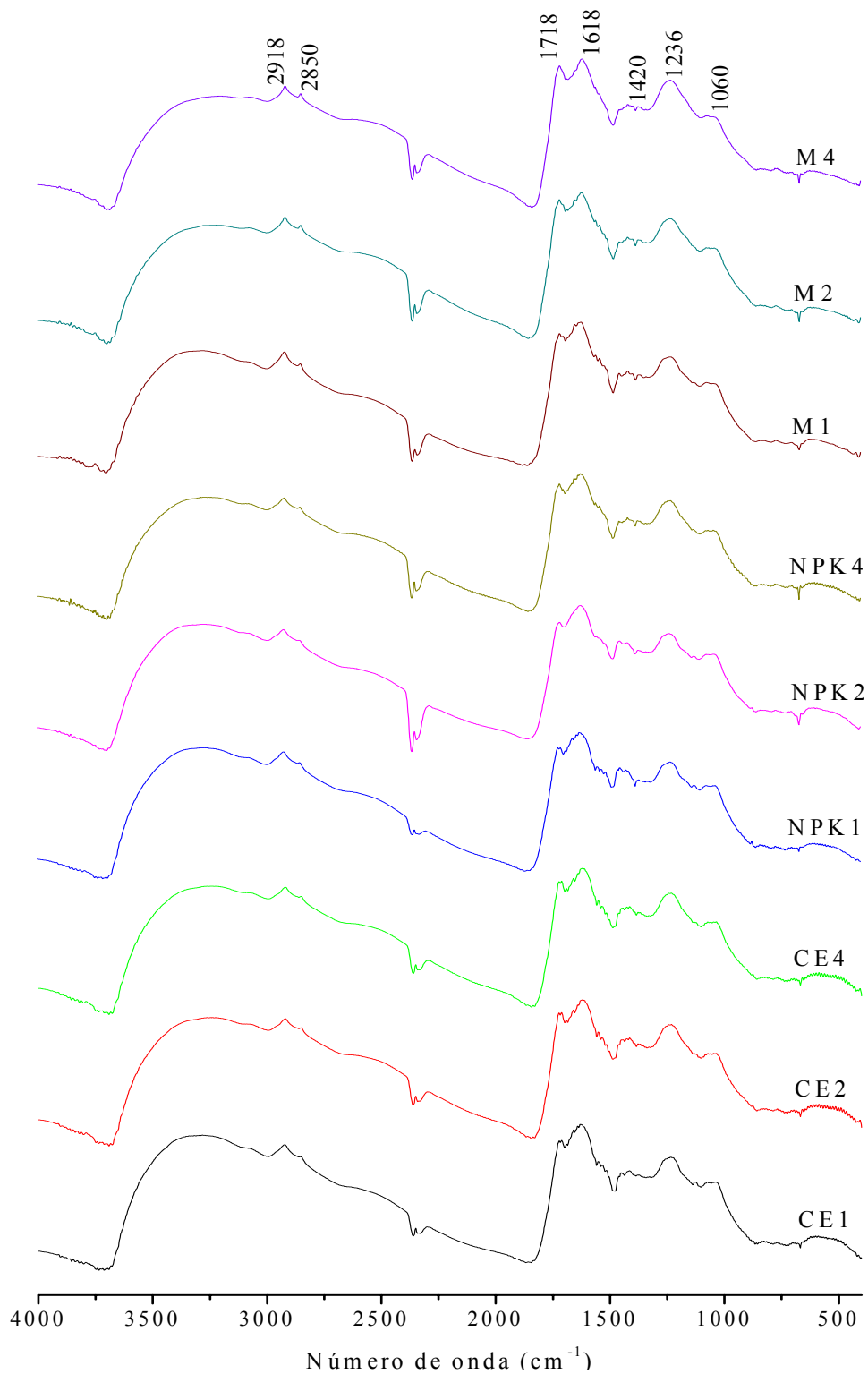


FIGURA 5.15 – Espectros de FTIR de AH extraídos de amostras de solos adubados com efluente (CE), solo com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) e solo de mata

Uma banda larga na região de alta frequência, entre 3600 e 3070 cm<sup>-1</sup> presente em todos os espectros é atribuída às vibrações de estiramentos O-H, indicando a abundante



presença de grupos hidroxilas nos AH obtidos. Na região de 2918 e 2850  $\text{cm}^{-1}$  encontram-se os estiramentos assimétrico e simétrico, respectivamente, de CH alifáticos (CELI *et al.*, 1997).

A banda em 1718  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída a vibrações  $\nu$  (O-C=O) de ésteres ou  $\nu$  (C=O) de cetonas (NAIDJA *et al.*, 2002), enquanto que em torno de 1620  $\text{cm}^{-1}$  tem-se  $\nu$  (C=O) de grupo amida – banda de amida I, C=C de anel aromático, deformação axial de C=C, C=N, absorção anti-simétrica de C=O de  $\text{COO}^-$  e deformação angular de  $\text{H}_2\text{O}$  (NIEMEYER *et al.*, 1992; BAES e BLOOM, 1989; GUIMARÃES, 1997).

Uma banda fraca em torno de 1420  $\text{cm}^{-1}$  refere-se ao estiramento assimétrico C-O e /ou a deformação C-O-H dos COOH e estiramento simétrico dos íons  $\text{COO}^-$ . A banda próxima a 1236  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída à deformação axial C-O dos COOH (BAES e BLOOM, 1989) e estiramento simétrico C-O. Ainda, as absorções observadas entre 1200-1100  $\text{cm}^{-1}$  podem ser atribuídas ao  $\nu$  (C-O) de polissacarídeos (STEVENSON, 1994; NIEMEYER *et al.*, 1992) provavelmente celulose ou hemicelulose residual (INBAR *et al.*, 1989) ou impurezas se silicatos relacionadas ao  $\nu$  (Si-O) (GUIMARÃES, 1997).

Analisando os espectros obtidos para os AH extraídos do solo, observou-se que todos eles apresentaram perfis semelhantes, indicando a presença dos mesmos grupos funcionais, não sendo observada, através desta técnica, qualquer alteração nestes grupos, em virtude da adição da matéria orgânica do efluente.

### 5.3.2.2 – Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

O sinal do radical livre orgânico das substâncias húmicas, detectável por RPE, é atribuído a radicais livres do tipo semiquinona. Quanto maior a concentração de radicais livres do tipo semiquinona, maior a humificação da matéria orgânica (SENESI, 1990a; MARTIN-NETO *et al.*, 1991, 1998). Normalmente a maior humificação está relacionada à formação de compostos mais aromáticos (KÖGEL-KNABER *et al.*, 1991). No entanto, pela complexidade da MOS, é temerário assumir um único tipo de radical como responsável pelo sinal, e na literatura internacional não se descarta a possibilidade de envolvimento de outros tipos de estruturas (SENESI, 1990b; CHESHIRE e MCPAHIL, 1996; WATANABE *et al.*, 2005).

Para quantificação de espécies paramagnéticas, a concentração de spins é diretamente proporcional à integral dupla do espectro de RPE (Figura 2.9). Uma aproximação normalmente muito utilizada para a obtenção da concentração de spins é feita utilizando-se a

fórmula  $I \times \Delta H^2$  (POOLE, 1967), onde  $I$  é a intensidade do sinal e  $\Delta H$  é a largura do sinal tomada pico a pico.

TABELA 5.10 – Concentração de radicais livres do tipo semiquinona e largura de linha das amostras de AH extraídos do solo CE, NPK e M, fornecidas por RPE\*

Amostras	Radicais livres do tipo semiquinona (spin g <sup>-1</sup> de C (10 <sup>17</sup> ))	Largura de linha (Gauss)
CE1	1,92 ± 0,02	4,52 ± 0,10
CE2	1,36 ± 0,13	4,84 ± 0,07
CE4	2,59 ± 0,10	4,30 ± 0,07
NPK1	1,74 ± 0,03	4,42 ± 0,10
NPK2	1,82 ± 0,01	4,59 ± 0,00
NPK4	2,03 ± 0,06	4,77 ± 0,03
M1	2,05 ± 0,04	4,25 ± 0,07
M2	2,66 ± 0,13	4,25 ± 0,00
M4	4,37 ± 0,04	4,01 ± 0,07

\*CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fosfato e potássio; M: solo de mata. As numerações referem-se às profundidades amostradas – 1: 0-10 cm; 2: 10-20 cm e 4: 20-40 cm. Potência 0,2 mW

Os resultados obtidos para a concentração de radicais livres do tipo semiquinona para as amostras de solos estão descritos na Tabela 5.10. A concentração desses radicais foi avaliada em dois solos sob cultivo e diferentes tipos de adubos (CE e NPK) e em um solo de mata (M). Nos três solos analisados observou-se um aumento na concentração de radicais semiquinona conforme se aumenta à profundidade.

No solo de mata foi observada maior concentração desses radicais, indicando maior índice de humificação dessas amostras. A adição do efluente no solo alterou significativamente a concentração dos radicais semiquinona no solo. Comparado ao solo com adubação NPK, observou-se que o solo com CE apresentou nas camadas de 0-10 e 20-40 cm maiores índices de humificação, no entanto, ocorreu uma diminuição neste índice na camada de 10-20 cm (Figura 5.16). Dessa forma, nota-se uma contribuição dos radicais do tipo semiquinona, presentes em baixas concentrações no efluente (Figura 5.3, amostra 2FSC3), na alteração da matéria orgânica natural do solo.

