UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

**Caracterização da matéria orgânica em processo de
compostagem por métodos convencionais e
espectroscópicos**

Lucimar Lopes Fialho

Tese apresentada ao Instituto de
Química de São Carlos, da
Universidade de São Paulo, para
a obtenção do título de Doutora
em Ciências – Química Analítica.

Orientador: Dr. Ladislau Martin Neto

**São Carlos
2007**

A Deus
pela força, luz e inspiração

OFEREÇO

Aos meus queridos pais: João e Maria Eugênia
pelo exemplo de vida, força, luta e caráter
que me conduziram até aqui.

Ao meu irmão: Marcelito, pelo incentivo.

Ao meu noivo: Garbin, pelo incentivo carinho e
presença em todos os momentos.

Com todo o meu amor

DEDICO

“O Senhor é meu pastor, nada me faltará.
Em verdes prados ele me faz repousar.
Conduz-me junto às águas refrescantes,
restaura as forças de minha alma.
Pelos caminhos retos ele me leva,
por amor do seu nome.
Ainda que eu atravessasse o vale escuro,
nada temerei, pois estais comigo.
Vosso bordão e vosso báculo
são o meu amparo.
Preparais para mim a mesa
à vista de meus inimigos.
Derramais o perfume sobre minha cabeça,
e transborda minha taça.
A vossa bondade e misericórdia hão de seguir-me
por todos os dias da minha vida.
E habitarei na casa do Senhor
por longos dias.”

(Salmo 22)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por mais esta realização.

Ao Dr. Ladislau Martin Neto, pela orientação, apoio, incentivo e confiança no meu trabalho. Meus mais sinceros agradecimentos.

À FAPESP pela bolsa concedida e pelo apoio financeiro.

Ao Dr. Wilson Tadeu Lopes da Silva, pela valiosa colaboração e inúmeras sugestões no decorrer da realização de todo o trabalho e, principalmente, pela amizade. Meus sinceros agradecimentos.

À Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori pelas valiosas sugestões e discussões no decorrer da realização deste trabalho.

Ao Dr. Marcelo Luiz Simões, Dr. Luiz Alberto Colnago e Dr. Marcelo Eduardo Alves pelas valiosas discussões e sugestões.

Ao engenheiro Lourenço e à Dona Jacira, da fazenda Santa Cândida – Sobloco, pela inestimável ajuda na montagem e monitoramento das leiras de compostagem.

À Ana Maria, por sua disposição em ajudar e solucionar todas as questões burocráticas e pela ajuda na organização dos relatórios da reserva técnica da FAPESP.

Ao Renê pela constante ajuda e criatividade para solucionar os diversos problemas, durante a montagem do experimento (montagem das leiras) e no laboratório.

À Valéria (bibliotecária da Embrapa Instrumentação Agropecuária) pela constante disponibilidade em ajudar.

À Dra. Maria Olímpia de Oliveira Rezende e a sua orientada Jussara de Oliveira Cotta, pela valiosa colaboração nas análises de carbono dos compostos.

Ao Gilberto da Embrapa Pecuária Sudeste, pela cooperação na determinação dos macro e micronutrientes dos compostos.

À Dra. Mônica Ferreira de Abreu, pesquisadora do Instituto Agronômico de Campinas, e a técnica Tânia Nunes, pela atenção e disponibilidade do laboratório para análise da CTC dos compostos.

À estagiária Lúcia Wolf pela valiosa ajuda no laboratório e pela amizade.

Aos amigos e colegas de trabalho: Ursula (Ursulita), Aline, Martha, Eduarda, Larissa, Poliana, Adriana, Kelly, Fernanda, Eduardo Borato, Jeferson, Rosilene, Helder,

Cléber, Vanessa, Tiago Venâncio, Maria Alice, Tatiana Bicudo, Rafael Albieri, pela agradável convivência.

Aos estagiários, telefonistas, técnicos, pesquisadores e colegas da Embrapa Instrumentação Agropecuária, sempre atenciosos e prestativos.

À amiga Simone (de Viçosa), que apesar da distância esteve sempre presente.

Ao MSc. Fernando França da Cunha (da UFV) e ao MSc. Ednaldo Ferreira, pela ajuda nas análises estatísticas.

Aos amigos Mário Sérgio e Elivelton, que me receberam na primeira visita à São Carlos, pelo carinho, incentivo e amizade.

Às amigas da república “Tudo de bom”, Jussara e Marisa (que me acolheram na república), a Roberta (que com o seu jeito sempre meiga e amiga esteve presente nos momentos bons e nos momentos difíceis, obrigada pelo carinho e amizade), a Ursulita (que sempre esteve disposta a conversar e ajudar nos momentos difíceis e a compartilhar e comemorar os momentos bons), a Lia, Shirley, Idáliria, Juliana, Grazielle e Fernanda pela agradável convivência e aprendizado.

À Embrapa Instrumentação Agropecuária pela excelente infra-estrutura e ótimo ambiente de trabalho.

Ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo pela oportunidade concedida.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO.....	22
2. OBJETIVOS.....	26
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	27
3.1. Processo de compostagem.....	27
3.2. Métodos para determinar o grau de maturação e estabilização de compostos.....	32
3.3. Matéria orgânica e substâncias húmicas de compostos.....	34
3.4. Breve descrição das técnicas espectroscópicas utilizadas neste trabalho.....	39
3.4.1. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE).....	39
3.4.2. Ressonância Magnética Nuclear de ¹³C (RMN de ¹³C).....	43
3.4.3. Fluorescência de luz no Ultravioleta e Visível (UV – Vis).....	49
3.4.4. Absorção no UV – Vis.....	53
3.4.5. Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	56
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	58
4.1. Resíduos.....	58
4.2. Montagem do experimento.....	61
4.3. Análises físicas e químicas.....	66
4.3.1. Relação C/N.....	66

4.3.2. pH.....	67
4.3.3. Teor de cinzas do composto.....	67
4.3.4. Obtenção da lignina Klason.....	68
4.3.5. Determinação da capacidade de troca catiônica (CTC).....	68
4.3.6. Análise de macro e micronutrientes nos compostos.....	70
4.3.7. Extração dos ácidos húmicos (AH).....	70
4.3.7.1. Purificação dos AH.....	71
4.3.7.2. Teste de pureza: determinação do teor de cinzas...	72
4.3.7.3. Determinação da relação C/N dos AH.....	72
4.4. Análises Espectroscópicas.....	72
4.4.1. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE).....	72
4.4.2. Fluorescência de luz no UV – Vis.....	74
4.4.3. Absorção de luz no UV – Vis.....	75
4.4.4. Ressonância Magnética Nuclear (RMN de ¹³ C).....	75
4.4.5. Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	76
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	77
5.1. Caracterização dos resíduos.....	77
5.2. Monitoramento físico e químico do processo de compostagem.....	79
5.2.1. Volume das leiras.....	79
5.2.2. Teor de umidade.....	81
5.2.3. pH.....	81
5.2.4. Teor de cinzas.....	82
5.2.5. Temperatura.....	84
5.2.6. Relação C/N.....	87
5.2.7. Determinação da capacidade de troca catiônica pelo teor de carbono (CTC/C)	90
5.2.8. Análise de macro e micronutrientes nos compostos.....	93
5.2.9. Extração dos AH.....	96
5.2.9.1. Rendimento de AH extraídos.....	96
5.2.9.2. Determinação da relação C/N dos AH.....	96
5.2.9.3. Teor de cinzas dos AH.....	97
5.3. Análises Espectroscópicas.....	98

5.3.1. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE).....	98
5.3.1.1. Análise dos compostos.....	98
5.3.1.2. Análise dos AH extraídos dos compostos.....	107
5.3.2. Fluorescência de luz UV – Vis.....	113
5.3.2.1. Determinação da melhor concentração dos AH para as análises de fluorescência.....	113
5.3.2.2. Análise de fluorescência nos modos de emissão, excitação e varredura sincronizada.....	115
5.3.2.3. Índice de maturação e estabilização dos compostos propostos através da técnica de fluorescência.....	124
5.3.2.4. Correlação dos índices de fluorescência dos AH com a relação C/N dos compostos.....	132
5.3.2.5. Correlações dos índices de fluorescência dos AH com as concentrações de RLO dos AH determinadas por RPE.....	134
5.3.3. Absorção UV – Vis.....	136
5.3.4. Ressonância Magnética Nuclear (RMN de ¹³C).....	142
5.3.5. Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	149
 6. CONCLUSÕES.....	 153
 PROPOSTAS DE TRABALHOS FUTUROS.....	 157
 REFERÊNCIAS.....	 158

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1: Esquema de processo de compostagem (Adaptado de Tuomela et al., 2000).....	27
Figura 3.2: Curva de temperatura durante o processo de compostagem (Trautmann e Olynciw, 2005).....	29
Figura 3.3: Esquema apresentando o ciclo global do carbono.....	30
Figura 3.4: Precursores básicos na formação da molécula de lignina.....	31
Figura 3.5: Principais unidades aromáticas presentes na molécula de lignina.	31
Figura 3.6: Modelo estrutural macromolecular dos AH desenvolvida por Schulten e Schnitzer (1993). O símbolo ~ representa seqüências de cadeias alifáticas de comprimento variável.....	37
Figura 3.7: Esquema de estrutura das substâncias húmicas proposto por Simpson et al. (2002). As unidades vermelhas representam os cátions metálicos, as unidades pretas os polissacarídeos, as unidades azuis os polipeptídios, as unidades verdes representam as cadeias alifáticas e as unidades marrons os fragmentos aromáticos provenientes da lignina.....	39
Figura 3.8: Separação dos níveis de energia causada por um campo magnético (H) de alta intensidade e a transição eletrônica provocada pela radiação incidente (a); sinal registrado pelo equipamento de RPE para a absorção da radiação incidente (b); 1ª derivada do sinal registrado, permitindo a identificação do fator g (c).....	40
Figura 3.9: Sinal típico dos radicais livres orgânicos do tipo semiquinona (a) e espectro com varredura mais ampla mostrando sinais de íons ferro (Fe^{3+}) (b), obtidos por RPE.....	42
Figura 3.10: Equilíbrio entre radical livre orgânico do tipo semiquinona (RLO), quinona e hidroquinona (Senesi, 1990a).....	42
Figura 3.11: Níveis de energia para um núcleo de momento angular $I = \frac{1}{2}$ sob ação de um campo magnético B_0	44
Figura 3.12: Esquema comparativo do B_1 para a seqüência de polarização cruzada (a) e da polarização cruzada com amplitude variável (b).....	48
Figura 3.13: Espectro de RMN de ^{13}C CP/MAS de amostra sólida com as respectivas atribuições de deslocamentos químicos dos átomos de carbono de matéria orgânica de solos (Skjemstad, 1998).....	49
Figura 3.14: Transição eletrônica do estado fundamental ao primeiro estado excitado de uma molécula devido à absorção de energia (a), retorno ao estado fundamental através da emissão de fluorescência (b).....	50

Figura 3.15: Diagrama dos vários tipos de excitação eletrônica que podem ocorrer em moléculas orgânicas.....	54
Figura 3.16: Alguns dos cromóforos encontrados nas substâncias húmicas (Stevenson, 1994).....	55
Figura 3.17: Principais tipos de vibrações moleculares. Os sinais + e – indicam vibrações perpendiculares ao plano do papel (Stuart, 1996).....	56
Figura 4.1: Fotos do equipamento usado para triturar a poda de árvores (a) e poda triturada usada no experimento (b).....	58
Figura 4.2: Fotos dos resíduos utilizados na montagem das leiras para acompanhamento do processo de compostagem: poda de árvores triturada (a), bagaço de laranja (b), torta de filtro (c) e esterco bovino fresco (d).....	61
Figura 4.3: Fotos do bagaço de laranja antes de triturar (a) e depois de triturado (b).	63
Figura 4.4: Fotos da montagem das leiras: montagem do molde de madeira (a), mistura dos resíduos (b), enchimento do molde com a mistura dos resíduos (c) e desmontagem do molde para estruturação da leira (d).....	64
Figura 4.5: Foto das leiras no dia da montagem do experimento.....	65
Figura 4.6: Gráficos de $\log(I/P^{1/2})$ versus $\log(P^{1/2})$ do material <i>in natura</i> (a) e dos AH (b).....	73
Figura 5.1: Espectros de RLO dos resíduos <i>in natura</i> utilizados na avaliação do processo de compostagem: poda de árvores (a), esterco bovino (b), bagaço de laranja (c) e torta de filtro (d), obtidos por RPE.....	78
Figura 5.2: Fotos das leiras no tempo zero (a) e com 210 dias de compostagem (b).....	79
Figura 5.3: Teor de C total (g kg^{-1}) nas leiras L1, L2, L3, L4, L5 e L6 em função do tempo de compostagem.....	80
Figura 5.4: Monitoramento da umidade em função do tempo (semanas) de compostagem em cada leira.....	81
Figura 5.5: Variação do pH em função do tempo de compostagem das 6 leiras (média de 4 repetições).....	82
Figura 5.6: Variação do teor de cinzas nas leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c), L4 (d), L5 (e) e L6 (f) em função do tempo de compostagem (média de 4 repetições). Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).....	83