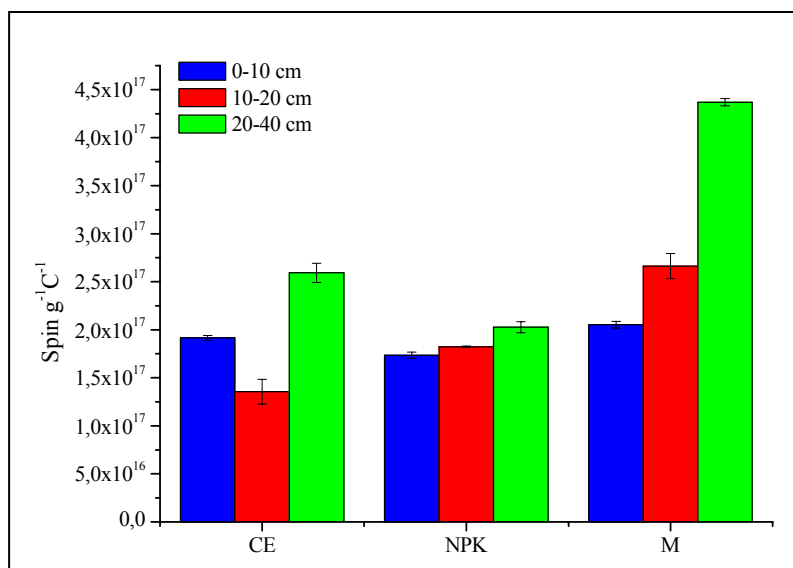


FIGURA 5.16 – Concentração de radicais livres do tipo semiquinona em  $\text{spin g}^{-1}\text{C}^{-1}$  obtida para as amostras de AH extraídos de solos adubados com efluente (CE), com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) e de solo de mata (M)

Características adicionais dos radicais livres semiquinona podem ser obtidas usando a largura de linha do sinal de RPE (POOLE e FARACH, 1972; MARTIN-NETO *et al.*, 2001). MARTIN-NETO *et al.*, (2001) observaram que a largura de linha dos radicais livres do tipo semiquinona era diretamente proporcional à diminuição do pH para Latossolos e ácidos húmicos de turfa, fornecendo evidências de que o tempo de relaxação do estado excitado do sinal semiquinona dessas substâncias húmicas seja maior em meio ácido, devido às mudanças conformacionais das SH, o que resulta em uma interação menos efetiva com o meio externo.

Geralmente, as amostras de ácidos húmicos com maior concentração de radicais livres do tipo semiquinona, são associadas a sinais com menor largura de linha, devido ao maior grau de humificação e radicais mais protegidos com relação ao meio externo (MARTIN-NETO *et al.*, 2001; SPOSITO *et al.*, 1996).

Corroborando com SANTOS (2006), MARTIN-NETO *et al.*, 2001; SPOSITO *et al.*, 1996, os ácidos húmicos com maior concentração de radicais livres do tipo semiquinona apresentaram menor largura de linha (Tabela 5.10). Observou-se que os ácidos húmicos extraídos do solo de mata apresentaram maior concentração de radicais livres semiquinona e menor largura de linha, sendo que para este solo foi observado maior caráter ácido (Tabela 5.7).

### 5.3.2.3 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  para as amostras de AH estão apresentados na Figura 5.13.

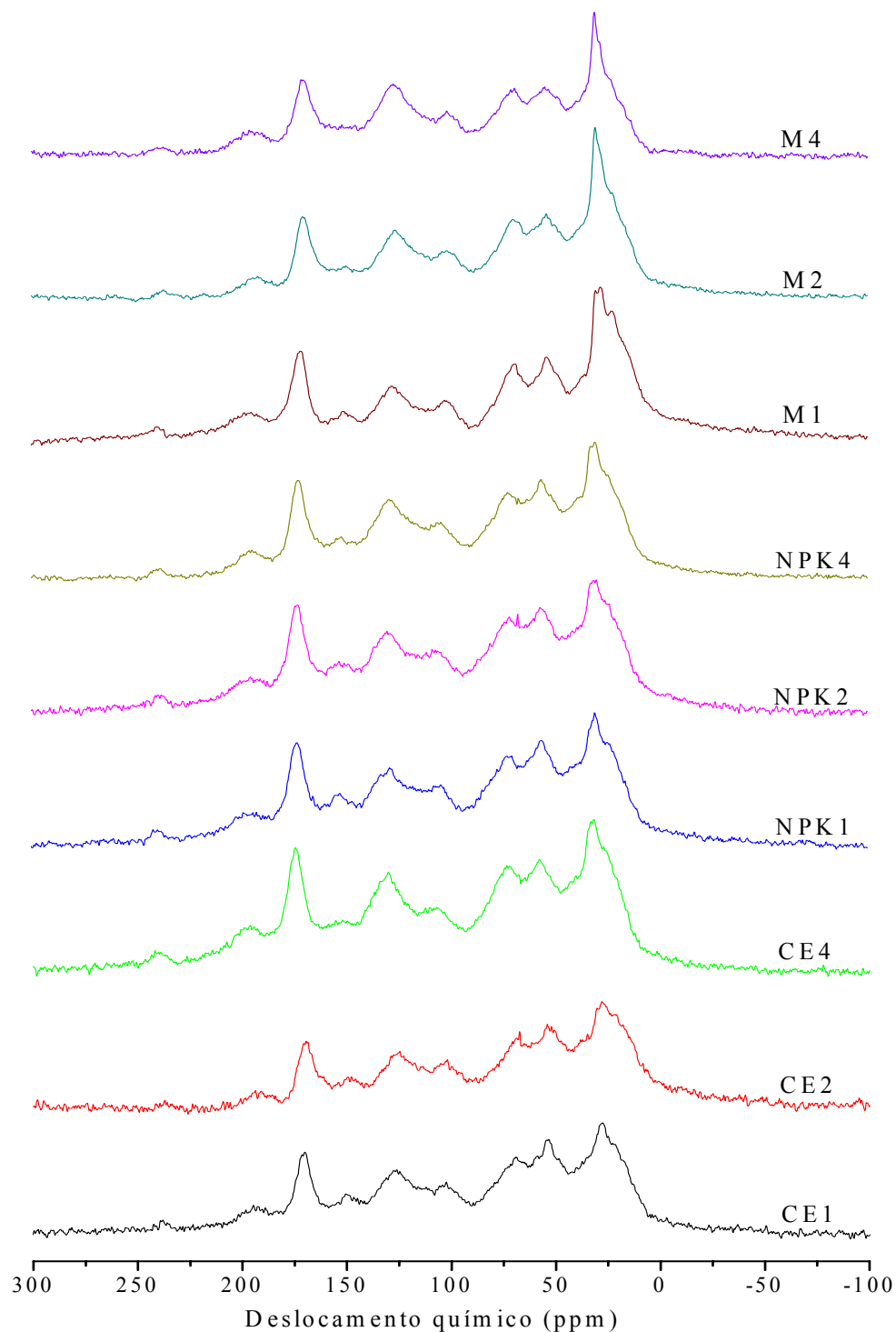


FIGURA 5.17 – Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos AH extraídos do solo. CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fosfato e potássio; M: solo de mata. As numerações referem-se às profundidades amostradas – 1: 0-10 cm; 2: 10-20 cm e 4: 20-40 cm.

As mesmas considerações feitas para o efluente da fossa com relação às limitações da RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido, citadas no item 5.1.4.3, também são aplicáveis para as de AH.

Na Figura 5.18 estão apresentadas as porcentagens relativas aos grupamentos aromáticos e alifáticos presentes nas amostras de AH. Nos AH do solo CE ocorreu uma diminuição no teor de carbono alifático com o aumento da profundidade, semelhante ao observado para os de solo de mata. Com o uso do efluente, o solo recebe matéria orgânica de caráter mais simples devido ao processo de biodegradação a qual foi submetida no biodigestor, sendo dessa forma incorporada ao solo mais facilmente. Em contraposição, para o solo de mata, tem-se um sistema fechado, no qual adiciona-se ao solo matéria orgânica fresca, proveniente de folhas de árvores e também de origem animal. Este material é degradado pela ação dos microrganismos e lentamente incorporado à matéria orgânica do solo, sendo que nas camadas de 10-20 e 20-40 cm não ocorreu alteração no teor desses grupos alifáticos (Figura 5.18C), indicando uma possível estabilização dessa matéria orgânica.

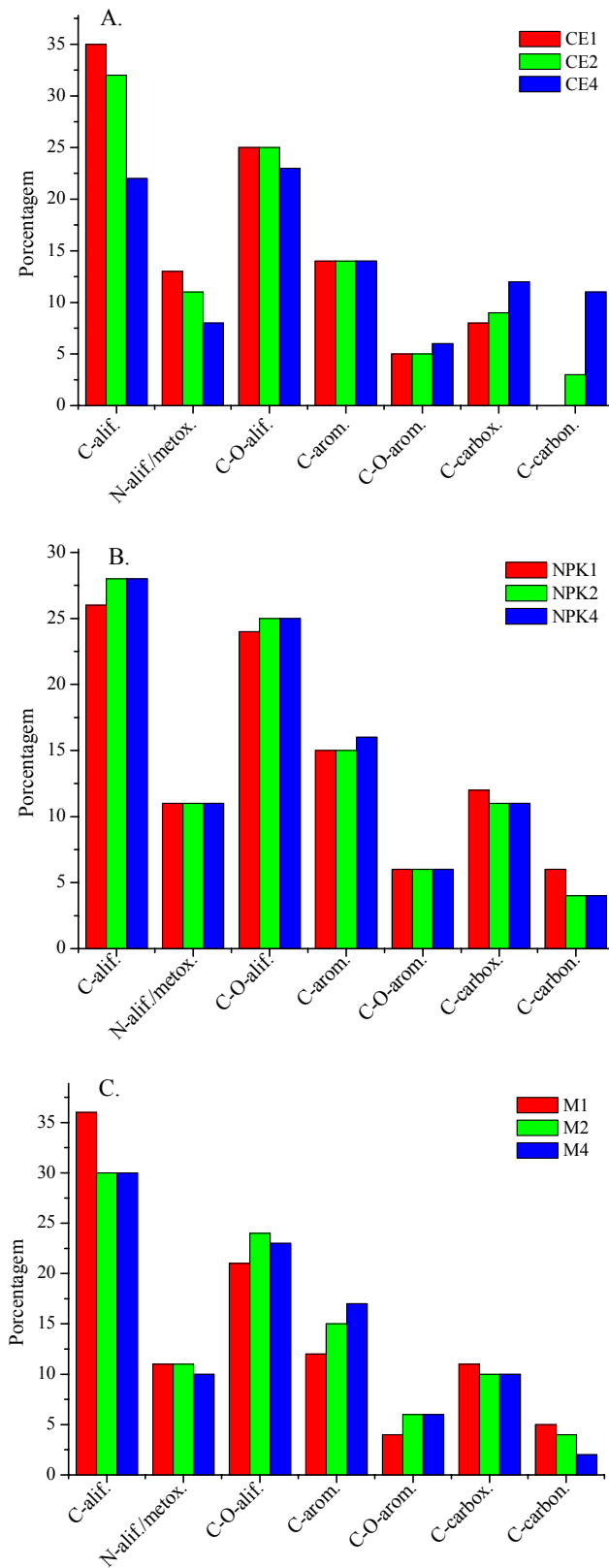


FIGURA 5.18 – Porcentagem da área total das bandas nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  com VACP/MAS das amostras de AH. CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fosfato e potássio; M: solo de mata. As numerações referem-se às profundidades amostradas – 1: 0-10 cm; 2: 10-20 cm e 4: 20-40 cm

Na Tabela 5.11 estão apresentados os dados referentes às porcentagens de grupamentos aromáticos e alifáticos observadas para as amostras de AH. Para as amostras de AH do solo com efluente observou-se que a adição do efluente provocou um aumento na alifaticidade na matéria orgânica se comparado com o solo adubado com NPK. Resultados semelhantes ao observado por SANTOS, (2006) ao avaliar o grau de aromaticidade de amostras de Latossolo submetidos à adição de lodo de esgoto.

TABELA 5.11 – Porcentagem dos grupos aromáticos e alifáticos nas amostras de AH obtidas através dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$

Amostras*	Aromaticidade (%)	Alifaticidade (%)
CE1	21	79
CE2	21	79
CE4	27	73
NPK1	26	74
NPK2	25	75
NPK4	26	74
M1	20	80
M2	24	76
M4	27	73

\*CE: solo adubado com efluente; NPK: solo com adubação mineral à base de nitrogênio, fosfato e potássio; M: solo de mata. As numerações referem-se às profundidades amostradas – 1: 0-10 cm; 2: 10-20 cm e 4: 20-40 cm

#### 5.3.2.4 – Espectroscopia de Fluorescência em Solução

A fluorescência tem sido amplamente reconhecida como uma técnica relativamente simples, sensível e útil para o estudo estrutural e funcional relativo às amostras tal como o ácido húmico.

As principais vantagens desta técnica são, a alta sensibilidade e seletividade, pois somente aqueles grupos funcionais que fluorescem podem ser observados. Com isso, o uso da técnica de fluorescência nos estudos sobre substâncias húmicas está apoiado pela presença estável de várias estruturas fluorescentes intrínsecas a molécula húmica e a seus precursores, particularmente anéis aromáticos, fenóis e grupos quinona (SENESI *et al.*, 1991).

##### 5.3.2.4.1 – Modalidade de Emissão

Os espectros de emissão foram obtidos utilizando metodologias propostas por MILORI *et al.*, (2002) e ZSOLNAY *et al.*, (1999), as quais propõem a excitação das amostras em 465 e 240 nm, respectivamente.

Os espectros das amostras de AH pertinente às metodologias, assim como os respectivos índices de humificação são mostrados nas Figuras 5.19, 5.20, 5.21 e 5.22.

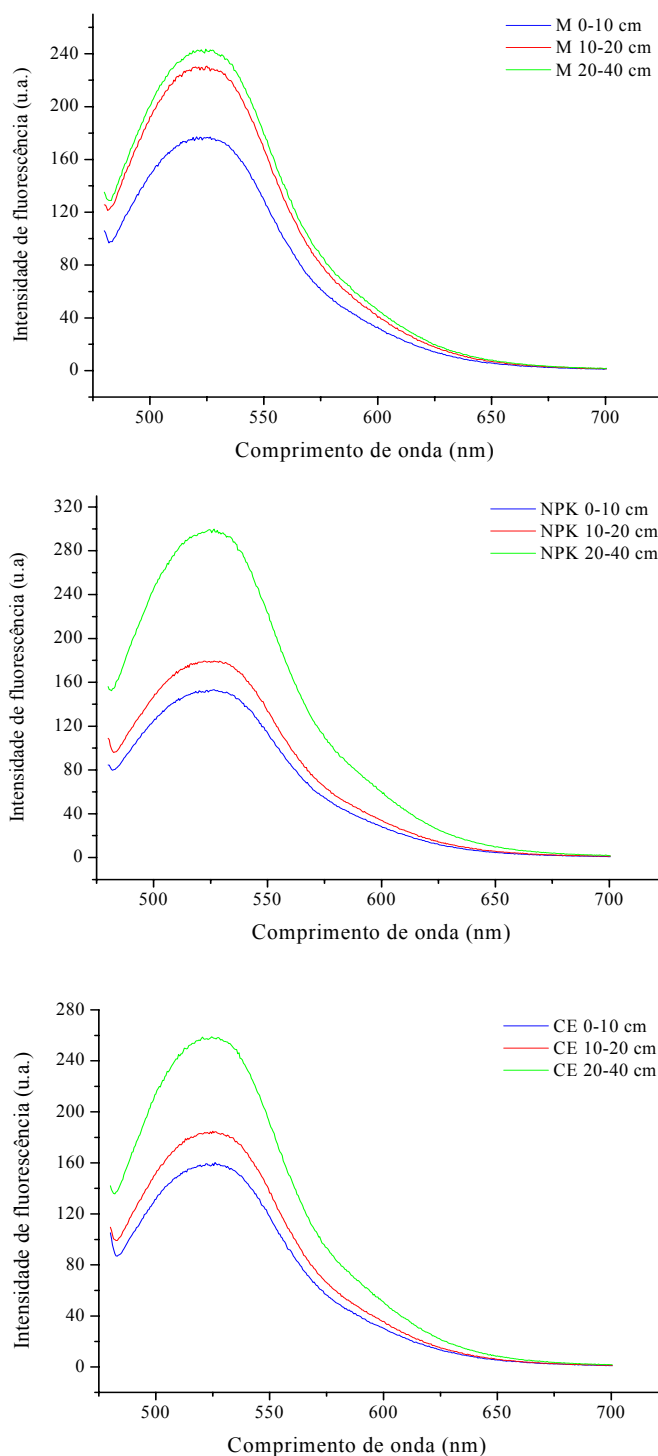


FIGURA 5.19 – Espectros de emissão de fluorescência de AH extraídos do solo, medidos com comprimento de onda de excitação  $\lambda_{ex} = 465$  nm. CE – solo adubado com efluente; NPK – solo com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio; M – solo de mata



Os espectros de emissão obtidos com  $\lambda_{\text{ex}} = 465$  nm apresentaram-se como uma única banda com um máximo de emissão centrado em torno de 524 nm. Observou-se um mesmo perfil para os três solos analisados, no qual a intensidade de fluorescência aumentou conforme se aumentava à profundidade no solo.

Segundo MILORI *et al.* (2002), uma boa estimativa do índice de humificação para amostras de AH pode ser obtida integrando-se a área sob a curva dos espectros de emissão com  $\lambda_{\text{ex}} = 465$  nm, sendo denominado  $A_{465}$ .

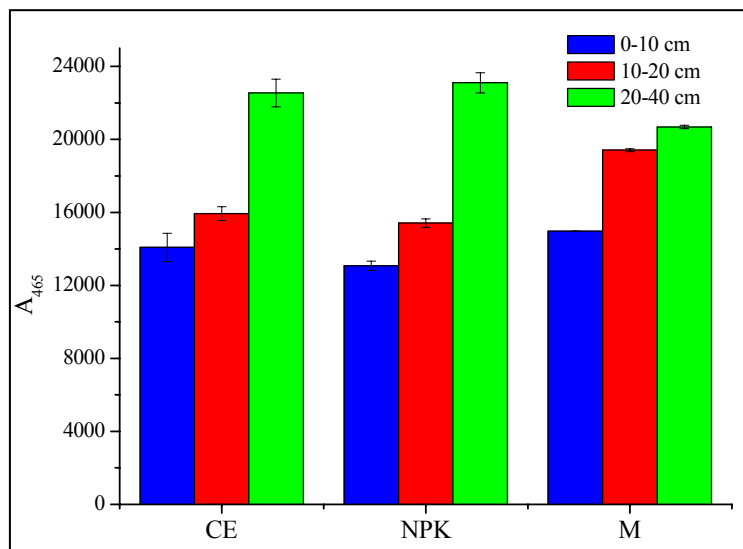


FIGURA 5.20 – Índice de humificação,  $A_{465}$ , obtido segundo metodologia de MILORI *et al.*, (2002) para os AH extraídos do solo. CE – solo adubado com efluente; NPK – solo com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio; M – solo de mata

Os índices de humificação,  $A_{465}$ , obtidos para as amostras de AH estão apresentados na Figura 5.20. Observou-se que as amostras para os solos CE e NPK apresentaram índices de humificação bem semelhantes, não sendo observada qualquer mudança em função da adição do efluente. Para as amostras de M, foram observados maiores índices de humificação nas camadas de 0-10 e 10-20 cm e na camada de 20-40 cm apresentou caráter menos humificado que os solos sob cultivo.