Figura 5.7: Variação da temperatura no interior das leiras (em três pontos distintos e a média destes pontos) L1 (a), L2 (b), L3 (c), L4 (d), L5 (e) e L6 (f), em função do tempo de compostagem.....	85
Figura 5.8: Foto mostrando o revolvimento da leira (L2) no sétimo dia de compostagem (o interior da leira apresenta alta temperatura).....	86
Figura 5.9: Curvas da variação da relação C/N nas leiras em função do tempo de compostagem (média de 4 repetições) e informações dos parâmetros das curvas de ajustes.....	88
Figura 5.10: Variação da relação C/N nas leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c), L4 (d), L5 (e) e L6 (f) em função do tempo de compostagem (média de 4 repetições). Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)......	89
Figura 5.11: Variação da CTC por grama de carbono dos compostos das leiras L1, L2, L3 e L4 em função do tempo de compostagem (média de 3 repetições).....	91
Figura 5.12: Fórmula estrutural da pectina.....	92
Figura 5.13: Determinação da CTC por grama de carbono dos compostos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem (média de 3 repetições). Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)......	93
Figura 5.14: Variação da massa de AH extraídos, partindo-se de 100 g de composto, nos diferentes tempos de compostagem (média de 2 repetições). ..	96
Figura 5.15: Variação da relação C/N dos AH extraídos dos compostos das leiras L1, L2, L3 e L4 (média de 2 repetições).....	97
Figura 5.16: Variação dos teores de cinzas dos AH extraídos em função do tempo de compostagem (média de 2 repetições).....	97
Figura 5.17: Sinal típico dos radicais livres orgânicos do tipo semiquinona (RLO) (a), espectro com varredura mais ampla mostrando sinais de íons ferro (Fe^{3+}) (b) e sinal do SiO_2 observado nos compostos das leiras L1, L2 e L3 juntamente com o sinal do RLO (c).....	99
Figura 5.18: Sinais de RLO do composto da L1 em função do tempo de compostagem (a), largura de linha (ΔH) do sinal de RLO dos compostos da L1, L2 e L3, em função do tempo, sendo a média de 4 repetições (b).....	100
Figura 5.19: Espectro de RPE com varredura do campo magnético de 0 a 5000 Gauss (a) e na região do sinal dos RLO ilustrado a distorção do sinal devido à interferência do ferro (b).....	101

Figura 5.20: Concentrações de RLO em spins (g de carbono) ⁻¹ ($\times 10^{17}$) dos materiais <i>in natura</i> das leiras L1, L2 e L3 em função do tempo de compostagem, determinadas por RPE (média de 4 repetições).....	102
Figura 5.21: Esquema da estabilização do radical livre semiquinona em função das condições do meio (Senesi, 1990a).....	103
Figura 5.22: Concentrações de RLO em spins (g de carbono) ⁻¹ ($\times 10^{17}$) do composto <i>in natura</i> , do composto sem AH, da lignina e dos AH da L1 no tempo zero e após os 210 dias de compostagem, determinadas por RPE (média de 4 repetições).....	104
Figura 5.23: Concentrações de RLO em spins g ⁻¹ ($\times 10^{17}$) da lignina comercial sem tratamento (1) e após o tratamento (2) e (3), determinadas por RPE (média de 2 repetições).....	105
Figura 5.24: Esquema estrutural da lignina de madeira moída da Faia (<i>Fagus silvatica</i>), (Fengel e Wegener, 1984).....	106
Figura 5.25: Sinais de RLO dos AH extraídos da L1 em função do tempo de compostagem (a), largura de linha (ΔH) do sinal de RLO dos AH extraídos dos compostos da L1, L2, L3, L4, L5 e L6, em função do tempo de compostagem, sendo a média de 4 repetições (b).....	107
Figura 5.26: Concentrações dos RLO em spins g ⁻¹ de amostra ($\times 10^{17}$) dos AH extraídos das leiras L1, L2, L3, L4, L5 e L6 em função do tempo de compostagem, determinadas por RPE (média de 4 repetições).....	108
Figura 5.27: Valores do fator g dos RLO dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c), L4 (d), L5 (e) e L6 (f), em função do tempo de compostagem (média de 4 repetições).....	111
Figura 5.28: Correlações entre as concentrações de RLO dos AH extraídos dos compostos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) e a razão atômica C/N dos compostos.....	112
Figura 5.29: Espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc.} = 240$ nm dos AH extraídos das amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em algumas das concentrações em estudo.....	114
Figura 5.30: Variações das intensidades de fluorescência dos espectros de emissão com $\lambda_{exc.} = 240$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função das concentrações dos AH.....	114
Figura 5.31: Espectros de emissão com $\lambda_{exc.} = 240$ nm dos AH extraídos de amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos diferentes tempos de compostagem.....	116

Figura 5.32: Espectros de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 55$ nm dos AH extraídos de amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos diferentes tempos de compostagem.....	117
Figura 5.33: Espectros de emissão com $\lambda_{exc.} = 465$ nm dos AH extraídos de amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos diferentes tempos de compostagem.....	118
Figura 5.34: Espectros de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 20$ nm dos AH extraídos de amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos diferentes tempos de compostagem.....	120
Figura 5.35: Espectros de emissão com $\lambda_{exc.} = 280$ nm dos AH extraídos de amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos diferentes tempos de compostagem.....	121
Figura 5.36: Espectros de excitação com $\lambda_{em.} = 350$ nm dos AH extraídos das amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos diferentes tempos de compostagem.....	122
Figura 5.37: Espectros de excitação com $\lambda_{em.} = 510$ nm dos AH extraídos das amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos diferentes tempos de compostagem.....	123
Figura 5.38: Variação do índice A_4/A_1 obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 240$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.....	125
Figura 5.39: Variação do índice I_{375}/I_{285} obtido dos espectros de fluorescência no modo de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 55$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.....	125
Figura 5.40: Variação do índice A_{465} obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 465$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.....	126
Figura 5.41: Variação do índice $I_{400/350}$ obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 240$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.....	128
Figura 5.42: Variação do índice $I_{500/350}$ obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 280$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.....	128
Figura 5.43: Variação do índice $I_{275/225}$ obtido dos espectros de excitação com $\lambda_{em} = 350$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.....	129

Figura 5.44: Variação do índice $I_{390/325}$ obtido dos espectros de fluorescência no modo de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 20$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.....	129
Figura 5.45: Variação do índice $I_{440/325}$ obtido dos espectros de fluorescência no modo de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 20$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.....	130
Figura 5.46: Variações do índice $I_{500/325}$ obtido dos espectros de fluorescência no modo de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 20$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.....	130
Figura 5.47: Correlação entre o índice A_4/A_1 obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 240$ nm dos AH e a relação C/N dos compostos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d).....	132
Figura 5.48: Correlação entre o índice A_{465} obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 465$ nm dos AH e a relação C/N dos compostos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d).....	133
Figura 5.49: Correlação entre o índice I_{390}/I_{325} obtido dos espectros de fluorescência no modo de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 20$ nm dos AH e a relação C/N dos compostos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d).....	133
Figura 5.50: Correlação entre o índice A_4/A_1 obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 240$ nm dos AH e a concentração de RLO dos AH, determinados por RPE, das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d).	135
Figura 5.51: Correlação entre o índice A_{465} obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 465$ nm dos AH e a concentração de RLO dos AH, determinados por RPE, das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d).....	135
Figura 5.52: Correlação entre o índice I_{390}/I_{325} obtido dos espectros de fluorescência no modo de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 20$ nm dos AH e a concentração de RLO dos AH, determinados por RPE, das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d).....	136
Figura 5.53: Espectros de absorção UV-Vis dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem. ($[AH] = 20$ mg L ⁻¹ em NaHCO ₃ 0,05 mol L ⁻¹).....	137
Figura 5.54: Variação do índice E_{225}/E_{315} obtido dos espectros de absorção UV-Vis dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem. ($[AH] = 20$ mg L ⁻¹ em NaHCO ₃ 0,05 mol L ⁻¹).....	138
Figura 5.55: Espectros de absorção UV-Vis dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem. ($[AH] = 200$ mg L ⁻¹ em NaHCO ₃ 0,05 mol L ⁻¹).....	139

Figura 5.56: Variação do índice E_4/E_6 obtido dos espectros de absorção UV-Vis dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem. ($[AH] = 200 \text{ mg L}^{-1}$ em $\text{NaHCO}_3 \text{ } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$).....	140
Figura 5.57: Espectros de absorção eletrônica do benzeno, naftaleno, fenantreno, antraceno e naftaceno (Silverstein et al., 1994).....	142
Figura 5.58: Espectros de RMN de ^{13}C (VACP/MAS) das amostras sólidas dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c), L4 (d), L5 (e) e L6 (f), nos tempos 0, 30, 90 e 210 dias de compostagem, * indicam as bandas laterais...	144
Figura 5.59: Intensidades relativas (% da área total 0 a 185 ppm) das bandas nos espectros de RMN de ^{13}C (VACP/MAS) de amostras sólidas de AH das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c), L4 (d), L5 (e) e L6 (f), nos tempos 0, 30, 90 e 210 dias de compostagem.....	145
Figura 5.60: Percentuais de alifaticidade (Ali) e aromaticidade (Aro) calculados a partir das áreas dos espectros.....	149
Figura 5.61: Espectros de FTIR dos AH extraídos dos compostos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos tempos 0, 30, 90, 150 e 210 dias de compostagem.....	151

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1: Características físico-químicas dos resíduos usados na montagem das leiras de compostagem.....	77
Tabela 5.2: Análise de macro e micronutrientes da mistura dos resíduos no tempo inicial da compostagem (t_0), com 210 de compostagem (t_{210}) e alguns valores encontrados na literatura.....	94
Tabela 5.3: Especificações dos fertilizantes orgânicos compostos (Brasil, 2005).....	95
Tabela 5.4: Valores do tempo característico (t_1) e do parâmetro ($y_0 + A$) obtidos da equação de ajuste dos pontos referentes aos índices, sugeridos na literatura, em função do tempo de compostagem	127
Tabela 5.5: Valores do tempo característico (t_1) e do parâmetro ($y_0 + A$) obtidos da equação de ajuste dos pontos referentes aos índices, propostos neste trabalho, em função do tempo de compostagem	131

Lista de abreviaturas

AF	Ácidos fúlvicos
AH	Ácidos húmicos
C/N	Razão atômica de carbono e nitrogênio
CP	Cross-Polarization
CTC	Capacidade de troca catiônica
CTC/C	Capacidade de troca catiônica pelo teor de carbono
FF	Fração fúlvica
FNH	Fração não húmica
FTIR	Infravermelho com Transformada de Fourier
G	Gauss
IHSS	International Humic Substances Society
MAS	Magic Angle Spinning
RLO	Radicais livres orgânicos do tipo semiquinona
RMN de ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13
RPE	Ressonância Paramagnética Eletrônica
TOC	Total Organic Carbon
UV – Vis	Espectroscopia no Ultravioleta e Visível
VACP	Variable Amplitude Cross-Polarization

RESUMO

A produção de resíduos orgânicos tem aumentado em anos recentes e uma alternativa para o seu aproveitamento é o processo de compostagem, no qual se desenvolvem reações bioquímicas para estabilização do material que estão diretamente associadas com a humificação da matéria orgânica. Considerando a complexidade das transformações no processo de humificação e a importância de se conhecer com maior precisão estas reações e as características dos materiais gerados, foi proposto neste trabalho um estudo detalhado do processo de compostagem. A combinação de métodos convencionais e técnicas espectroscópicas permitiu o monitoramento contínuo da compostagem, de diferentes resíduos orgânicos. Para execução dos experimentos foram montadas 6 leiras (L) de 3,6 m³ com os seguintes resíduos: poda de árvores, esterco bovino fresco, bagaço de laranja, torta de filtro e solução de ácido pirolenhoso (como possível catalisador do processo). O monitorado foi realizado por 7 meses com medidas diárias de temperatura, controle semanal do teor de umidade e coletas mensais das amostras para extração de ácidos húmicos e análises químicas. Foram observadas as fases típicas da temperatura em todas as leiras, exceto na L1 (constituída apenas de poda de árvores). Na fase termofílica a temperatura atingiu os 60 °C e esta fase permaneceu por, aproximadamente, 90 dias. Este também foi o tempo necessário para a estabilização da relação da capacidade de troca catiônica pelo teor de carbono do composto (CTC/C), que alcançou valores acima de 2,2 mmol_c g⁻¹. As análises de macro e micronutrientes evidenciaram o potencial fertilizante dos compostos produzidos, cujos valores, para alguns elementos, estão acima dos limites exigidos pela Instrução Normativa nº 23 do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Já nas análises espectroscópicas foram encontrados índices de estabilização a partir dos espectros de fluorescência de luz UV – Vis. Estes apresentaram boa correlação com a razão C/N e os radicais livres orgânicos do tipo semiquinona, detectados por Ressonância Paramagnética Eletrônica. As correlações dos índices com a razão C/N mostraram que este último parâmetro tem limitação para monitorar a compostagem, pois a partir de 60 dias a relação C/N estabiliza, ainda na fase termofílica do processo, enquanto que os índices espectroscópicos continuam

variando, indicando que o processo não se estabilizou completamente. Dentre as informações obtidas por fluorescência, foi possível identificar reações de transformação de moléculas orgânicas mais simples para estruturas mais complexas, detectadas através da diminuição de intensidade das bandas de emissão em comprimentos de onda menores (em torno de 300 nm) com simultâneo aumento da intensidade em regiões de maiores comprimentos de onda (próximos de 400 nm). Este comportamento também foi observado nos espectros de absorção UV – Vis. A partir dos dados de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de ^{13}C) foi possível evidenciar a decomposição de estruturas como carboidratos, polissacarídeos e grupos alquil, assim como um aumento das estruturas aromáticas, durante o processo de humificação. Assim através da combinação das análises por métodos convencionais e espectroscópicos foram propostos indicadores analíticos mais sensíveis para o monitoramento e a caracterização da compostagem de resíduos orgânicos.