Utilizando a metodologia proposta por ZSOLNAY *et al.*, (1999) obtiveram-se os espectros de emissão com  $\lambda_{\text{ex}} = 240$  nm. Os espectros apresentaram uma banda com as maiores intensidades de fluorescência deslocadas para maiores comprimentos de onda. A fluorescência de ácidos húmicos em comprimentos de onda longos, como neste caso, é associada a sistemas insaturados conjugados (hidrocarbonetos aromáticos condensados tipo tetraceno de estrutura linear ou pirileno de estrutura cíclica), e/ ou a núcleos aromáticos

altamente substituídos por C=O e COOH (LUMB, 1978; SENESI, 1992; RIVERO *et al.*, 1998; OLK *et al.*, 1999).

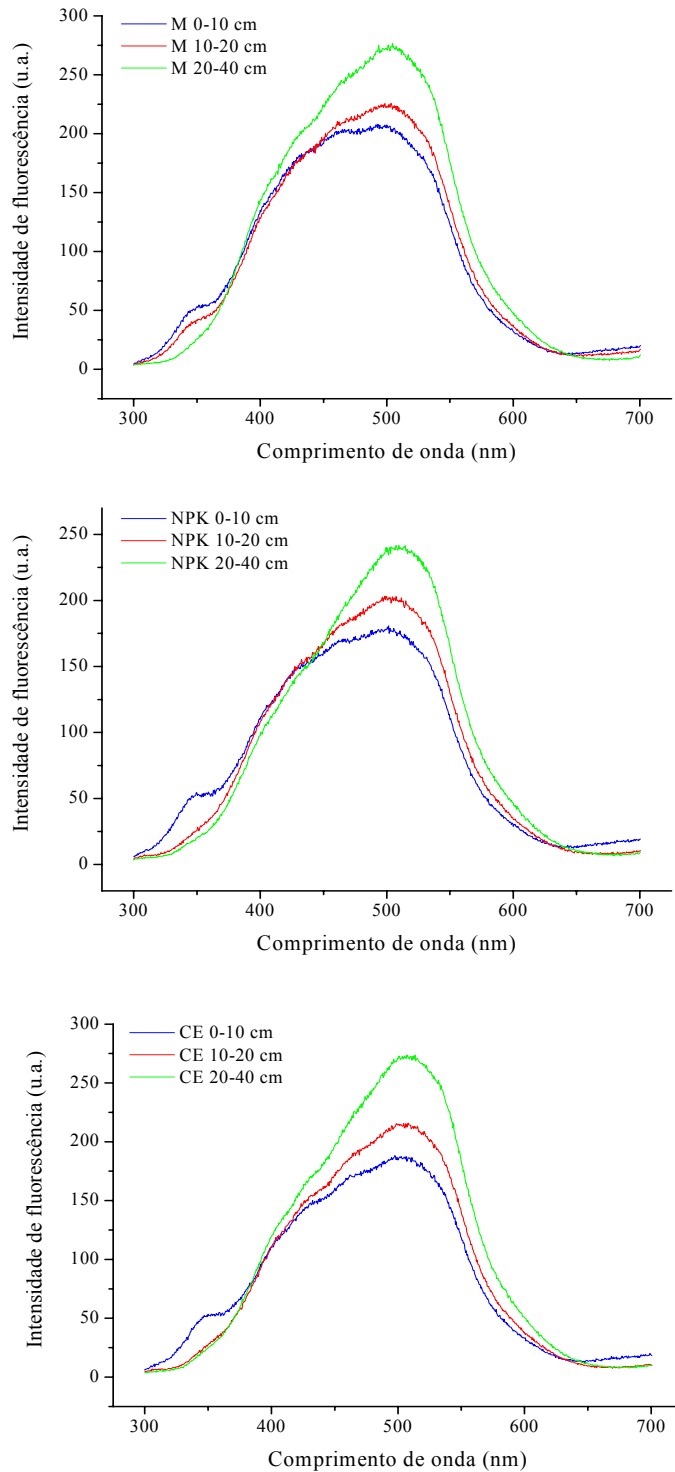


FIGURA 5.21 – Espectros de emissão de fluorescência de AH extraídos do solo, medidos com comprimento de onda de excitação  $\lambda_{ex} = 240$  nm. CE – solo adubado com efluente; NPK – solo com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio; M – solo de mata

A proposta de ZSOLNAY *et al.*, (1999) é que, se as moléculas fluorescentes tornam-se mais condensadas tenderão a exibir um deslocamento sobre comprimentos de onda maiores. A partir da excitação de diferentes amostras com radiação ultravioleta em 240 nm, foi possível observar no espectro de emissão da matéria orgânica dissolvida, um deslocamento para comprimentos de ondas maiores, demonstrando progresso no processo de humificação. Deste modo, segundo ZSOLNAY *et al.*, (1999) a área sobre o último quarto da emissão (562-650 nm) dividido pela área do primeiro quarto (300-387 nm), denominado  $A_4/A_1$ , pode ser usada como índice de humificação.

Na Figura 5.22 são apresentados os índices de humificação,  $A_4/A_1$ , obtidos segundo metodologia de ZSOLNAY *et al.*, (1999) para as amostras de AH.

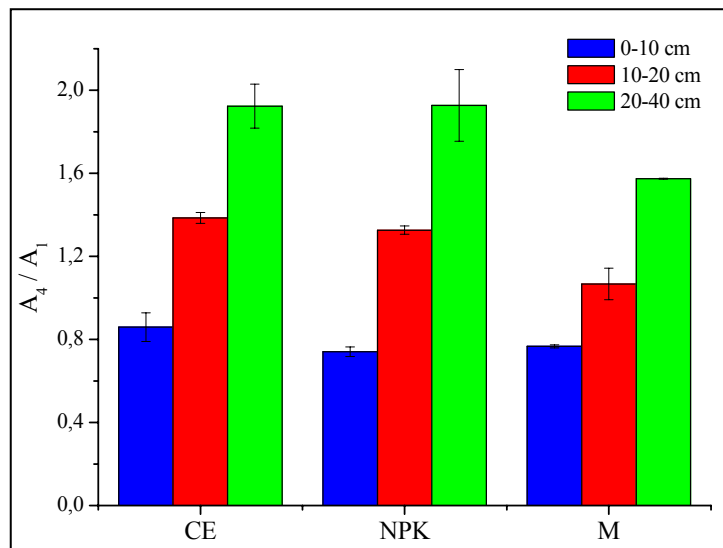


FIGURA 5.22 – Índice de humificação,  $A_4/A_1$ , obtido segundo metodologia de ZSOLNAY *et al.*, (1999) para os AH extraídos do solo. CE – solo adubado com efluente; NPK – solo com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio; M – solo de mata

As amostras de AH dos solos sob cultivo (CE e NPK) apresentaram o mesmo comportamento ao longo do perfil do solo, com valores de  $A_4/A_1$  semelhantes. Segundo a metodologia de ZSOLNAY *et al.*, (1999) as amostras de AH extraídos do solo de mata apresentaram caráter menos humificado do que as demais analisadas.

#### 5.3.2.4.2 – Modalidade Sincronizada

O espectro de varredura sincronizada, medida com diferença constante entre excitação e emissão ( $\Delta\lambda = 55$  nm), permitiu avaliar o grau de humificação através da metodologia proposta por KALBITZ *et al.*, (2000). De acordo com essa proposta, os espectros de fluorescência sincronizados das substâncias húmicas apresentam dois picos, um em torno de 360 e outro em 465 nm, e um ombro em torno de 470 nm. Esses picos podem apresentar deslocamento no máximo de intensidade de fluorescência de menores para maiores comprimentos de onda, o que está associado com um aumento no número de núcleos aromáticos altamente substituídos e/ ou com um sistema conjugado insaturado capaz de exibir alto grau de ressonância. Então, a razão da intensidade de fluorescência em 400 e 360 nm, ou 470 e 360 nm pode ser usada para medir o grau de humificação das substâncias húmicas.

Nos espectros da Figura 5.23, identificaram-se os dois picos médios, um em 456 e outro em 374 nm, os quais foram usados na determinação do índice de humificação, medindo-se a razão  $I_{456}/I_{374}$ .