Abstract

The production of organic residues has increased in recent years and an alternative to their recycling is the composting process, where various biochemical reactions are developed for the material stabilization. These reactions are directly associated with organic matter humification. Considering the complexity of the transformations occurred during the humification process and the importance of knowing these reactions and the characteristics of the produced materials more precisely, this work has proposed a detailed study of the composting process. The combination of conventional methods and spectroscopic techniques allowed the continuous composting assessment and monitoring from different organic residues. Six piles (P) of 3.6 m³ were assembled using the following residues: garden trimming, fresh cattle manure, orange pomace, filter cake and pyroligneous acid solution (used as possible catalyst of the process). The process was monitored for 7 months with daily measurements of temperature, weekly moisture control and monthly collection of samples for humic acid (HA) extraction and chemical analyses. Typical phases of temperature in all piles were observed, except for P1 (composed only garden trimming). In the thermophilic phase the temperature reached 60 °C and this phase remained for about 90 days. This was also the time necessary for stabilization of cation exchange capacity and total carbon ratio (CEC/C), which reached values above of 2.2 mmol_c g⁻¹. The macro- and micronutrient analyses showed the fertilizer potential of the produced composts. Concentration values for same elements are above those required by Normative Instruction number 23 of the Brazilian Ministry of Agriculture Livestock and Food Supply. As a result of the spectroscopic analyses, stabilization indices were obtained from fluorescence spectra of UV-Visible light. These indices showed good correlation with C/N ratio and with the semiquinone-type free radical, detected by Electron Paramagnetic Resonance (EPR). The correlation of the indices with C/N ratio showed that the latter parameter has limitation to monitor the composting, because after 60 days the C/N ratio stabilizes and this occurs during the thermophilic phase, while the spectroscopic indices continue to change, which is an indicative that the process was not completely stabilized. Among several observations by fluorescence of UV-Visible light it was possible to identify

transformation reactions of simpler organic molecules to more complex structures, which were detected by decrease in emission band intensity in shorter wavelengths (near 300 nm) with simultaneous increase in band intensity in longer wavelengths (near 400 nm). This behavior was also observed in the UV – Visible absorption spectra. It was possible to show the decomposition of carbohydrate type structures, polysaccharides and alkyl groups and the increase in aromatic structures, by ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance (^{13}C NMR), during humification process of the organic residues. Therefore, more sensible analytic indicators were proposed for monitoring and characterization of the composting of organic residues through the combination of conventional and spectroscopic methods.

1. INTRODUÇÃO

A produção cada vez maior de resíduos, devido às atividades agrícolas e industriais, constitui-se em um grande problema para a sociedade moderna. Esta acelerada produção vem limitando cada vez mais a viabilidade e disponibilidade dos aterros sanitários. Diante disso a reciclagem surge como uma alternativa cada vez mais necessária para o tratamento desses resíduos. Para a fração orgânica do lixo, a compostagem mostra-se como uma alternativa interessante, pois tem a capacidade de reduzir em aproximadamente 50% o volume e a massa dos resíduos, além de gerar um produto estável que pode ser benéfico à agricultura (Sánchez-Monedero et al., 2002; Chefetz et al., 1996).

O processo de compostagem pode ser considerado uma versão acelerada do processo natural de transformação da matéria orgânica no solo, sendo obtido através do fornecimento de condições favoráveis (como, por exemplo, temperatura, umidade, pH e aeração) à atividade microbiana (Provenzano et al., 2001). A decomposição biológica depende ainda da razão de degradação dos compostos de carbono presentes na amostra (carboidratos, aminoácidos, ácidos graxos, lignina, etc), bem como seu conteúdo de nutrientes (Bernal et al., 1998c).

Por ser um processo aeróbio, a compostagem destina-se, preferencialmente, ao processamento de resíduos orgânicos sólidos. Resíduos líquidos podem ser incorporados ao sistema através de irrigação ou absorvidos em algum material volumoso como palha de cereais, fibra de coco, restos de vegetais desidratados, etc. De maneira geral, praticamente todo resíduo orgânico pode ser compostado (Rodrigues, 2004).

A importância de se estudar a compostagem deve-se basicamente à identificação do grau de humificação do composto que pode ser considerado um

índice para medida de sua estabilização, sendo que, quanto mais humificada a matéria orgânica melhor será sua qualidade para uso na agricultura. Desta forma, as mudanças na constituição da matéria orgânica, causadas pelo processo de humificação são usadas para propor índices de estabilização e critérios de qualidade do composto final (Sánchez-Monedero et al., 2002).

A maturidade ou humificação do composto pode ser definida como o grau de estabilidade das propriedades físicas, químicas e biológicas do material. Este é um importante fator que será responsável pelo sucesso da aplicação do composto na agricultura e o seu impacto no meio ambiente (Provenzano et al., 2001).

Segundo Rosa et al. (2005) a humificação pode ser definida como processo de transformação de estrutura morfológicamente identificável em compostos amorfos, como regra geral envolve as mudanças que ocorrem em resíduos vegetais ou na matéria orgânica do solo, durante o processo de humificação. Este processo tem sido relatado como sendo preferencialmente oxidação de polissacarídeos de plantas, preservação seletiva de compostos orgânicos mais recalcitrantes, como a lignina e estruturas fenólicas, e a incorporação de compostos orgânicos de origem microbiana (Zech et al., 1997; Rosa et al., 2005).

Muitos testes têm sido propostos para avaliar a maturidade e estabilidade do composto. Porém, vários autores têm concluído que usar apenas um parâmetro como índice de maturidade não é suficiente e que o cruzamento de várias técnicas é necessário para compreensão deste processo (Hsu e Lo, 1999).

Após a aplicação no solo de resíduos orgânicos frescos ou compostos imaturos (ainda não estabilizados) ocorre uma rápida decomposição que pode gerar alta concentração de CO₂, baixos níveis de O₂, o qual pode levar à deficiência de O₂ na rizosfera e, conseqüentemente, condições anaeróbicas e redutoras no solo. A

alta atividade microbiana também pode promover a degradação da matéria orgânica inerente ao solo. O N inorgânico pode ser imobilizado através de sua incorporação nas células microbianas, tornando-se temporariamente indisponível às plantas. Produtos intermediários da degradação da matéria orgânica, como ácidos voláteis, álcoois e fenóis, são tóxicos para as plantas e as condições redutoras podem solubilizar metais tóxicos no solo (Bernal et al., 1998a; Bernal et al., 1998b; Provenzano et al., 2001; Rivero et al., 2004).

Aplicação de resíduos frescos ou compostos “imatuross” pode também inibir o crescimento de plantas e estimular o aparecimento de doenças. Portanto a maturidade do composto é um dos mais importantes aspectos de sua qualidade, principalmente quando o composto é usado em horticultura (Wang et al., 2004).

Por outro lado, quando o composto já estabilizado (ou humificado) é aplicado ao solo, podem-se obter vários benefícios como:

- Aumento da capacidade de retenção de água nos solos;
- Aumento da capacidade de troca catiônica (CTC) dos solos, assim os nutrientes ficam menos sujeitos às perdas por lixiviação;
- Formação de agregados de solos mais estáveis, portanto melhora a aeração e drenagem dos solos, prevenindo a erosão e, conseqüentemente, o assoreamento de rios;
- Aumento do pH e do poder tampão do solo;
- Nova forma de matéria orgânica para os solos e de macro e micronutrientes para as plantas;
- Incremento da biodiversidade das comunidades microbianas dos solos, tornando-o mais produtivo (Sánchez-Monedero et al., 2002).

Todas essas propriedades químicas e físicas geradas pela aplicação do composto propiciam o aumento da produtividade das culturas. Segundo Sánchez-Monedero et al., (2002), a aplicação de compostos mais humificados proporciona um efeito mais duradouro na matéria orgânica do solo. Desta forma, um melhor entendimento do processo de humificação durante a compostagem pode ajudar na produção de compostos com alto grau de estabilização da matéria orgânica e maior valor agregado e neste trabalho, buscou-se melhorar tal entendimento.

Foram utilizados resíduos de poda de árvores, bagaço de laranja, torta de filtro (resíduo de indústria sucroalcooleira) e esterco bovino para a montagem das leiras de compostagem. Na região central do Estado de São Paulo tem-se alta disponibilidade destes resíduos.

Foram feitas coletas mensais de amostras dos compostos, durante 7 meses. As extrações dos ácidos húmicos (AH) foram realizadas segundo a metodologia sugerida pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS - International Humic Substances Society). Amostras dos compostos (material *in natura*) e dos AH foram analisadas na busca de uma melhor compreensão das transformações ocorridas durante o processo e de índices para monitorar a humificação.

O acompanhamento do processo de compostagem foi feito utilizando-se algumas técnicas espectroscópicas: Ressonância Magnética Nuclear (RMN de ^{13}C), Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE), Fluorescência de luz no UV – Vis, Absorção no UV – Vis e Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). O processo também foi monitorado por análises físicas e químicas, como: pH, relação C/N, capacidade de troca catiônica pela porcentagem de carbono (CTC/C), macro e micronutrientes, teor de cinzas e medidas diárias de temperatura.

2. OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Monitorar o processo de compostagem utilizando métodos convencionais e técnicas espectroscópicas para avaliação das transformações da matéria orgânica no decorrer do processo e definir parâmetros para detecção do período de maturação e estabilização dos compostos.

Objetivos Específicos:

- Identificar os principais grupos funcionais associados aos processos de ciclagem e decomposição da matéria orgânica;
- Caracterizar as transformações físicas e químicas durante o processo de compostagem e a qualidade do composto produzido;
- Avaliar diferentes parâmetros químicos para identificação do período de maturação do composto;
- Caracterizar as variações da matéria orgânica no início e no decorrer do processo de compostagem utilizando técnicas espectroscópicas: Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (RMN de ^{13}C), Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE), Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Fluorescência e Absorção de luz no UV – Vis.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Processo de compostagem

A compostagem pode ser definida como um processo biológico de oxidação aeróbia e exotérmica de um substrato orgânico, no estado sólido, caracterizando-se pela produção de CO₂, vapor de água, liberação de substâncias minerais e formação de matéria orgânica estável denominada húmus (Bernal et al., 1998a).

Na matéria orgânica é encontrada uma densa população de vários microrganismos, que usam minerais, compostos orgânicos, água e oxigênio para o crescimento e suas atividades metabólicas. A capacidade dos microrganismos transformarem a matéria orgânica depende de suas habilidades de produzir as enzimas necessárias à degradação dos substratos (Tuomela, et al., 2000). Os componentes orgânicos biodegradáveis passam por etapas sucessivas de transformações, sob a ação de diversos grupos de microrganismos, resultando num processo bioquímico altamente complexo (Bettiol e Camargo, 2000). As interações entre as variáveis ambientais durante o processo (Figura 3.1) não são bem compreendidas e deste modo, às vezes, não são consideradas no controle do processo.

Figura 3.1: Esquema de processo de compostagem (Adaptado de Tuomela et al., 2000).

Dentre as variáveis podemos citar o teor de umidade, aeração, balanço de nutrientes, pH e o substrato (Tiquia et al., 1997; Jeong e Kim, 2001; Van Ginkel, 2002; Liang et al., 2003; Ecochem, 2005). A temperatura também é um fator importante, principalmente no que diz respeito à rapidez do processo de biodegradação, à eliminação de patógenos e é consequência da atividade microbiana (Bettiol e Camargo, 2000; Silva et al., 2004). Modificações nas características físicas e químicas do meio também podem alterar a composição da microflora ou a atividade de degradação dos microrganismos (Boopathy, et al., 2001).

Cada espécie microbiana tem uma temperatura ótima para o crescimento, em torno da qual ocorre sua multiplicação máxima. A concentração de oxigênio pode também determinar a velocidade do processo de degradação (Van Ginkel et al., 2002).

Há quatro importantes fases da temperatura durante o processo de compostagem (Bernal et al., 1998a; Trautmann e Olynciw, 2005):

1ª) Fase mesofílica: é a fase em que predominam temperaturas moderadas, até cerca de 40 °C. Tem duração média de dois a cinco dias.

2ª) Fase termofílica: quando o material atinge sua temperatura máxima (> 40 °C) e é degradado mais rapidamente. Esta fase pode ter a duração de poucos dias a vários meses, de acordo com as características do material sendo compostado.

3ª) Fase de resfriamento: é marcada pela queda da temperatura para valores da temperatura ambiente.

4ª) Fase da maturação: é o período de estabilização que produz um composto maturado, altamente estabilizado e humificado, livre de toxicidade, que é

denominado húmus. Pode ter a duração de semanas ou meses. Estas fases da compostagem são ilustradas na Figura 3.2

Figura 3.2: Curva de temperatura durante o processo de compostagem (Trautmann e Olynciw, 2005).