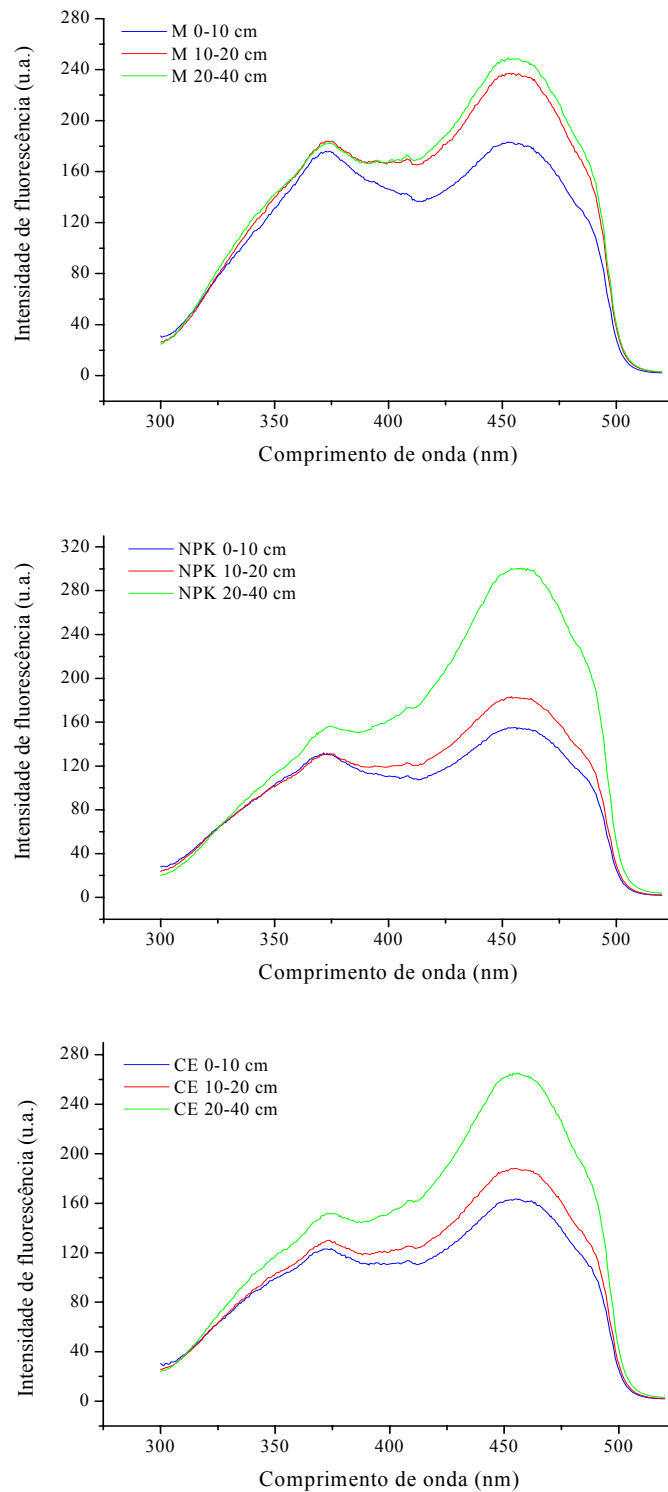


FIGURA 5.23 – Espectros de varredura sincronizada de AH extraídos do solo, medidos com diferença de comprimento de onda de emissão e excitação  $\Delta\lambda = 55$  nm. CE – solo adubado com efluente; NPK – solo com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio; M – solo de mata

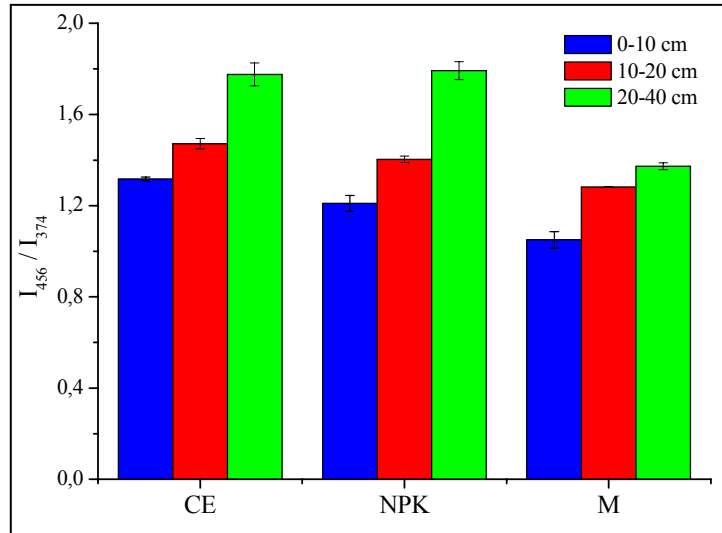


FIGURA 5.24 – Índice de humificação,  $I_{456}/I_{374}$ , obtido segundo metodologia de KALBITZ *et al.*, (2000) para os AH extraídos do solo. CE – solo adubado com efluente; NPK – solo com adubação mineral a base de nitrogênio, fósforo e potássio; M – solo de mata

De forma semelhante ao observado pelas metodologias de MILORI *et al.*, (2002) e ZSOLNAY *et al.*, (1999), o índice de humificação  $I_{456}/I_{374}$ , mostrou que as amostras de AH dos solos CE e NPK apresentaram o mesmo comportamento, revelando o mesmo índice de humificação (Figura 5.24).

A análise de correlação mostrou que os índices de humificação  $A_4/A_1$  e  $I_{456}/I_{374}$  apresentaram boa correlação ( $R: 0,9249$ ) enquanto que para o índice  $A_{465}$  obtiveram-se valores de  $R$  inferiores a 0,900, conforme pode ser visto na Figura 5.25.

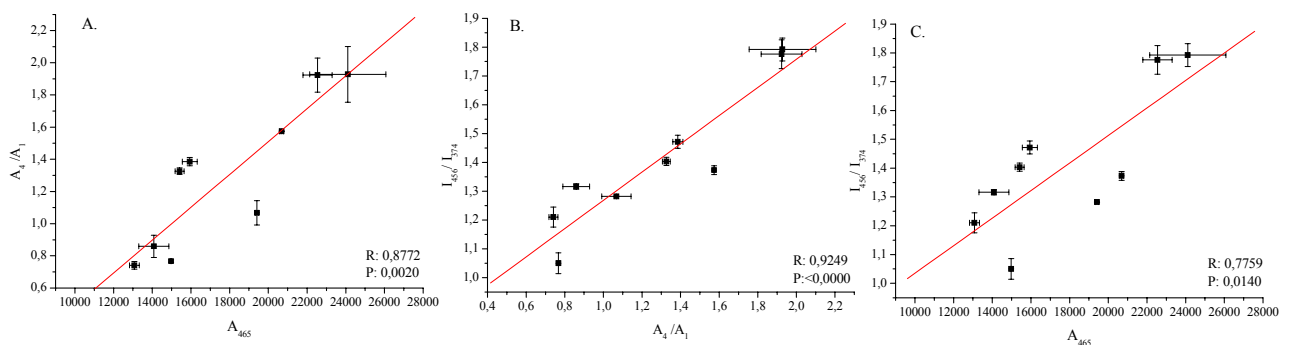


FIGURA 5.25 – Correlação entre as metodologias de fluorescência propostas para avaliar o índice de humificação das substâncias húmicas: A. MILORI e ZSOLNAY; B. ZSOLNAY e KALBITZ e C. MILORI e KALBITZ

## **CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES**

Os resultados obtidos mostraram que o efluente gerado pelo sistema da fossa séptica biodigestora apresentou composições variáveis, considerando as diferentes coletas e o tipo de inoculante utilizado.

A análise elementar e teor de cinzas indicaram não haver diferenças no percentual dos elementos que possa ser atribuída aos inoculantes bovino /ovino. O teor de cinzas observado para as amostras das três caixas do sistema foi alto, indicando que o material da Fossa Séptica Biodigestora possui uma fração mineral significativa. Esta fração mineral foi avaliada somente para o material da terceira caixa e revelou que, de fato, o efluente possui quantidades significativas de nutrientes que podem ser disponibilizados para as plantas. Também foram encontrados altos teores de Na em relação aos teores de nutrientes, no entanto, não foram observados efeitos de salinização no solo.

A análise da matéria orgânica do efluente por métodos espectroscópicos indicou não haver diferenças em sua composição com relação ao inoculante usado. No processo de biodegradação ao longo do sistema da fossa séptica biodigestora observou-se que não ocorreram alterações significativas na composição dos grupos funcionais da matéria orgânica do efluente. O efluente possui caráter bastante alifático e ao ser incorporado no solo, observa-se que modifica a matéria orgânica do solo.

A adição do efluente ao solo provocou modificação em suas propriedades físico-químicas. Foi observado um aumento no pH do solo, ocasionado em função do caráter alcalino e da ação da matéria orgânica do efluente. A análise de condutividade elétrica do extrato do solo mostrou que a adição do efluente não provocou efeitos de salinização no solo, visto que as concentrações de sais no efluente são altas.

Foi possível observar que a adição do efluente ao solo após 3 anos de aplicação, provocou significativas alterações na parte húmica da matéria orgânica do solo.

A análise elementar dos AH revelou que as amostras extraídas do solo CE apresentaram maior grau de saturação que os demais solos analisados, em função do caráter alifático da matéria orgânica do efluente que foi incorporada ao solo.

Os espectros de FTIR obtidos são típicos para AH. Neles as principais bandas estão associadas a grupos hidroxilas, alifáticos, carboxilatos, carbonila e amina. Os espectros não mostraram diferenças significativas para os três solos analisados.

Os resultados obtidos através da RPE e RMN de  $^{13}\text{C}$  indicaram uma diminuição no índice de humificação das amostras de AH do solo CE comparado ao solo com adubação NPK, nas camadas de 0-10 e 10-20 cm.

A reutilização do efluente, além de ser uma alternativa mais adequada sob o aspecto ambiental também é muito útil do ponto de vista agrícola, pois este demonstrou ser uma fonte de macro e micronutrientes para as plantas, além de matéria orgânica para o solo. As técnicas químicas e espectroscópicas mostraram que o benefício proporcionado pela adição de efluente ao solo, mesmo em um experimento de curta duração, pode ser significativo.