O teor de umidade é um importante fator a ser controlado, pois é a água que promove o transporte de nutrientes dissolvidos, que são necessários para as atividades físicas e metabólicas dos microrganismos. A umidade considerada ideal para a compostagem varia de 50 a 65%. Níveis abaixo de 30% inibem a atividade bacteriana (Liang et al., 2003; Tiquia, 2005), enquanto que umidade acima de 65% resulta em decomposição lenta, pois prevalecem as condições de anaerobiose e pode ocorrer lixiviação de nutrientes (Kiehl, 1998).

Os materiais lignocelulósicos, como a madeira, são constituídos principalmente pela mistura de celulose (~ 40%), hemicelulose (de 20 a 30 %) e lignina (de 20 a 30 %). Eles constituem a maior parte da biomassa terrestre e, conseqüentemente, sua degradação é essencial para o desenvolvimento do ciclo global do carbono (Brown, 1985; Colberg, 1988, citado por Tuomela et al., 2000). A Figura 3.3 ilustra o ciclo global do carbono em processos anaeróbico e aeróbico,

mostrando a degradação de diferentes compostos no processo de humificação (formação do húmus).

Figura 3.3: Esquema apresentando o ciclo global do carbono.

A lignina é um dos constituintes da planta de mais difícil degradação. É um polímero derivado de grupos fenilpropanóides. As moléculas de lignina são formadas a partir de 3 precursores básicos, que são os álcoois sinapílico, coniferílico e *p*-cumarílico (Figura 3.4). A lignina não tem uma molécula bem definida, pois sua estrutura química ainda não foi completamente elucidada. Algumas ligninas são constituídas de polímeros fenilpropanóides, da parede celular, altamente condensados e muito resistentes à degradação. Eles são compostos de unidades *p*-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S), (Figura 3.5) (Browning, 1967; Chen, 2003; Budziak et al., 2004).

As madeiras duras, ou angiospermas, contêm ligninas formadas principalmente de unidades G e S. As madeiras moles, ou gimnospermas, possuem

ligninas formadas fundamentalmente de unidades G. Ligninas de gramíneas compreendem unidades G-S-H (o grupo metoxílico é considerado um grupo funcional característico de ligninas e seus derivados) (Browning, 1967; Tan, 2003; Budziak et al., 2004).

Figura 3.4: Precursores básicos na formação da molécula de lignina.

Figura 3.5: Principais unidades aromáticas presentes na molécula de lignina.

López et al. (2002) consideram que as mudanças sofridas pelos materiais contendo lignina e celulose durante as transformações que ocorrem no solo, ou no processo de compostagem, são as principais responsáveis pela formação das substâncias húmicas. Consequentemente quanto mais a lignina estiver degradada maiores serão as variações nestas substâncias húmicas.

3.2. Métodos para determinar o grau de maturação e estabilização de compostos

Na literatura têm sido propostos vários testes químicos e biológicos para caracterizar a qualidade dos compostos, porém o conceito de estabilidade e maturidade dos compostos ainda não é claramente distinto (Wang et al., 2004).

Pullicino, 2002 considera que maturidade refere à falta de fitotoxicidade quando o composto é usado como condicionador de solos e estabilidade se refere ao nível de atividade biológica do composto e é dependente do grau de degradação já concluído durante o processo de compostagem. O composto instável irá consumir nitrogênio, oxigênio, produzir calor e liberar dióxido de carbono e vapor de água.

Para Chen (2003), maturidade ou estabilidade do composto reflete o grau de decomposição da matéria orgânica. Já que a estabilidade da matéria orgânica natural é um termo relativo, a sua definição não é um desafio trivial. A busca de parâmetros requer uma série de determinações físicas, químicas e espectroscópicas.

As propriedades químicas, físicas, espectroscópicas, bioquímicas e microbiológicas dos compostos têm sido muito estudadas e, embora um grande número de índices de maturidade já terem sido propostos, ainda não há um índice bem estabelecido para ser utilizado. O maior obstáculo para o sucesso da aplicação de composto na agricultura é a falta de critérios confiáveis para sua qualidade, e uma melhor compreensão das transformações da matéria orgânica durante o processo de compostagem (Chen, 2003).

São várias as propostas para se determinar índices de estabilização de compostos. Algumas são baseadas nas características físicas do material, como tamanho de partícula, odor e temperatura que dão uma idéia geral do estágio de

decomposição, mas dão pouca informação a respeito do grau de maturação do composto. Alguns parâmetros químicos como razão C/N, teor de nitrogênio inorgânico, capacidade de troca catiônica (CTC), análise elementar, razão entre as frações de ácidos húmicos e ácidos fúlvicos (AH / AF) extraídos da matéria orgânica, ou a concentração de carbono total extraído do composto também são empregados para monitorar o processo de compostagem (Bernal et al., 1998c; Hsu e Lo 1999; Sánchez-Monedero et al., 2002; Grigatti et al., 2004; Tiquia, 2005; Senesi et al., 2007), mas ainda não há um consenso quanto ao uso desses parâmetros.

A maturidade do composto também é associada com a estabilidade microbiana que pode ser determinada pela medida da biomassa microbiana, sua atividade metabólica e a concentração de constituintes facilmente biodegradáveis. Métodos para avaliar a estabilidade através do metabolismo latente, incluem a determinação do consumo de oxigênio ou a atividade respiratória (produção de CO₂) e produção de calor que são indicativos de alta degradação da matéria orgânica. Estes parâmetros são inversamente proporcionais à estabilização do composto (Bernal, et al., 1998c; Tiquia, 2005).

Outro parâmetro de estabilização está relacionado com o uso do composto para avaliar a fitotoxicidade, germinação de sementes e crescimento de plantas (Bernal et al., 1998c; Chen, 2003; Wang et al., 2004).

Chefetz et al. (1996) observaram que a aplicação de compostos com diferentes tempos de compostagem influenciou de forma significativa na produção de pepino. Eles observaram que o composto imaturo inibiu o crescimento das plantas, enquanto que com a aplicação do composto maturado houve aumento da produção. Estes resultados mostram a importância do uso do composto maturado no desenvolvimento econômico da agricultura.

Análises espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C , Ressonância Paramagnética Eletrônica, Fluorescência, Absorção de luz na região do UV – Vis e Infravermelho com Transformada de Fourier, também vêm sendo amplamente estudadas, com o objetivo de monitorar o processo de compostagem (Provenzano et al., 2001; Ouatmane et al., 2002; Chen, 2003), mas as transformações químicas ocorridas durante o processo ainda não são bem conhecidas.

3.3. Matéria orgânica e substâncias húmicas de compostos

No processo de humificação os compostos orgânicos são parcialmente transformados em substâncias húmicas que são moléculas relativamente estáveis e importantes para a manutenção e melhoria da qualidade do solo. Zbytniewski e Buszewski (2005) consideram que as substâncias húmicas formadas durante a compostagem são estruturalmente muito similar aquelas presentes nos solos. Porém estas substâncias também são chamadas na literatura de substâncias do tipo húmicas, "humic-like substances" (Bernal et al., 1998a).

A denominação de "humic-like substances" se deve ao fato de que, para alguns autores, as substâncias formadas durante a compostagem não apresentam as mesmas propriedades daquelas extraídas de solos ou de materiais mais humificados como, por exemplo, carvão ou turfa, onde o processo de humificação ocorreu em um tempo muito maior comparado com uma pilha de compostagem (Sánchez-Monedero et al., 2002). No entanto, há divergência nesta denominação, pois vários autores chamam o material extraído do composto de ácidos húmicos (AH), (Chefetz et al., 1996; Chefetz et al., 1998a; Hsu e Lo, 1999; Tomati et al., 2001; Baddi et al., 2004), enquanto outros autores denominam este material de

"humic-like substances" (Bernal et al., 1998a; Senesi, 1989; Ouattmane et al., 2002; Plaza et al., 2005). Neste trabalho optou-se por chamar de ácidos húmicos (AH) todo o material extraído dos compostos, utilizando o método sugerido pela IHSS (Swift, 1996).

As substâncias húmicas compreendem uma importante fração da matéria orgânica do composto, porque elas correspondem à fração mais estável e apresentam algumas propriedades únicas como: capacidade de interagir com íons metálicos, manutenção do pH (efeito tampão), além de ser uma potencial fonte de nutrientes para as plantas. Nos compostos orgânicos, as substâncias húmicas podem ser operacionalmente classificadas de acordo com a solubilidade em solução aquosa de NaOH em: ácidos húmicos (AH), que são solúveis em meio básico e insolúveis em meio ácido e fração fúlvica (FF), solúveis em qualquer faixa de pH e esta FF pode ser separada em ácidos fúlvicos (AF) e fração não húmica (FNH) pelo uso da resina Amberlite XAD-8 (Chefetz et al., 1996; Hsu e Lo, 1999). Segundo Chefetz et al., (1996), a FNH decresce rapidamente nos primeiros 60 dias de compostagem de resíduos sólidos municipais e este fato se deve à degradação dos polissacarídeos e gorduras que são facilmente decompostos pelos microrganismos.

Algumas moléculas como os açúcares, hemicelulose, ácidos orgânicos, aminoácidos, proteínas são inicialmente decompostas pelos microrganismos durante a fase termofílica. Os produtos de decomposição química são continuamente liberados resultando no aumento do carbono orgânico solúvel em água (Hsu e Lo, 1999).

Chefetz, et al. (1998a) considera que, aproximadamente, 50 % da matéria orgânica torna-se completamente mineralizada devido à degradação de compostos facilmente degradáveis, como as proteínas, celulose e hemicelulose, que são

utilizados pelos microrganismos como fonte de C e N. A matéria orgânica residual contém macromoléculas recentemente formadas e matéria orgânica não degradada, que juntamente formam as substâncias húmicas correspondendo a fração mais estável do composto maturado.

Para alguns autores (Hsu e Lo, 1999; Chefetz et al., 1996; López et al., 2002) o aumento do nível de AH representa o grau de humificação e maturidade do composto. Estes autores consideram que, em geral, compostos frescos contêm baixos níveis de AH e altos níveis de AF e com o processo de compostagem os níveis de AH aumentam e os de AF diminuem significativamente. Segundo Jouraiphy et al. (2005) o aumento da razão AH/AF é explicado pela formação de moléculas complexas (AH) como resultado da polimerização de moléculas mais simples (AF), ou pela biodegradação de compostos não humificados ou facilmente decompostos da fração AF, seguido de formação de estruturas húmicas mais policondensadas. Baseado em resultados experimentais Sánchez-Monedero et al. (2002) concluíram que durante o processo de compostagem há produção de AH com características químicas e estruturais que são similares as dos AH de solos humificados. Os principais efeitos do processo de compostagem nos AH são: formação de estruturas de maior massa molecular, com alta concentração de estrutura aromática, alta concentração de oxigênio e nitrogênio e incremento dos grupos funcionais, sendo que estas características são coerentes com a teoria usualmente aceita para humificação de solo.

Devido à complexidade e heterogeneidade das substâncias húmicas ainda não há um consenso na explicação da composição química, estrutura, forma e tamanho molecular dessas substâncias, fato que dificulta o melhor entendimento da sua dinâmica no meio ambiente. Na literatura há duas propostas de modelos que

tentam explicar a estrutura das substâncias húmicas: o modelo macromolecular e o supramolecular (Schulten e Schnitzer, 1997; Piccolo e Conte, 2000; Piccolo, 2001; Sutton e Sposito, 2005).

O modelo macromolecular considera que as substâncias húmicas são macromoléculas orgânicas, com características similares às macromoléculas biológicas como proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos e lignina. Schulten e Schnitzer (1993), através de várias análises químicas e espectroscópicas, propuseram uma estrutura para os AH que é mostrada na Figura 3.6.

Figura 3.6: Modelo estrutural macromolecular dos AH desenvolvida por Schulten e Schnitzer (1993). O símbolo ~ representa seqüências de cadeias alifáticas de comprimento variável.

Esta estrutura apresenta uma molécula rica em diferentes grupos funcionais como os carboxílicos, fenólicos, hidroxilas, ésteres, éteres, nitrilas, entre outros e massa molecular em torno de 5500 Da.

O modelo supramolecular considera que as substâncias húmicas são formadas por moléculas pequenas e heterogêneas originadas da degradação e decomposição de materiais biológicos mortos, que se auto-organizam em conformações supramoleculares. A principal característica dessa conformação é a predominância da estabilidade através das ligações fracas, em vez de ligações covalentes. Ligações hidrofóbicas (van der Waals, π - π , CH- π) e ligações de hidrogênio são responsáveis pelo grande tamanho molecular aparente das substâncias húmicas (Piccolo, 2001). As associações húmicas supramoleculares são temporariamente estabilizadas em solução aquosa, através dessas ligações fracas, sendo dependentes do valor do pH da solução e do caráter hidrofóbico dos componentes húmicos (Piccolo e Conte, 2000).

As estruturas supramoleculares crescem com o decréscimo do valor de pH até a sua precipitação. Segundo Piccolo (2001), a influência da concentração hidrogeniônica ocorre por meio da protonação da molécula e conseqüente aumento das ligações de hidrogênio intermoleculares, quando o meio for suficientemente ácido.