## **CAPÍTULO 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ALEM SOBRINHO, P. “Tratamento de esgoto e geração de lodo”. In: TSUTIYA, M.T.; COMPARINI, J.B.; ALEM SOBRINHO, P.; HESPANHOL, I.; CARVALHO, de P. de C.T. de; MELFI, A.J.; MELO, W.J. de; MARQUES, M.O. (Ed.). *Biossólidos na agricultura*. São Paulo: Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo, 2001. p. 7-40.
- ATKINS, P.; de PAULA, J. Físico-química. 7 ed. V.2. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2004. p. 195-350.
- BAES, A. V.; BLOOM, P. R. “Fulvic acid ultraviolet-visible spectra: influence of solvent and pH”. *Soil Science Society of American Journal*, v. **54**, p. 1248-1254, 1990.
- BATAGLIA, O.C.; BERTON, R.S.; CAMARGO, O.A.; VALADARES, J.M.A.S. “Resíduos orgânicos como fontes de nitrogênio para capim-braquiária”. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, v. **7**, p. 277-284, 1983.
- BIEROLAI, H.; VAISMAN, I.; FEIGIN, A. “Drip irrigation of cotton with treated municipal effluents: I. Yield response”. *Journal of Environmental Quality*, v.**13**, p. 231-234, 1984.
- BLOOM, P. R.; LEENHEER, J. A. “Vibrational, electronic, and high-energy spectroscopic methods for characterizing humic substances”. In: HAYES, M. H. B.; MACCARTHY, P.; MALCOLM, R. L.; SWIFT, R. S. (Ed.) *Humic substances II: In search of structure*. New York: John Wiley, 1989. p. 410-446.
- BOLZONELLA, D.; FATONE, F.; PAVAN, P.; CECCHI, F.; “Anaerobic fermentation of organic municipal solid wastes for the production of soluble organic compounds”. *Industrial Engineering Chemistry Research*, v. **44**, p. 3412-3418, 2005.
- BOUWER, H; IDELOVITCH, E. “Quality requirements for irrigation with sewage water”. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, v. **113**, p. 516-535, 1987.
- BURDON, J. “Are the traditional concepts of structures of humic substances realistic?” *Soil Science*, v. **166**, n. 11, p. 752-769, 2001.
- BUDZIAK, C.R.; MAIA, C.M.B.F.; MANGRICH, A.S. “Transformações químicas da matéria orgânica durante a compostagem de resíduos da indústria madeireira”. *Química Nova*, v. **27**, n. 3, p. 399-403, 2004.
- CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. A.; RUMJANEK, V. M.; MORAES, A. A.; GURIDI, F. “Distribuição da matéria orgânica e características de ácidos húmicos em solos com adição de resíduos de origem urbana”. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. **36**, n. 12, p. 1529-1538, 2001.
- CARVALHO, E.R.; MARTIN-NETO, L.; MILORI, D.M.B.P.; ROCHA, J.C.; ROSA, A.H. “Interactions of chlorine with tropical aquatic fulvic acids and formation of intermediates observed by fluorescence spectroscopy”. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. **15**, n. 53, p. 421-426, 2004.

CELI, L.; SCHNITZER, M.; NÈGRE, M. “Analysis of carboxil groups in soil humic acids by a wet chemical method, fourier-transform infrared spectrophotometry, and solution state carbon-13 nuclear magnetic resonance. A comparative study”. *Soil Science*, v. **162**, n. 3, p. 189-197, 1997.

CHEN, Y.; SENESI, N.; SCHNITZER, M. “Information provided on humics substances by E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> ratios”. *Soil Science Society American Journal*, v. **41**, p. 352-358, 1977.

CHIEN, Y.Y.; KIM, E.G.; BLEAM, W.F. “Paramagnetic relaxation of atrazine solubilized by micellar solutions”. *Environmental Science Technology*, v. **31**, p. 3204-3208, 1997.

CHESHIRE, M.V.; MCPHAIL, D.B. “Hyperfine splitting in the electron spin resonance solution spectra of humic substances”. *European Journal of Soil Science*, v. **47**, p. 205-213, 1996.

CLAPP, C.E.; HAYES, M.H.B. “Sizes and shapes of humic substances”. *Soil Science*, v. **164**, p. 777-789, 1999.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. *Relatório de qualidade das águas subterrâneas no Estado de São Paulo 2001 – 2003*. São Paulo: CETESB. p.77-94, 2004.

DA SILVA, W.T.L.; HANEDA, R.N.; NOVAES, A.P.; SIMÕES, M.L.; FIALHO, L.L.; MILORI, D.M.B.P.; MARTIN-NETO, L.; CAMPOS, J.B.; NETO, N.A.; FILHO, M.N.; ALMEIDA, L.C.P.; SILVEIRA, D. “Humification degree of fermentated urban residues determined by chemical and spectroscopic methods”. In: MARTIN-NETO, L.; MILORI, D.M.B.P.; DA SILVA, W.T.L.(Eds.) *Humic Substances and Soil and Water Environment*. São Carlos: Rima, p.550-553, 2004.

DARWISH, M.R.; EL-AWAR, F.A.; SHARARA, M.; HAMDAR, B. “Economic environmental approach for optimum wastewater utilization in irrigation: a case study in Lebanon”. *Applied Engineering in Agriculture*, v. **15**, p. 41-48, 1999.

DOBLE, M.; KUMAR, A. “Biotreatment of industrial effluents”. 1<sup>st</sup> ed. Burlington: Elsevier. 2005. 19-22p.

FEIGIN, A.; RAVINA, I.; SHALHEVET, J. *Irrigation with treated sewage effluent: management for environmental protection*. Berlin: Springer-Verlag, 1991. 224p.

FONSECA, A. F.; ALLEONI, L. R. F. ; MELFI, A.J.; MONTES, C.R. “Cation exchange capacity of an Oxisol amended with an effluent from domestic sewage treatment”. *Scientia Agricola*, Brazil, v. **62**, n. 6, p. 552-558, 2005.

FONSECA, A.F.; MELFI, A.J.; MONTEIRO, F. A.; MONTES, C. R.; ALMEIDA, V.V.; HERPIN, U. “Treated sewage effluent as a source of water and nitrogen for Tifton 85 bermudagrass”. *Agricultural Water Management*, Amsterdam, v. **87**, p. 328-336, 2007.

FRIEDEL, J.K.; LANGER, T.; SIEBE, C.; STAHR, K. “Effects of long-term wastewater irrigation on soil organic matter, soil microbial biomass, and its activities in central Mexico”. *Biology and Fertility Soils*, v. **31**, p. 414-421, 2000.

- GONZÁLEZ-PÉREZ, 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,  $^{13}\text{C}$  NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy". *Geoderma*, v. **118**, p. 181-190, 2004.
- GRUBE, M.; LIN, J.G.; LEE, P.H.; KOKOREVICH, S. "Evaluation of sewage sludge-based compost by FTIR spectroscopy". *Geoderma*, v. **130**, p. 324-333, 2006.
- GUIMARÃES, E. "Caracterização química, espectroscópica e por análise térmica de ácidos húmicos e vermicompostos obtidos de esterco de diferentes animais". Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná. 1997.
- HAYES, M.H.B.; CLAPP, C.E. "Humic substances: considerations of compositions, aspects of structures, and environmental influences". *Soil Science*, v. **166**, n. 11, p. 723-737, 2001.
- HUSSAR, G. J.; PARADELA, A.L.; BASTOS, M.C.; REIS, T.K.B.; JONAS, T.C.; SERRA, W.; GOMES, J.P.R. "Efeito do uso de efluente de reator anaeróbio compartimentado na fertirrigação da beterraba". *Engenharia Ambiental Pesquisa e Tecnologia*, v. **2**, n. 1, p. 35-45, 2005.
- IDE, K.; NAKAMURA, Y. "Determination of Ti, V, Zr, Nb, Mo e Ta in high-purity iron using cupferron co-precipitation separation by axially viewed ICP-AES with ultrasonic nebulization system and a long torch". *Materials Transactions*, v. **43**, n. 6, p. 1409-1414, 2002.
- INBAR, Y.; CHEN, Y.; HADAR, Y. "Solid state carbon-13 nuclear magnetic resonance and infrared spectroscopy of composted organic matter". *Soil Science Society American Journal*, v. **53**, p. 1695-1701, 1989.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. "Indicadores de Desenvolvimento Sustentável - Brasil 2002. Dimensão Ambiental - Saneamento. Tratamento de Esgoto". Rio de Janeiro, RJ. p. 126-127, 2002.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. "Indicadores de Desenvolvimento Sustentável - Brasil 2004. Dimensão Ambiental - Saneamento. Tratamento de Esgoto". Rio de Janeiro, RJ. p. 135-164, 2004.
- JEYASEELAN, S. "A simple mathematical model for anaerobic digestion process". *Water Science Technology*, v. **35**, p. 185-191, 1997.
- KALBITZ, K.; GEYER, S.; GEYER, W. "A comparative characterization of dissolved organic matter by means of original aqueous samples and isolated humic substances". *Chemosphere*, v. **40**, p. 1305-1312, 2000.
- KÖGEL-KNABER, I.; ZECH, W.; HATCHER, P.G. "Chemical structural studies of florets soil humic acids: aromatic carbon fraction". *Soil Science Society of America*, v. **55**, p. 241-247, 1991.
- KÖGEL-KNABER, I. " $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  NMR spectroscopy as a tool in soil organic matter studies". *Geoderma*, v. **80**, p. 243-270, 1997.