Simpson et al. (2002) demonstraram que as substâncias húmicas extraídas de solos são formadas por uma mistura de substâncias agregadas de baixa massa molecular (próximo de 2000 Da) e propuseram um modelo de estrutura (Figura 3.7). Este modelo ilustra como algumas estruturas identificadas nas substâncias húmicas poderiam formar um agregado na presença de cátions metálicos de ocorrência natural nos ecossistemas terrestres.

Figura 3.7: Esquema de estrutura das substâncias húmicas proposto por Simpson et al. (2002). As unidades vermelhas representam os cátions metálicos, as unidades pretas os polissacarídeos, as unidades azuis os polipeptídios, as unidades verdes representam as cadeias alifáticas e as unidades marrons os fragmentos aromáticos provenientes da lignina.

Ainda não há um consenso quanto às propostas das estruturas de substâncias húmicas. Porém, o que podemos afirmar é que o conhecimento das características estruturais dessas substâncias é muito importante para melhor compreensão da atividade e dinâmica dessas moléculas no meio ambiente.

3.4. Breve descrição das técnicas espectroscópicas utilizadas neste trabalho

3.4.1. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

A técnica de RPE é baseada na detecção da transição eletrônica realizada por elétrons não emparelhados de um átomo, molécula ou íon. Esta transição pode ocorrer quando o material estiver submetido a um campo magnético de alta intensidade, gerando a separação dos seus níveis de energia que apresentem degenerescência. Tal fenômeno é chamado efeito Zeeman e a separação dos níveis de energia pode ser calculada pela seguinte equação:

$$\Delta E = g\beta H$$

onde β é o magneton de Bohr, g é o fator giromagnético do elétron e H é o campo magnético sobre o material.

Na espectroscopia de RPE aplica-se sobre a amostra um fluxo de radiação de baixa energia (frequência de microondas de 10^9 a 10^{12} Hz) e varia-se a intensidade do campo magnético aplicado até que haja ressonância entre a radiação incidente e a transição eletrônica do sistema em estudo. A absorção da energia incidente e a conseqüente transição do elétron desemparelhado são detectadas pelo equipamento na forma de um pulso. O espectro de RPE é apresentado como a 1ª derivada do sinal. Este processo é ilustrado na Figura 3.8.

Figura 3.8: Separação dos níveis de energia causada por um campo magnético (H) de alta intensidade e a transição eletrônica provocada pela radiação incidente (a); sinal registrado pelo equipamento de RPE para a absorção da radiação incidente (b); 1ª derivada do sinal registrado, permitindo a identificação do fator g (c).

Quando o elétron entra em ressonância com a energia incidente ocorrem transições nos dois sentidos, com igual probabilidade, de forma que a detecção da absorção é uma função da diferença de população entre os dois níveis de energia, de acordo com a distribuição de Boltzmann. Se existem N^+ elétrons no nível superior com energia E^+ e N^- elétrons no nível inferior com energia E^- , tem-se:

$$N^+ / N^- = e^{-\Delta E / K_B T}$$

onde, K_B é a constante de Boltzmann ($1,381 \cdot 10^{-23}$ J/K) e T é a temperatura absoluta (K).

Como $\Delta E \ll K_B T$ (ΔE é aproximadamente 3 ordens de magnitude menor que $K_B T$) pode-se expandir o expoente da equação de forma que:

$$N^+ / N^- \approx 1 - \Delta E / K_B T$$

Para $\nu \approx 10^{10}$ Hz e $T = 300$ K, tem-se:

$$N^+ / N^- = 1 - 6,6 \cdot 10^{-24} / 4,1 \cdot 10^{-21}$$

$$N^+ / N^- = 0,9984$$

Assim, em temperatura ambiente, esta razão é próxima de 1, o que torna necessária uma sofisticada eletrônica para a detecção do sinal. Com isso a técnica é capaz de detectar a partir de 10^{11} spins g^{-1} de amostra (Wertz e Bolton, 1972).

A técnica de RPE permite analisar amostras sólidas, líquidas e gasosas. Com a obtenção dos parâmetros fator g , que é o fator giromagnético para o elétron (corresponde a 2,0023 para o elétron livre), largura de linha, intensidade do sinal e separação entre as linhas detectadas e geralmente, é possível obter informações sobre a concentração dos elementos paramagnéticos, o seu estado de valência e simetria (Figura 3.9). Em alguns casos podem-se determinar os átomos ligantes de íons metálicos, além de localizar e identificar radicais livres. Desta forma pode-se detectar a presença de alguns íons de transição, como o Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} e Mo^{3+} e os radicais livres orgânicos do tipo semiquinona (RLO) (Wertz e Bolton, 1972).

Figura 3.9: Sinal típico dos radicais livres orgânicos do tipo semiquinona (a) e espectro com varredura mais ampla mostrando sinais de íons ferro (Fe^{3+}) (b), obtidos por RPE.

Considera-se que a principal fonte dos radicais livres orgânicos nas substâncias húmicas são os grupos do tipo semiquinona (RLO) (Stevenson, 1994). Para Senesi (1990a) a origem desses radicais seria a desidrogenação oxidativa de compostos fenólicos. Estes grupos estão em equilíbrio com as formas quinona e hidroquinona, como pode ser observado na Figura 3.10. O sinal também pode ser atribuído a radicais semiquinona possivelmente conjugados com anéis aromáticos, embora a contribuição de metoxibenzeno e radicais associados a nitrogênio não podem ser excluída (Novotny e Matin-Neto, 2002).

Figura 3.10: Equilíbrio entre radical livre orgânico do tipo semiquinona (RLO), quinona e hidroquinona (Senesi, 1990a).

Senesi (1990a) considera que embora a quantidade absoluta de elétrons não emparelhados por mol de substâncias húmicas, geralmente, parece ser pequena, estes elétrons podem contribuir significativamente para a reatividade química e funcional exercida pelas substâncias húmicas. Por exemplo, a faixa de concentração entre 10^{17} e 10^{18} spins g^{-1} em uma estrutura de massa molecular, em torno de 10000 Da representa cerca de um radical para cada 600 a 60 moléculas. No caso das substâncias húmicas que apresentam alta massa molecular, em torno de 100000 Da o valor do radical aumenta consideravelmente de um radical para cada 60 a 6 moléculas.

No processo de compostagem o grau de humificação é um parâmetro importante para determinação da qualidade da matéria orgânica. Um método que vem sendo avaliado para obter o grau de humificação baseia-se na determinação da concentração desses radicais livres orgânicos. A concentração dos RLO no solo aumenta à medida que o processo de humificação avança (Martin-Neto et al., 1998; Olk et al., 2000) e esse também pode ser um parâmetro de qualificação e de distinção dos compostos orgânicos.

3.4.2. Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (RMN de ^{13}C)

Nessa técnica os valores de energia medidos referem-se às transições entre estados magnéticos nucleares, os quais têm sua degenerescência quebrada pela aplicação de um intenso campo magnético sobre a amostra (B_0). São observáveis por RMN os isótopos que contêm spin nuclear $I \neq 0$, como por exemplo, aqueles que possuem número de massa ímpar (^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{17}O). Como os valores de ΔE para estas transições são muito pequenos, a frequência de ressonância ($\Delta E = h\nu$)

apresenta valores típicos de radiofrequência (4 a 900 MHz). Quando a condição de ressonância é satisfeita ocorre a transição entre os estados de energia (Figura 3.11).

Figura 3.11: Níveis de energia para um núcleo de momento angular $I = \frac{1}{2}$ sob ação de um campo magnético B_0 .

Núcleos que possuem momento angular $I = \frac{1}{2}$ (como o ^{13}C e o ^1H) podem assumir duas configurações de spin nuclear que podem ser interpretadas como orientações do momento magnético spin em relação ao campo externo. As orientações estão associadas ao estado de energia nuclear, sendo que, quando a orientação é contrária ao campo tem-se energia mais alta e quando está no sentido do campo o estado de energia é mais baixo (Silverstein et al., 1994).

Após a excitação do núcleo ao estado de mais alta energia pela absorção de energia eletromagnética há o retorno desse núcleo excitado ao estado fundamental (processo de relaxação). Se não existissem mecanismos para isto, o excesso de núcleos que estava originalmente no estado de mais baixa energia passaria para o estado de mais alta energia, cessando a absorção de energia. Um destes mecanismos é o chamado processo de relaxação longitudinal ou spin-rede e envolve a transferência de energia do núcleo no estado de maior energia para as moléculas mais próximas (a rede molecular). A eficiência do processo é caracterizada pela constante de tempo T_1 . Um outro mecanismo, denominado relaxação transversal ou spin-spin, é caracterizada pela constante de tempo T_2 e envolve transferência de

energia de um núcleo para outro. Não há perda de energia no processo, mas o espalhamento (defasagem) da energia entre os núcleos causa perda de sinal e o alargamento do pico de absorção (Silverstein et al., 1994; Gil e Geraldês, 1987).

A espectroscopia de RMN permite analisar amostras sólidas e líquidas, medindo as pequenas diferenças de energia (deslocamentos químicos) as quais refletem pequenas diferenças na estrutura molecular da amostra. As análises em amostras sólidas vêm sendo muito empregadas, pois apresentam o benefício de não destruir a amostra, possibilitando usar o mesmo material para outras análises, e não há necessidade de uso de solventes (Inbar et al., 1989; Preston, 1996; Conte et al., 1997; Chefetz et al., 1998b; Martin-Neto et al., 1998; Knicker, 2000; González-Pérez et al., 2004; Adani et al., 2006).

A resolução dos espectros de amostras sólidas é limitada pelas interações magnéticas dipolares e quadrupolares na amostra e pelo deslocamento químico anisotrópico, fatores que podem levar a um grande alargamento das linhas (transições) detectadas. Outra limitação na RMN de ^{13}C está relacionada com a baixa sensibilidade devida à pequena abundância isotópica de ^{13}C que é 1,1 % em relação ao ^{12}C . A sensibilidade total de ^{13}C comparada à de ^1H é cerca de 1/5700 (Silverstein et al., 1994). Na análise de amostras sólidas o tempo de relaxação é muito longo, o que exige experimentos com longa duração.

Para eliminar estas limitações da análise por espectroscopia de RMN de ^{13}C em amostras sólidas, novas técnicas têm sido desenvolvidas, como por exemplo: polarização cruzada (CP), rotação segundo o “ângulo mágico” ou “magic angle spinning” (MAS) e desacoplamento de alta potência (Stevenson, 1994). Há também a técnica de polarização cruzada com amplitude variável ou “Variable Amplitude Cross-Polarization” (VACP) (Peersen et al., 1993).

Utilizando a técnica CP pode-se aumentar a sensibilidade dos núcleos raros e reduzir os longos tempos de relaxação spin-rede, através da transferência da magnetização de spins de núcleos abundantes como ^1H para os spins de núcleos raros como ^{13}C , gerando assim aumento da resolução pelo incremento da magnetização total.

A técnica de MAS elimina os efeitos da interação dipolar $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$ e os efeitos da anisotropia do deslocamento químico através da rotação da amostra com ângulo de $54,74^\circ$ (ângulo mágico), em relação ao campo magnético aplicado. Em líquidos estes efeitos anisotrópicos são eliminados pelo movimento Browniano das moléculas. Como a interação dipolar e as outras interações anisotrópicas, que provocam alargamento dos sinais de RMN em sólidos, têm dependências geométricas do tipo $(3\cos^2\theta - 1)$, sendo θ o ângulo entre o vetor internuclear e o campo magnético B_0 . Tem-se que, girando a amostra em torno de um eixo inclinado a $\theta = 54,74^\circ$ em relação ao campo magnético externo, orienta-se, em média, todos os vetores internucleares ao longo do eixo de rotação e a interação dipolar é anulada (Silverstein et al., 1994).

Através da utilização da técnica de desacoplamento de alta potência pode-se eliminar o alargamento das linhas no espectro de ^{13}C , gerado principalmente pelas interações dipolares entre os núcleos de ^{13}C e ^1H , com irradiação dos núcleos de ^1H na sua frequência de ressonância. Essas interações dipolares heteronucleares surgem devido à influência dos prótons que são abundantes e originam um campo local sob os núcleos raros de ^{13}C . O desacoplamento é feito através da redução do momento magnético de núcleos abundantes (^1H), pela aplicação de sua radiofrequência de ressonância, que mantém o momento de dipolo magnético em alta rotação, tornando nulo seu valor médio.

A combinação dessas três técnicas, mencionadas anteriormente, leva à obtenção de espectros com alta resolução (Gil e Gerald, 1987; Stevenson, 1994).

Os átomos de ^1H e ^{13}C submetidos ao mesmo campo magnético precessionam a diferentes frequências (frequência de Larmor), porém utilizando diferentes potências de radiofrequência (diferentes B_1) para cada núcleo é possível atingir uma situação em que ambos precessionem à mesma frequência. Esta situação é chamada de condição de Hartmann-Hahn e nesta condição os núcleos estarão em contato térmico podendo ocorrer transferência de energia entre eles (Novotny, 2002).

Visando o aumento da sensibilidade e resolução dos espectros de RMN são utilizados campos magnéticos cada vez mais intensos e isto leva à necessidade de girar a amostra a maiores velocidades, porém quando a velocidade do rotor é comparável à interação dipolar $I_a - I_a$ e $I_a - I_b$, onde I_a é o spin abundante e I_b é spin raro, o acoplamento de Hartmann-Hahn é dividido em uma série de picos separados pela frequência de rotação. A intensidade do sinal obtida com a polarização cruzada no máximo destes picos é comparável àquela obtida sob condições estáticas, porém no intervalo entre os picos a intensidade obtida pode até ser nula. Logo, torna-se muito difícil ajustar corretamente as amplitudes dos B_1 para o perfeito acoplamento de Hartmann-Hahn. Como as interações dipolares variam entre os diferentes grupos químicos que se pretende quantificar, devido às diferenças no acoplamento $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$ e de mobilidade molecular, o efeito da rotação acaba sendo seletivo para os grupos com menor interação dipolar tais como aqueles com maior mobilidade e/ou não protonados (Novotny, 2002; Peersen et al., 1993).

Uma alternativa para minimizar este efeito é variar a amplitude do B_1 do ^1H ou do ^{13}C durante o tempo de contato da polarização cruzada (Figura 3.12). Desta

forma o B_1 apresenta um gradiente capaz de abranger as diferentes condições de Hartmann-Hahn existente na amostra. Então, dessa forma, tem-se a técnica denominada de polarização cruzada com amplitude variável (VACP).

Figura 3.12: Esquema comparativo do B_1 para a sequência de polarização cruzada (a) e da polarização cruzada com amplitude variável (b).

Informações referentes ao grau de aromaticidade e alifaticidade das amostras, bem como a caracterização estrutural com identificação de compostos como ligninas, carboidratos, grupos alquil, metoxílicos, fenólicos e carboxílicos entre outros podem ser obtidos com as medidas de RMN de ^{13}C (Preston, 1996).

Na Figura 3.13 é apresentado um espectro de RMN de ^{13}C de amostra sólida de matéria orgânica de solo. Neste espectro os picos apresentados fornecem informações sobre os tipos de ligações químicas dos núcleos de C presentes na molécula e as áreas abaixo desses picos fornecem as informações quantitativas (Skjemstad, 1998).

Figura 3.13: Espectro de RMN de ^{13}C CP/MAS de amostra sólida com as respectivas atribuições de deslocamentos químicos dos átomos de carbono de matéria orgânica de solos (Skjemstad, 1998).

3.4.3. Fluorescência de luz no Ultravioleta e Visível (UV – Vis)

O estado fundamental de uma molécula caracteriza-se pela configuração de menor energia que seus elétrons podem ocupar, ou seja, é o estado mais estável em que a molécula pode permanecer. Com energias acima do estado fundamental existem diversos outros níveis, denominados estados excitados, os quais podem ser acessados quando a molécula recebe um valor de energia equivalente à diferença de energia entre estes estados e o estado fundamental. Em cada um destes estados existem diversos níveis de energia vibracional.

No estado fundamental os elétrons da molécula ocupam o nível de menor energia vibracional, mas ao serem excitados podem ser promovidos para qualquer nível vibracional de um estado excitado, como mostra a Figura 3.14a. Cerca de 10^{-12} s depois ocorre a relaxação vibracional, um processo de decaimento não radiativo, que leva o elétron ao nível de menor energia vibracional do estado

eletrônico em que ele se encontra (Figura 3.14b). O tempo de vida deste estado excitado é da ordem de 10^{-9} s e durante este período podem ocorrer reações químicas com a molécula (Barrow, 1962).

A molécula pode continuar perdendo energia por processos não radiativos até que o elétron excitado retorne ao estado fundamental ou o elétron pode emitir a diferença de energia na forma de radiação. Esta emissão é chamada fluorescência (Figura 3.14b) e terá sempre uma energia menor que a energia de excitação da molécula devido à relaxação vibracional e a outros processos não radiativos que possam ocorrer.

Figura 3.14: Transição eletrônica do estado fundamental ao primeiro estado excitado de uma molécula devido à absorção de energia (a), retorno ao estado fundamental através da emissão de fluorescência (b).

A análise de fluorescência é uma técnica muito sensível devido à capacidade de se detectar o sinal proveniente de moléculas quando excitadas por um comprimento de onda específico. É também uma técnica bastante seletiva, uma vez que ambos comprimentos de onda, de excitação e emissão, dependem do mesmo composto de interesse, fazendo com que o sinal de fluorescência coletado seja característico para cada molécula em estudo. Variações neste sinal representam mudanças no caminho percorrido durante o decaimento do estado excitado e podem indicar as transformações eventualmente sofridas pela molécula (Garbin, 2004).

Nos espectros observam-se características importantes da emissão luminescente. A emissão ocorre em maiores comprimentos de onda que a radiação de excitação, este fenômeno chamado deslocamento de Stokes é comumente descrito da seguinte forma: a energia do fóton emitido é usualmente menor que a energia do fóton de excitação. Outra característica é que no espectro de excitação as bandas não são da mesma intensidade. Isto ocorre, porque a eficiência de conversão da energia de excitação à energia de emissão, não é igual para os processos de absorção que originam cada banda no espectro (Senesi, 1990b).

O uso da técnica de fluorescência nos estudos de substâncias húmicas é baseado na presença estável de várias estruturas fluorescentes intrínsecas à molécula húmica e aos seus precursores, particularmente anéis aromáticos, fenóis e grupos quinona (Senesi et al., 1991). Desta forma, os espectros de fluorescência das substâncias húmicas são constituídos pela soma dos espectros dos diferentes tipos de fluoróforos presentes nessas moléculas, consequência da complexidade molecular e heterogeneidade das mesmas.

Os espectros de fluorescência, geralmente, permitem diferenciar os AH pela sua natureza e origem (Senesi et al., 1991). Baixa intensidade de fluorescência e comprimentos de onda longos podem ser associados a substâncias de alta massa molecular que possuem sistemas com ligações insaturadas e anéis aromáticos condensados e/ou substituídos por grupos que atraem os elétrons tais como carbonila e carboxila. Já as altas intensidades de fluorescência e comprimentos de onda curtos podem ser associados a compostos de baixa massa molecular com baixo grau de condensação aromática e baixos níveis de cromóforos conjugados, altamente substituídos por grupos doadores de elétrons como hidroxila, metoxila e grupos amino (Senesi et al., 1991; Olk et al., 2000).

Os espectros de fluorescência podem ser adquiridos em 3 modos: emissão, excitação e varredura síncrona (Senesi, 1990b).

O espectro de emissão é obtido medindo-se a intensidade relativa da radiação emitida como uma função do comprimento de onda, mantendo-se constante o comprimento de onda de excitação. O espectro de excitação é adquirido medindo-se a intensidade relativa de emissão em um comprimento de onda fixo, enquanto o comprimento de onda de excitação é variado (Lumb, 1978). Já o espectro de varredura sincronizada obtém-se medindo a intensidade de fluorescência enquanto simultaneamente são varridos os comprimentos de onda de emissão e excitação, mantendo-se constante a diferença de comprimentos de onda entre eles: $\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{exc}$.

Na literatura há algumas metodologias bem estabelecidas para determinação de humificação das substâncias húmicas extraídas de solos (Milorí et al., 2006). Zsolnay et al. (1999), Kalbitz et al. (1999) e Milorí et al. (2002) propuseram índices baseados em diferentes condições de varredura de espectros de fluorescência.

O método proposto por Zsolnay et al. (1999) é baseado no espectro de emissão com excitação da amostra em 240 nm. O espectro é dividido em 4 regiões e o grau de humificação é calculado através da razão do último quarto (A_4) e a área do primeiro quarto (A_1) do espectro. A idéia básica desse método é que quando há formação de moléculas mais condensadas o espectro de emissão tende a deslocar em direção a maiores comprimentos de onda. Então esta relação A_4/A_1 pode ser usada como índice de humificação.

Kalbitz et al. (1999) propuseram outro método baseado no espectro de varredura sincronizada. Segundo estes pesquisadores o espectro de fluorescência, das substâncias húmicas, neste modo de varredura apresentam 2 picos próximos de

360 e 400 nm e um ombro próximo de 470 nm. Este perfil muda dependendo do grau de humificação e esta mudança pode ser medida através da razão dos picos. A mudança da intensidade máxima de fluorescência de menores para maiores comprimentos de onda está associada com o aumento do número de núcleos aromáticos altamente substituídos e/ou com sistemas insaturados conjugados que apresentam alto grau de ressonância. A razão da intensidade de fluorescência de 400 e 360 nm (I_{400}/I_{360}) ou 470 e 360 nm (I_{470}/I_{360}) pode ser usada para medir o grau de humificação ou policondensação das substâncias húmicas.

Milori et al. (2002) trabalhando com AH dissolvidos, ajustados para uma concentração de 20 mg L⁻¹ e pH 8, observaram que o comprimento de onda na região do azul (465 nm) foi mais eficiente para excitar estruturas cuja concentração aumenta durante o processo de humificação. Estes pesquisadores propuseram que a área total do espectro de emissão de fluorescência é proporcional ao grau de humificação da amostra e pode ser usada como um índice de humificação, que é denominado A_{465} .

Estas três metodologias foram avaliadas no monitoramento do processo de compostagem dos diferentes resíduos orgânicos.

3.4.4. Absorção de luz no UV – Vis

A radiação Ultravioleta (200 - 400nm) e Visível (400 - 800nm) provoca transições eletrônicas promovendo os elétrons ligantes (σ e π) e os não ligantes (n) do estado fundamental para os estados excitados σ^* e π^* , denominados antiligantes (Silverstein et al., 1994), (Figura 3.15).

Figura 3.15: Diagrama dos vários tipos de excitação eletrônica que podem ocorrer em moléculas orgânicas.

A espectroscopia de Absorção UV-Vis permite observar estas transições na forma de picos, cujas intensidades são proporcionais à probabilidade de ocorrência da transição e à concentração da molécula na amostra em estudo. Estes picos deveriam ser bem definidos, indicando uma única transição eletrônica, mas devido às associações dos estados vibracionais e rotacionais eles aparecem alargados formando bandas de absorção UV-Vis.

As principais características de uma banda de absorção são a sua posição e a sua intensidade. A posição de absorção corresponde ao comprimento de onda da radiação cuja energia é igual à necessária para que ocorra a transição eletrônica. Enquanto que, a intensidade de absorção depende de dois fatores: probabilidade de interação entre a energia radiante e o sistema eletrônico, e a diferença entre os estados: fundamental e excitado (Silverstein et al., 1994).

A absorção das substâncias húmicas no UV-Vis é influenciada pelo pH (que deve estar entre 7 e 8), tipo de solvente e concentração salina do meio (Chen et al., 1977).

A parte da molécula orgânica responsável pela produção de cor nos compostos é denominada de cromóforos. Em função da grande quantidade e

variabilidade de grupos cromóforos existentes nas macromoléculas húmicas, os espectros obtidos são geralmente formados pela sobreposição de várias bandas, sem picos definidos, apresentando absorção decrescente com o aumento do comprimento de onda. Muitos pesquisadores consideram que a cor escura das substâncias húmicas é devida principalmente aos seguintes cromóforos (Stevenson, 1994):

Figura 3.16: Alguns dos cromóforos encontrados nas substâncias húmicas (Stevenson, 1994).

No estudo das substâncias húmicas de solo é comum a utilização da razão E_4/E_6 , que corresponde a razão entre as absorbâncias nos comprimentos de onda de 465 e 665 nm. Para os AH de solo esta razão decresce com o aumento da massa molecular e da condensação dos anéis, sendo utilizada como um indicador do grau de humificação (Stevenson, 1994). Assim se a razão E_4/E_6 é baixa pode ser um indicador do alto grau de condensação dos constituintes aromáticos e se for alta infere-se a presença de mais estruturas alifáticas (Ouatmane, et al., 2002).

Segundo Stevenson (1994) a razão E_4/E_6 para ácidos húmicos extraídos de solos é menor que 5 e para os ácidos fúlvicos a razão está na faixa de 6,0 e 8,5.

3.4.5. Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A radiação de infravermelho é a parte do espectro eletromagnético entre a região do visível e das microondas, com número de onda entre 14290 e 200 cm^{-1} . A região de maior interesse para a espectroscopia é de $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$. As posições das bandas no espectro de infravermelho são apresentadas em número de ondas, cuja unidade é o centímetro inverso (cm^{-1}) e é proporcional à energia de vibração (Silverstein et al., 1994).

A espectroscopia no infravermelho se baseia no fato de que os diversos tipos de ligações químicas e de estruturas moleculares existentes numa molécula absorvem radiação eletromagnética na região do infravermelho, em comprimentos de onda característicos e, como consequência, os átomos envolvidos entram em vibração. Dois tipos fundamentais de vibrações moleculares podem ser distinguidos: o estiramento, onde os átomos vibram no mesmo eixo, variando a distância entre eles e a deformação, onde a posição dos átomos em vibração muda em relação ao eixo da ligação (Stevenson, 1994). Os principais tipos de vibrações de estiramento e de deformação estão ilustrados na Figura 3.17.

Figura 3.17: Principais tipos de vibrações moleculares. Os sinais + e – indicam vibrações perpendiculares ao plano do papel (Stuart, 1996).

Espectros de substâncias húmicas resultam da absorção da radiação infravermelha por uma mistura complexa de moléculas que são por si próprias multifuncionais. O resultado do espectro infravermelho contém uma variedade de bandas que podem indicar diferentes grupos funcionais presentes nesta mistura complexa (Stevenson, 1994).