- LAKOWICZ, J. R. *Principles of fluorescence spectroscopy*. New York: Springer, 2004. 698p.
- LEITE, C. M. B.; BERNARDES, R. S.; OLIVEIRA, S. A. “Método de Walkley-Black na determinação da matéria orgânica em solos contaminados por chorume”. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. **8**, n. 1, p. 111-115, 2004.
- LUCHESE, E.B.; FAVERO, L.O.B.; LENZI, E. *Fundamentos da química do solo*. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 2002. 182p.
- LUMB, M. D. *Lumescence Spectroscopy*. New York: Academic Press, 1978. 375 p.
- MACCARTHY, P. “The principles of humic substances”. *Soil Science*, v. **166**, n. 11, p. 738-751, 2001.
- MARTIN-NETO, L.; NASCIMENTO, O. R.; TALAMONI, J.; POPPI, N. R. “EPR of micronutrients-humic substances complexes extracted from brazilian soil”. *Soil Science*, v. **151**, p. 369-376, 1991.
- MARTIN-NETO, L.; ANDRIULO, A. E.; TRAGUETTA, D. “Effects of cultivation on ESR spectra of organic matter from soil size fractions of a mollisol”. *Soil Science*, v. **157**, p. 365-372, 1994a.
- MARTIN-NETO, L.; VIEIRA, E.; SPOSITO, G. “Mechanism of atrazine sorption by humic acid: a spectroscopic study”. *Environmental Science and Technology*, v. **28**, p. 1867-1873, 1994b.
- MARTIN-NETO, L.; ROSSEL, R.; SPOSITO, G. “Correlation of spectroscopic indicators of humification with mean annual rainfall along a temperature grassland climosequence”. *Geoderma*, v. **81**, p. 305-311, 1998.
- MARTIN-NETO, L.; TRAGHETTA, D. G.; VAZ, C. M. P.; CRESTANA, S.; SPOSITO, G. “On the interaction mechanisms of atrazine and hydroxyatrazine with humic substances”. *Journal of Environmental Quality*, v. **30**, p. 520-525, 2001.
- MARTIN-NETO, L.; MILORI, D.M.B.P.; DA SILVA, W.T.L.(Eds.) *Humic Substances and Soil and Water Environment*. São Carlos: Rima, 2004, 763p.
- MC PHIE, P. “Enzyme Purification and Related Techniques: dialysis”. In: JACOBY, W. B. (Ed.). *Methods in Enzymology*. New York: Academic Press, 1971. v. **22**, p. 25-175.
- MELFI, A.J.; MONTES, C. R. “Impacto dos biossólidos sobre o solo”. In: TSUTIYA, M.T.; COMPARINI, J.B.; ALEM SOBRINHO, P.; HESPANHOL, I.; CARVALHO, de P. de C.T. de; MELFI, A.J.; MELO, W.J. de; MARQUES, M.O. (Eds.). *Biossólidos na agricultura*. São Paulo: Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo, 2001. p. 243-287.
- MELO, W. J.; MARQUES, M. O.; SANTIAGO, G.; CHELLI, R. A.; LEITE, S. A. S. “Efeito de doses crescentes de lodo de esgoto sobre frações da matéria orgânica e CTC de um latossolo cultivado com cana de açúcar”. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. **18**, p. 449-455, 1994.

- METCALF & EDDY, Inc. *Wastewater engineering treatment disposal reuse*. 3.ed. New York: MacGraw-Hill, 1991. 1334p.
- METZER, L.; YARON, B. "Influence of sludge organic matter on soil physical properties". *Soil Science*, v. 7, p. 141-163, 1987.
- 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*, v. **167**, n.11, p. 739-749, 2002.
- MILORI, D.M.B.P.; GALETI, H.V.A.; MARTIN-NETO, L.; GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; SALTON, J. "Humification degree of organic matter in whole soil determined by laser-induced fluorescence". In: MARTIN-NETO, L.; MILORI, D.M.B.P.; DA SILVA, W.T.L.(Eds.) *Humic Substances and Soil and Water Environment*. São Carlos: Rima, p.609, 2004.
- MILORI, D. M. B. P.; GALETI, H. V. A.; MARTIN-NETO, L.; DIEKOW, J.; GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; BAYER, C.; SALTON, J. "Organic matter study of whole soil sample using laser-induced fluorescence spectroscopy". *Soil Science Society American Journal*, v. **70**, p. 57-63, 2006.
- MIRANDA, T.L. "Uso de águas residuárias em irrigação agrícola". Dissertação (Mestrado) Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995, 111p.
- NAIDJA, A.; HUANG, P.M.; ANDERSON, D.W.; VAN KESSEL, C. "Fourier transform infrared, UV-Visible, and X-ray diffraction analysis of organic matter in humin, humic acid, and fulvic acid fractions in soil exposed to elevated CO<sub>2</sub> and N fertilization". *Applied Spectroscopy*, v. **56**, n. 3, p. 318-324, 2002.
- NAKANISHI, K. *Infrared absorption spectroscopy*. Tokyo: Nankondo, 1962. 233p.
- NARIMOTO, K.M. "Técnicas espectroscópicas aplicadas à análise da matéria orgânica do solo em pomares de citros sob adição de lodo de esgoto". Dissertação (Mestrado em Ciências – Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006. 112p.
- NICOLARDOT, B.; RECOUS, S.; MARY, B. "Simulation of C and N mineralisation during crop residue decomposition: a simple dynamic model based on the C:N ratio of the residues". *Plant Soil*, v. **228**, p. 83-103, 2001.
- NGOLE, V.; MPUCHANE, S.; TOTOLO, O. "Survival of faecal coliforms in four different types of sludge-amended soils in Botswana". *European Journal of Soil Biology*, v. **42**, p.208-218, 2006.
- NIEMEYER, J.; CHEN, Y.; BOLLAG, J.M. "Characterization of humic acids, composts, and peat by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy". *Soil Science Society of America Journal*, v. **56**, p. 135-140, 1992.

NOTOTNY, E.H. “Estudos espectroscópicos e cromatográficos de substâncias húmicas de solos sob diferentes sistemas de preparo”. Tese (Doutorado em Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002. 231 p.

NOVAES, A.P.; SIMÕES, M.L.; MARTIN-NETO, L.; CRUVINEL, P.E.; SANTANA, A.; NOVOTNY, E. H.; SANTIAGO, G.; NOGUEIRA, A.R.A. “Utilização de uma fossa séptica para melhoria do saneamento rural e desenvolvimento da agricultura orgânica”. *Comunicado Técnico 46*. Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, 2002.

NOVAES, A. P.; SIMOES, M. L.; INAMASU, R. Y.; JESUS, E. A. P.; MARTIN-NETO, L.; SANTIAGO, G. ; DA SILVA, W. T. L. “Saneamento Básico na Área Rural”. In: SPADOTTO, C.; Ribeiro, W.(Org.). *Gestão de Resíduos na Agricultura e na Agroindústria*. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 2006, p. 262-275.

OHNO, T. “Fluorescence inner-filtering correction for determining the humification index of dissolved organic matter”. *Environmental Science Technology*, v. **36**, p. 742-746, 2002.

OLENDZIK, R.N. “Caracterização das interações de substâncias húmicas com a matéria inorgânica em solo de cultivo de arroz irrigado: contribuição à aquisição de dados essenciais para a avaliação global do seqüestro de carbono no solo”. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006. 153p.

OLIVEIRA, F. C.; MATTIAZO, M, E.; MARCIANO, C. R.; ROSSETTO, R. “Efeitos de aplicações sucessivas de lodo de esgoto em um latossolo amarelo distrófico cultivado com cana de açúcar: carbono orgânico, condutividade elétrica, pH e CTC”. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. **26**, p. 505-519, 2002.

OLK, D. C.; BRUNETTI, G.; SENESI, N. “Organic matter in double – cropped lowland rice soils: chemical and spectroscopical properties”. *Soil Science*, v. **164**, n. 19, p. 633-649, 1999.

ORON, G.; CAMPOS, C.; GILLERMAN, L.; SALGOT, M. “Wastewater treatment, renovation in reuse for irrigation in small communities”. *Agricultural Water Management*, v. **38**, p. 223-234, 1999.

PEURAVUORI, J.; INGMAN, P.; PIHLAJA, K. “Critical comments on accuracy of quantitative determination of natural humic matter by solid state  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy”. *Talanta*, v. **59**, p. 177-189, 2003.

PICANÇO, A.P.; GIANOTTI, E.P.; BLUNDI, C.E. “Avaliação da atividade biológica de degradação de proteínas, carboidratos e lipídios por células imobilizadas desenvolvidas em diferentes materiais suportes num mesmo reator anaeróbio de leito fixo”. In: XXVII Congresso Interamericano de Ingenieria Sanitaria y Ambiental, 2000, Porto Alegre, 2000.

PICCOLO, A.; STEVENSON, F.J. “Infrared spectra of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$  complexes of soil humic substances”. *Geoderma*, v. **27**, p. 195-208, 1982.

PICCOLO, A. “The supramolecular structure of humic substances”. *Soil Science*, v. **166**, p. 810-832, 2001.

PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O DESENVOLVIMENTO. “Objetivos de Desenvolvimento do Milênio — Uma visão a partir da América Latina e do Caribe”. 2005. <http://www.pnud.org.br> – documento acessado: 20/01/2006.

POOLE Jr., C.P. *Electron spin resonance: a comprehensive treatise on experimental techniques*. New York, Wiley-Interscience, 1967. 921p.

POOLE, C. P.; FARACH, H. A. *The theory of magnetic resonance*. New York: John Wiley, 1972. 452 p.

POLAK, J.; SULKOWSKI, W. W.; BARTOSZEK, M.; PAPIEZ, W. “Spectroscopic studies of the progress of humification processes in humic acid extracted from sewage sludge”. *Journal of Molecular Structure*, v. **744-747**, p. 983-989, 2005.

PRESTON, C. M.; HEMPLING, R.; SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M.; TROFYMOV, J. A.; AXELSON, D. E. “Characterization of organic matter in a forest soil of coastal British Columbia by NMR and pyrolysis-field ionization mass spectrometry”. *Plant and Soil*, v. **158**, p. 69-82, 1994a.

PRESTON, C. M.; NEWMAN, R. H.; ROTHER, P. “Using <sup>13</sup>C CPMAS NMR to assess effects of cultivation on the organic matter of particle size fractions in a grassland soil”. *Soil Science*, v. **157**, p. 26-35, 1994b.

PRESTON, C. M. “Applications of NMR to soil organic matter analysis: history and prospects”. *Soil Science*, v. **161**, n. 3, p. 144-166, 1996.