A aplicação da espectroscopia de absorção no infravermelho na análise de substâncias húmicas de compostos é relativamente comum (Jouraiphy et al., 2005; Chen, 2003; Ouatmane et al., 2002; Sánchez-Monedero et al., 2002; Tomati et al., 2001; Hsu e Lo, 1999; Chefetz et al., 1996) sendo observadas mudanças, principalmente, nas regiões de estruturas alifáticas, aromáticas e de polissacarídeos. Mas devido à complexidade das moléculas das substâncias húmicas, há muita sobreposição de bandas (Ceretta et al., 1999) e os resultados devem ser correlacionados com outras técnicas para monitorar o processo de compostagem.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Resíduos

Foram usados na montagem do experimento resíduos de poda de árvores, bagaço de laranja, torta de filtro e esterco bovino, devido à disponibilidade e baixo custo de aquisição, na região de São Carlos – SP.

A poda de árvores é um resíduo facilmente encontrado tanto na zona rural como nas cidades, sendo geralmente descartada. Nas cidades este descarte pode se tornar um problema, na medida que aumenta o volume de lixo produzido, sobrecarregando os depósitos ou aterros sanitários.

A poda utilizada foi proveniente de coleta urbana, em ruas, calçadas e terrenos do Condomínio Riviera de São Lourenço, da cidade de Bertioga – SP. Era composta basicamente de galhos de poda de árvores (Figura 4.1). Neste condomínio são produzidos, aproximadamente, 1800 m³/mês desse resíduo, que foi previamente triturado para melhor homogeneização e favorecer o processo de compostagem.

(a)

(b)

Figura 4.1: Fotos do equipamento usado para triturar a poda de árvores (a) e poda triturada usada no experimento (b).

Este resíduo foi obtido devido a uma parceria existente entre a Embrapa Instrumentação Agropecuária e a Sobloco – Empresa de Construção Civil, administradora do Condomínio Riviera de São Lourenço. A Sobloco também disponibilizou uma área na Fazenda Santa Cândida no município de São Carlos – SP para a montagem do experimento.

O bagaço de laranja é o principal subproduto da indústria de processamento de citrus, correspondendo a cerca de 45% da massa total da fruta e pode se tornar um grande problema para a indústria, pois se deteriora muito rápido durante a estocagem.

Este resíduo apresenta 23 % de proteína bruta, 3 % de lignina, alto teor de pectina e o teor de carboidratos solúveis variando em torno de 37,1 a 43,2 % da matéria seca (Itavo, et al., 2000). Diante dessas características e considerando a produção de laranja no estado de São Paulo (maior produtor do país) na safra de 2005/2006 que foi de 14.365.680 toneladas (ABECitrus, 2006) o bagaço de laranja pode ser visto com alto potencial para utilização na compostagem, juntamente com outros resíduos. O bagaço utilizado nesse estudo foi cedido pela Fruthil, indústria de suco de laranja, localizada em São Carlos – SP.

A torta de filtro é um resíduo proveniente da indústria sucroalcooleira e é obtido do processo de clarificação do caldo de cana. Inicialmente é um lodo que vai se acumulando no fundo dos decantadores, de onde é conduzido para filtros rotativos com sistema de vácuo para extrair parte da umidade e da sacarose residual. A parte sólida é composta por impurezas minerais e vegetais e partículas de bagaço de cana não retidas nas peneiras por onde passa o caldo extraído. A este material é incorporada a cinza da queima do bagaço nas caldeiras, aumentando assim a quantidade de minerais no resíduo.

A produção da torta de filtro varia de 35 a 45 kg por tonelada de cana. Os principais nutrientes encontrados neste resíduo são: o P (13,5 a 26,1 g kg⁻¹), na forma de P₂O₅, seguido pelo Ca (21,0 a 50,4 g kg⁻¹) e N (8,7 a 14,1 g kg⁻¹) (Morelli, 2004).

A torta de filtro vem sendo utilizada diretamente no cultivo da cana-de-açúcar, atuando como um adubo orgânico. A compostagem deste resíduo, entretanto, pode gerar vários benefícios, como: diminuição de custo na aplicação devido à concentração dos nutrientes no material, mineralização desses nutrientes tornando-os facilmente disponíveis para as plantas e estabilização do material evitando assim que haja competição entre os microrganismos e as plantas durante a maturação do resíduo (Morelli, 2004).

A torta de filtro utilizada nesse estudo foi cedida pela Usina Ipiranga de Açúcar Álcool Ltda, localizada no município de Descalvado – SP.

O esterco bovino é um resíduo amplamente usado *in natura* como adubo orgânico, porém, como foi exposto para a torta de filtro, o processo de compostagem torna-o mais estável e otimiza suas propriedades fertilizantes.

Paschoal (1994) considera que o manejo correto dos estercos é muito importante para se evitar prejuízos. Por questões econômicas e sanitárias, os estercos devem ser compostados em pilhas, junto com restos vegetais, em processo aeróbio e de alta temperatura, produzindo-se o composto. Outro processo permitido é o anaeróbio (em valas e biodigestores), de baixa temperatura e maior tempo de preparo.

Por apresentar alta concentração de nitrogênio, o esterco pode ser adicionado a outros resíduos que tenham alta relação C/N, com a finalidade de acelerar a degradação desses materiais ricos em carbono.

Foi utilizado esterco bovino fresco, proveniente da Fazenda Santa Cândida localizada no município de São Carlos – SP. Na Figura 4.2 tem-se as fotos dos resíduos que foram utilizados na montagem do experimento.

Figura 4.2: Fotos dos resíduos utilizados na montagem das leiras para monitoramento do processo de compostagem: poda de árvores triturada (a), bagaço de laranja (b), torta de filtro (c) e esterco bovino fresco (d).

4.2. Montagem do Experimento

O experimento foi montado na Fazenda Santa Cândida, município de São Carlos – SP, nos dias 25 e 26 de outubro de 2004 e monitorado durante 7 meses. As leiras foram desmontadas no dia 25 de maio de 2005.

Foram montadas seis leiras com as seguintes composições:

Leira 1 (L1) – Apenas poda de árvores

Leira 2 (L2) – Poda de árvores + esterco bovino fresco

Leira 3 (L3) – Poda de árvores + bagaço de laranja triturado

Leira 4 (L4) – Poda de árvores + torta de filtro

Leira 5 (L5) – Poda de árvores + bagaço de laranja sem triturar

Leira 6 (L6) – Poda de árvores + esterco bovino + extrato pirolenhoso (este extrato, previamente diluído, foi aplicado no decorrer do processo de compostagem durante o controle do teor de umidade dessa leira).

O extrato pirolenhoso é obtido no processo de produção de carvão, onde a fumaça é captada e condensada obtendo-se assim um licor composto por cerca de 30% de alcatrão, 20 % de óleos vegetais e 50% do ácido pirolenhoso, que podem ser separados por meio da decantação ou através de um processo de destilação. É o ácido, ou extrato pirolenhoso, puro que apresenta as características inseticidas e fertilizantes e vem sendo utilizado na agricultura orgânica. O extrato é translúcido, com coloração que varia do amarelo ao vermelho escuro (Glass, 2005).

Este extrato, segundo o fabricante, convenientemente diluído pode ser utilizado como adubo foliar e repelente de pragas e insetos. Quando aplicado ao solo melhora suas propriedades físicas, químicas e biológicas e é também considerado um ativador do processo de compostagem, portanto a montagem da leira L6 foi com o objetivo de verificar este último efeito.

O extrato utilizado foi da marca “Piro Mor”, fornecido pela empresa Priscila Cottafava de Almeida – ME, localizada na cidade de Bernardino de Campos – SP. Fez-se a aplicação seguindo as recomendações para utilização em compostagem, fazendo a diluição do produto na proporção de 1 litro do extrato para 50 litros de água, sendo aplicado uma vez por semana, de acordo com a necessidade de controle da umidade.

As leiras L3 e L5 foram montadas com o objetivo de verificar se triturando o bagaço de laranja haveria efeito no tempo de compostagem. A Figura 4.3 mostra o bagaço antes e depois de triturado em um triturador de resíduos orgânicos – TR 200, da TRAPP.

Figura 4.3: Fotos do bagaço de laranja antes de triturar (a) e depois de triturado (b).

Inicialmente os resíduos foram caracterizados quanto à umidade e ao teor de C e N. Em função destes dados foram feitos os cálculos das proporções dos resíduos a fim de que todos os tratamentos (exceto L1) tivessem uma relação C/N inicial de 35 a 40.

As proporções dos resíduos em cada leira, considerando a massa fresca, foram de, aproximadamente:

L1 = 900 kg de poda de árvores

L2 = 1450 kg de poda de árvores + 2450 kg de esterco bovino fresco

L3 = 1400 kg de poda de árvores + 2900 kg de bagaço de laranja triturado

L4 = 1600 kg de poda de árvores + 2400 kg de torta de filtro

L5 e L6 tiveram as mesmas proporções das massas de L3 e L2, respectivamente.

A poda de árvores, o esterco bovino fresco, o bagaço de laranja e a torta de filtro apresentavam teor de umidade de 63%, 80%, 80% e 72%, respectivamente. Logo as proporções dos resíduos, considerando a massa seca, nas leiras L2, L3, L4, L5 e L6 foi de, aproximadamente, 1:1.

Para a montagem das leiras foi utilizado um molde de madeira com as seguintes dimensões $2,10\text{ m} \times 1,40\text{ m} \times 1,22\text{ m} = 3,6\text{ m}^3$ (Figura 4.4a). Desta forma pôde-se padronizar o volume inicial de todas as leiras. Os resíduos foram misturados

e colocados no molde de madeira até completar o volume (Figura 4.4b e 4.4c). Em seguida o molde foi desmontado (Figura 4.4d) e a leira foi estruturada em formato cônico.

Ao desmontar as leiras, após os 7 meses de compostagem, os compostos foram colocados novamente no molde de madeira para medir o volume de cada leira no final do processo e dessa forma foi registrada a redução do volume.

Figura 4.4: Fotos da montagem das leiras: montagem do molde de madeira (a), mistura dos resíduos (b), enchimento do molde com a mistura dos resíduos (c) e desmontagem do molde para estruturação da leira (d).

As leiras foram montadas em uma área com superfície de concreto, para impedir o contato com o solo e facilitar o processo de revolvimento (Figura 4.5). Elas eram cobertas com lonas plásticas nos períodos de chuva, para evitar excesso de umidade nos resíduos.

Figura 4.5: Foto das leiras no dia da montagem do experimento.

As medidas de temperatura foram feitas diariamente, entre 6 e 7 h da manhã, utilizando-se um termopar do tipo K, e um medidor marca MINIPA, acoplado a uma haste de PVC com aproximadamente 50 cm de comprimento. As medidas foram feitas introduzindo esta haste no interior das leiras em três pontos, simetricamente distribuídos, sobre sua superfície lateral e, aproximadamente, 40 cm de profundidade.

Com o objetivo de fornecer O_2 aos microrganismos no interior das leiras elas foram revolvidas manualmente. O revolvimento foi feito deslocando cada leira da sua posição inicial para outra posição, garantindo assim melhor aeração e homogeneização de todo o material. O primeiro revolvimento foi feito após 7 dias de compostagem e nas semanas subsequentes os revolvimentos foram feitos em intervalos de 4 a 5 dias. A partir da 7ª semana foi feito apenas um revolvimento semanal e a partir da 14ª semana as leiras não foram mais reviradas, pois já teve início a fase mesofílica.

Uma vez por semana foi feito o controle da umidade retirando amostras em vários pontos aleatórios no interior da leira e fazendo uma amostra composta. O teor

de umidade foi determinado por diferença de massa antes e depois do material ser seco em estufa a 60°C até massa constante. Foi adicionada água nas leiras L1, L2, L3, L4 e L5 e extrato pirolenhoso na L6 para ajustar o teor de umidade conforme a necessidade de cada tratamento.

Para o monitoramento do processo de compostagem foi coletado, aproximadamente, 1,0 kg de cada mistura de resíduos, devidamente homogeneizado, no dia da montagem do experimento. A cada 30 dias foram coletadas amostras em vários pontos aleatórios no interior da leira e da mistura dessas amostras obteve-se uma amostra composta de, aproximadamente, 1,0 kg.

4.3. Análises físicas e químicas

As amostras coletadas mensalmente foram secas em estufa a 60 °C até massa constante. Foram trituradas em moinho de rotor vertical com facas (Tipo Willye), marca SOLAB, passando por peneira de 0,5 mm.

4.3.1. Relação C/N

As análises de carbono total foram feitas em um aparelho TOC-VCPH Shimadzu, acoplado a um módulo para amostras sólidas SSM-5000A Shimadzu, com detector de combustão. Para a determinação do carbono as amostras, secas a 60 °C, foram oxidadas a 900 °C, utilizando um fluxo de oxigênio de 0,3 L min⁻¹. Para quantificação do carbono, foi construída uma curva analítica com padrão de biftalato de potássio (com os pontos de: 12, 23, 35, 40, 47 e 58 % de C). As análises foram feitas com 100 mg de amostra e com quatro repetições. O aparelho pertence ao Laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo.

A determinação de N total foi feita pelo método de Kjeldahl (Malavolta et al., 1989). As análises foram feitas no Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos – SP.