REEVES, D.W. “The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems”. *Soil and Tillage Research*, v. **43**, p. 131-167, 1997.

RIFFALDI, R.; SCHNITZER, M. “Electron spin resonance spectrometry of humic substances” *Soil Science Society of America Journal*, v. **36**, p. 301-305, 1972.

RIVERO, C.; SENESI, N.; PAOLINI, J.; D’ORAZIO, V. “Characteristics of humic acids of some Venezuelan soils”. *Geoderma*, v. **81**, p. 227-239, 1998.

RUIZ, R.L. *Microbiologia Zootécnica.*, São Paulo: Livraria Roca, 1992. 314p.

SAAB, S. C. “Caracterização da matéria orgânica em gleissolos por espectroscopias de EPR, RMN, IV e UV-Visível”. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999. 111p.

SAADI, I.; BORISOVER, M.; ARMON, R.; LAOR, Y. “Monitoring of effluent DOM biodegradation using fluorescence, UV and DOC measurements”. *Chemosphere*, v. **63**, p. 530-539, 2006.

SANTOS, E.J. “Determinação de nutrientes e contaminantes inorgânicos em café solúvel por espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido (ICP AES)”. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

SANTOS, L.M. “Dinâmica da matéria orgânica e destino de metais pesados em dois solos submetidos à adição de lodo de esgoto”. Dissertação (Mestrado em Ciências – Química

Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006. 142p.

SARGENTINI-JUNIOR E.; ROCHA, J.C.; ROSA, A.H.; ZARA, L.F.; SANTOS, A. “Substâncias húmicas aquáticas: fracionamento molecular e caracterização de rearranjos internos após complexação com íons metálicos”. *Química Nova*, v. **24**, n.3, p. 339-344, 2001.

SCHNITZER, M.; KHAN, S.U. *Soil organic matter*. Amsterdam: Elsevier, 1978. 319p.

SCHNITZER, M.; PRESTON, C. M. “Analysis of humic acids by solution and solid-state carbon-13 nuclear magnetic resonance”. *Soil Science Society of America Journal*, v. **50**, p. 326-331, 1986.

SCHOKEN-ITURRINO, R.P.; BENINCASA, M.; LUCAS Jr., J.; FELIS, S. D. “Biodigestores contínuos: isolamento de bactérias patogênicas no efluente”. *Engenharia Agrícola*, v. **15**, p. 105-108, 1995.

SCHULTEN, H. R., SCHNITZER, M. “A state of the art structural concept for humic substances”. *Naturwissenschaften*, v. **80**, p. 29-30, 1993.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. “Chemical model structures for soil organic matter and soils”. *Soil Science*, v. **162**, p. 115-130, 1997.

SENESI, N.; SCHNITZER, M. “Effects of pH, reaction time, chemical reduction and irradiation on ESR spectra of fulvic acid”. *Soil Science*, v. **123**, p. 224-234, 1977.

SENESI, N.; SPOSITO, G.; HOLTZCLAW, K.M.; BRADFORD, G.R. “Chemical properties of metal-humic acid fractions of a sewage sludge amended aridisol”. *Journal of Environmental Quality*, v. **18**, n.2, p. 186-194, 1989.

SENESI, N. “Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. Part I. The electron spin resonance approach”. *Analytic Chimica Acta*, v. **232**, p. 51-75, 1990a.

SENESI, N. “Application of electron spin resonance (ESR) spectroscopy in soil chemistry”. *Soil Science*, v. **14**, p. 77-130, 1990b.

SENESI, N.; MIANO, T. M.; PROVENZANO, M. R.; BRUNETTI, G. “Characterization, differentiation, and classification of humic substances by spectroscopy”. *Soil Science*, v. **152**, n. 4, p. 259-271, 1991.

SENESI, N. “Application of electron spin resonance and fluorescence spectroscopies to the study of humic substances”. In: KUBAT, J. (Ed.). *Humus, its structure and role in agriculture and environment*. Amsterdam: Elsevier, 1992. p. 11-26.

SENESI, N.; LOFFREDO, E. “The Chemistry of Soil Organic Matter”. In: SPARKS, D. L. (Ed.) *Soil physical chemistry*. Boca Raton: CRC, 1999, p. 242-370.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. 6 ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora, 2000. 460p.



- SIMONETE, M.A.; KIEHL, J.C.; ANDRADE, C.A.; TEIXEIRA, C.F.A. “Efeito do lodo de esgoto em um argissolo no crescimento de nutrição do milho”. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. **38**, p. 1187-1195, 2003.
- SIMPSON, A. J. “Determining the molecular weight, aggregation, structures and interactions of natural organic matter using diffusion ordered spectroscopy”. *Magnetic Resonance in Chemistry*, v. **40**, p.72-80, 2002.
- SIMPSON, A. J.; KINGERY, W. L.; SWAW, D. R.; SPRAUL, M.; HUMPFER, E.; DVORTSAK, P. “Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment”. *Naturwissenschaften*, v. **89**, p. 84-88, 2002.
- SINGER, L. S. “Synthetic ruby as a secondary standard for the measurement of intensities in electron paramagnetic resonance”. *Journal Applied Physiology*, v. **30**, p. 1463-1464, 1959.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. *Análise Instrumental*. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836p.
- SOUSA, J.T. de; ARAÚJO, H.W.C. de; CATUNDA, P.F.C.; FLORENTINO, E.R. “Tratamento de esgotos sanitários por filtro lento, objetivando produzir efluente para reuso na agricultura”, In: Simpósio Luso-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 9, João Pessoa, PB, 1998, v. **1**, T.1, p. 317-327, ABES, Rio de Janeiro, 1998.
- SOUSA, J.T. de; LEITE, V.D.; DANTAS, J.P.; DIONÍZIO, J.A. “Reuso de efluentes de esgotos sanitários na cultura do arroz”. In: Simpósio Luso-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 9, Porto Seguro, Ba, 2000. p.1058-1063, ABES, Rio de Janeiro, 2000.
- SOUSA, J.T. de; LEITE, V.D.; LUNA, J.G. de. “Desempenho da cultura de arroz irrigado com esgotos sanitários previamente tratados”. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. v. **5**, n.1, p. 107-110, 2001.
- SPOSITO, G.; MARTIN-NETO, L.; YANG, A. “Atrazine complexation by soil humic acids”. *Journal of Environmental Quality*, v. **25**, p. 1203-1209, 1996.
- STEVENSON, F.J. *Humics Chemistry: genesis, composition, reactions*. New York: John Wiley, 1994. 443p.
- STEVENSON, F. J. *Cycles of soil: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients*. New York: John Wiley, 1986. 380 p.
- STUART, B. *Modern Infrared Spectroscopy: Analytical Chemistry by Open Learning*. New York: John Wiley, 1996. 179p.
- SWIFT, R. S. “Molecular weight, size, shape, and charge characteristics of humic substances: Some basic considerations”. In: HAYES, M. H. B.; MacCARTHY, P.; MALCOLM, R. L.; SWIFT, R. S. (Eds.) *Humic substances II: In search of structure*. New York: John Wiley, 1989. p. 449-466.
- SWIFT, R.S. “Organic matter characterization”. In: SPARKS, et al. (Eds.) *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods. Soil Science Society of America Journal*. Book Series: 5 Madison, *Soil Science Society of America Journal*, p. 1018-1020, 1996.

TOMÉ Jr., J.B. *Manual para interpretação de análise de solo*. Guaíba: Agropecuária, 1997. 247p.

TREVIZAN, L.C.; NOGUEIRA, A.R.A. & NÓBREGA, J.A. “Single vessel procedure for acid vapor partial digestion of bovine liver in a focused microwave: simultaneous by ICP-OES”. *Talanta*, v. **61**, n. 2, p. 81-86, 2003.

VAN RAIJ, B.; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. *Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais*. Campinas, Instituto Agrônômico, 2001. 285p.

VANDECASTEELE, C.; BLOCK, C. B. *Modern methods for trace element determination*. Chichester: John Wiley, 1993. 330p.

VEEMAN, W. S. “Nuclear magnetic resonance: a simple introduction to the principles and applications”. *Geoderma*, v. **80**, p. 225-242, 1997.

VO-DINH, T. “Multicomponent analysis by synchronous luminescence spectrometry”. *Analytical Chemistry*. v. **50**, p. 396-401, 1978.

YAN, F.; SCHUBERT, S.; MENGEL, K. “Soil pH increase due to biological decarboxylation of organic anions”. *Soil Biology & Biochemistry*, v. **28**, p. 617-624, 1996.

WATANABE, A.; MCPHAIL, D.B.; MAIE, N.; KAWASAKI, S.; ANDERSON, H.A.; CHESHIRE, M.V. “Electron spin resonance characteristics of humic acids from a wide range of soil types”. *Organic Geochemistry*, v. **36**, p. 981-990, 2005.

WEIL, J. A.; BOLTON, J. R.; WERTZ, J.E. *Electron paramagnetic resonance: elementary theory and practical applications*. New York: John Wiley, 1994. 568p.

WILSON, M. A. “Soil organic matter maps by nuclear magnetic resonance”. *Journal of Soil Science*, v. **35**, p. 209-215, 1984.

WILSON, M. A. *NMR techniques and applications in geochemistry and soil chemistry*. Oxford: Pergamon, 1987. 353 p.

ZECH, W.; SENESI, N.; GUGGNBERGER, G.; KAISER, K.; LEHMANN, J.; MIANO, T. M.; MILTNER, A.; SCHROTH, G. “Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics”. *Geoderma*, v. **79**, p. 117-161, 1997.

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

ZSOLNAY, A. “Comment on Fluorescence inner-filtering correction for determining the humification index of dissolved organic matter”. *Environmental Science & Technology*, v. **36**, p. 4195-4195, 2002.