A relação C/N foi calculada a partir da razão do teor de C total dividido pela massa atômica do carbono pelo teor de N total dividido pela massa atômica do nitrogênio. As análises foram conduzidas com 4 repetições.

4.3.2. pH

Pesou-se 0,5 g de amostra seca a 60 °C e em seguida adicionou-se 5 mL de solução de CaCl_2 , 0,01 mol L^{-1} . A mistura foi agitada por 30 minutos em agitador orbital e a leitura de pH foi feita em pHmetro ANALION PM608 com eletrodo combinado de vidro (Raij et al., 2001). As análises foram conduzidas com 4 repetições.

4.3.3. Teor de cinzas do composto

Para determinação do teor de cinzas dos compostos foram utilizados cadinhos de porcelana previamente calcinados a 800 °C por duas horas. Aproximadamente, 200 mg da amostra foram calcinados a 650 °C durante duas horas. Neste processo ocorre queima da matéria orgânica e o resíduo que fica no cadinho é o material inorgânico chamado de cinzas. Por diferença de massa, antes e após a calcinação, medidas em uma balança eletrônica METTLER AE 200, com precisão de $\pm 0,5$ mg, calculou-se o teor de cinzas. As análises foram conduzidas com 4 repetições.

4.3.4. Obtenção da lignina Klason

Este método consiste em uma hidrólise ácida, onde os polissacarídeos são removidos e a lignina é obtida como o resíduo.

Fez-se um tratamento prévio das amostras do composto da L1 para retirar os possíveis ácidos húmicos (AH) da amostra antes da determinação do teor de lignina. Aproximadamente, 45 g do composto da L1 nos tempos zero e com 210 dias de compostagem foram submetidos à cinco extrações seqüenciais dos AH com, aproximadamente, 600 mL de solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹, para cada extração.

Para determinação da lignina utilizou-se o método TAPPI (1998). Foi pesado cerca de 1 g de amostra em béquer de 100 mL e acrescentou-se 15 mL ácido sulfúrico 72 %. A mistura foi resfriada até cerca de 10 °C e macerada com bastão de vidro. Depois da dispersão manteve-se à temperatura ambiente por 2 horas sob agitação. A mistura foi transferida para um sistema de refluxo acrescentando, para isto, 560 mL de água destilada e deixando em ebulição por 4 horas. Após chegar a temperatura ambiente, fez-se a filtração da lignina em funil de vidro sinterizado com tamanho de poros médios. A lignina foi seca em estufa a 100 °C por duas horas e armazenada para posterior análise por Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE).

4.3.5. Determinação da capacidade de troca catiônica (CTC)

A determinação da CTC foi feita baseada na metodologia de Rodella e Alcarde (1994) que fizeram uma adaptação da metodologia da Association of Official Analytical Chemists empregada para análise de CTC de turfa (Williams, 1984).

Foram pesados, aproximadamente, 2,000 g de composto e 1,000 g de carvão ativado e transferidos juntamente com 100 mL de HCl 0,5 mol L⁻¹ para um balão de 250 mL. Esta mistura foi agitada durante 30 minutos em agitador de Wagner.

Montou-se o sistema de filtração a vácuo, colocando sobre o funil de Büchner um disco de papel faixa azul. O papel foi umedecido, aplicou-se sucção moderada e transferiu a mistura lavando com porções de água destilada. Procederam-se sucessivas lavagens do material orgânico retido no funil, desagregando-o com jatos provenientes de uma pisseta e enchendo o funil até 1 cm de sua borda. A próxima lavagem era realizada após todo líquido da lavagem anterior ter sido drenado. Fez-se um número de lavagens suficiente para obter um volume de 350 mL no kitassato.

Após a fase das lavagens, trocou-se o kitassato por outro de igual capacidade e foram transferidas 10 alíquotas de 10 mL de solução de acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ com pH 7,0, sendo distribuído sobre toda superfície do material orgânico sob vácuo reduzido, para permitir uma lenta percolação. Uma nova porção de solução de acetato de cálcio apenas era adicionada, após a porção anterior ter sido drenada para o kitassato. Após a adição dos 100 mL de acetato de cálcio o material orgânico foi lavado com porções de água destilada até totalizar um volume de, aproximadamente, 300 mL no kitassato. Esta solução foi transferida para um erlenmeyer de 500 mL e titulada com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹, previamente padronizada. Utilizou-se fenolftaleína como indicador.

Foi conduzida uma análise, empregando-se o carvão ativado e omitindo a presença da amostra.

A seguinte equação foi utilizada para o cálculo da CTC:

$$CTC \text{ (mmol}_c \text{ kg}^{-1}) = \frac{(V_A - V_B) \times C}{m}$$

Sendo V_A e V_B os volumes de solução de NaOH gasto nas titulações das amostras e da titulação da mistura dos reagentes sem a amostra, respectivamente, (em mL) C é a concentração do NaOH padronizado (em mol L⁻¹), e m é a massa de fertilizante utilizada (em kg).

A relação CTC/ C foi calculada dividindo-se o valor da CTC (em mmol_c kg⁻¹) pelo teor de C (em g kg⁻¹).

As análises de CTC foram realizadas no laboratório de substrato do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), em Campinas – SP, e foram conduzidas com 3 repetições.

4.3.6. Análise de macro e micronutrientes nos compostos

A determinação de N total foi feita pelo método de Kjeldahl (Malavolta et al., 1989). Os elementos Ca, K, Mg, Mn, Fe, Cu e Zn foram determinados por absorção atômica após mineralização das amostras (Malavolta et al., 1989; Oliveira et al., 2000). O fósforo e o enxofre foram determinados por espectrofotometria de absorção molecular em sistema de análise em fluxo a 420 nm (Silva, et al., 1998) e turbidimetria do sulfato de bário a 420 nm (Malavolta et al., 1989). Todas essas análises foram feitas no Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos e foram conduzidas com 4 repetições.

4.3.7. Extração dos ácidos húmicos (AH)

No início do processo de compostagem, acredita-se que ainda não há substâncias húmicas, e sim, matéria orgânica fresca. Porém, como o objetivo é acompanhar a formação das substâncias húmicas, foram feitas as extrações das misturas dos resíduos, coletadas no dia da montagem do experimento e a cada 30

dias de compostagem. A extração foi realizada seguindo a metodologia sugerida pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) para extração de ácidos húmicos (AH) de solos (Swift, 1996) e todo material extraído, em todos os tempos de compostagem foram denominados AH.

Inicialmente, adicionou-se 1,5 L de NaOH 0,1 mol L⁻¹ em 100 g do material que ficou sob agitação intermitente por, aproximadamente, 4 horas. A suspensão foi deixada em repouso por 16 horas e o sobrenadante foi isolado através de centrifugação por 20 minutos a 10000 rpm. O sobrenadante foi acidificado com HCl 6 mol L⁻¹, sob agitação constante, até pH 1,0 e novamente ficou em repouso por 16 horas. A suspensão foi centrifugada por 20 minutos a 10000 rpm obtendo assim os AH (precipitado).

4.3.7.1. Purificação dos AH

A purificação dos AH foi realizada dissolvendo o precipitado em volume conhecido de solução diluída de KOH 0,1 mol L⁻¹. Em seguida foi adicionado KCl (na forma sólida) visando atingir a concentração de 0,3 mol L⁻¹ de íons K⁺.

A solução foi centrifugada para eliminação dos sólidos suspensos. Em seguida os AH foram reprecipitados com HCl 6 mol L⁻¹ até pH 1,0 e deixados em repouso por 16 horas. Os AH foram centrifugados e submetidos à diálise em água ultrapura grau MiliQ até apresentar teste negativo de Cl⁻ com nitrato de prata (aproximadamente 6 dias de diálise).

Utilizou-se membranas Spectra/Por® 6000-8000 Da que foram preparadas para o uso segundo metodologia de McPhie (1971) para hidratação e eliminação de impurezas.

Os AH foram liofilizados para posterior análises químicas e espectroscópicas.

4.3.7.2. Teste de pureza: determinação do teor de cinzas

Para determinação do teor de cinzas dos AH, foram utilizados cadinhos de platina, previamente calcinados a 800 °C, por 2 horas. Aproximadamente, 20 mg dos AH foram calcinados a 600 °C durante 2 horas. Através da diferença de massa medida em uma balança eletrônica METTLER AE 200, com precisão de $\pm 0,5$ mg, calculou-se o teor de cinzas.

4.3.7.3. Determinação da relação C/N dos AH

As análises do teor de C e N foram realizadas em duplicata utilizando-se analisador elementar, da CE – Instruments EA 1110, pertencente ao Instituto de Química da USP de São Carlos.

4.4. Análises Espectroscópicas

4.4.1. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

As análises de RPE foram feitas com amostras do material *in natura* (composto apenas seco e moído) e dos AH extraídos dos compostos. As análises foram feitas seguindo o procedimento descrito por Martin-Neto et al., (1991) e conduzidas com 4 repetições.

As amostras foram colocadas em tubos de quartzo de 3,5 mm de diâmetro interno. Os tubos foram preenchidos com o mesmo volume de amostras, correspondendo a 0,5 cm de altura nos tubos. As massas foram medidas em balança eletrônica, com precisão de $\pm 0,5$ mg.

Inicialmente foi feita a caracterização do material quanto ao seu sinal de RPE e obtenção da curva de saturação de potência, com o objetivo de se determinar as melhores condições experimentais para as análises.

A intensidade do sinal de RPE é proporcional à $P^{1/2}$, (sendo P a potência de microondas), não havendo saturação do sinal. Para otimizar a aquisição dos dados deve-se utilizar a maior potência de microondas abaixo da saturação. Para obtenção da potência de saturação foram adquiridos vários espectros variando-se P e medindo-se a intensidade (I). Estes valores foram traçados em um gráfico na forma de $\log(I/P^{1/2})$ em função de $\log(P^{1/2})$ (Novotny, 2002), conforme mostrado na Figura 4.6. Considera-se que o sinal não está saturado para valores constantes desta razão. Desta forma, foram encontrados os valores das potências de saturação para realizar as medidas da concentração dos radicais livres orgânicos do tipo semiquinona (RLO) do material *in natura* (0,2 mW) e dos AH (0,127 mW).

Figura 4.6: Gráficos de $\log(I/P^{1/2})$ versus $\log(P^{1/2})$ do material *in natura* (a) e dos AH (b).

As medidas dos RLO foram feitas em um espectrômetro BRUKER, EMX pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária. O espectrômetro opera em Banda X e os parâmetros empregados nas medidas foram: frequência de modulação = 100 KHz, $H_0 = 3400$ G, $\Delta H = 100$ G, $\nu = 9,5$ GHz, potência de microondas = 0,2 mW no material *in natura* e 0,127 mW nos AH, amplitude de modulação = 1,0 G pico a pico, número de varreduras = 16, ganho = 1×10^4 e temperatura ambiente.

O nível de RLO foi determinado usando a aproximação $I \times (\Delta H)^2$, onde ΔH é a largura de linha e I é a amplitude do sinal de RPE (Poole e Farach, 1972), tendo como padrão de concentração o *strong pitch*, um material que possui uma concentração conhecida de radicais livres orgânicos (3×10^{15} spins cm^{-1}). Também foi utilizado um cristal de rubi como padrão secundário, cuja finalidade é compensar possíveis mudanças no fator de qualidade da cavidade durante as análises com diferentes amostras. Os resultados apresentados são a média de quatro medidas feitas nas mesmas condições.

Para determinação do fator g utilizou-se um capilar contendo Cr^{3+} em uma estrutura cristalina de MgO com conhecido valor do fator g (1,9797). Este capilar foi colocado dentro do tubo de quartzo contendo amostra da qual o valor do fator g se queria determinar. Isso foi feito para garantir a aquisição dos sinais do Cr^{3+} e dos RLO na mesma frequência de microondas (Weil et al., 1994).

4.4.2. Fluorescência de luz UV – Vis

Algumas metodologias têm sido sugeridas na literatura no sentido de aplicar a técnica de fluorescência para avaliação da humificação das substâncias húmicas de solos (Zsolnay et al., 1999; Kalbitz et al., 1999; Milori et al., 2002). Com objetivo de testar estas metodologias e obter parâmetros para avaliação da humificação de compostos, foram obtidos espectros de fluorescência nos modos de emissão (com excitação em 240 e 465 nm), de excitação (com emissão em 350 e 510 nm) e de varredura sincronizada (com $\Delta\lambda = 20$ nm e $\Delta\lambda = 55$ nm).

Foram utilizadas soluções de 20 mg L^{-1} de AH (em solução aquosa de NaHCO_3 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$). O pH da solução resultante ficou na faixa de 8,6 a 8,8. A abertura das

fendas de entrada e saída foi 10 nm e a velocidade de aquisição dos espectros foi de 200 nm min⁻¹.

As medidas foram feitas em um espectrômetro de luminescência PERKIN ELMER LS-50B pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária e as análises foram conduzidas em duplicatas.

4.4.3. Absorção no UV – Vis

Foram obtidos espectros de absorção na região de 700 a 400 nm de solução de 200 mg L⁻¹ de AH em NaHCO₃ 0,05 mol L⁻¹ e na região de 400 a 200 nm da solução de 20 mg L⁻¹ de AH em NaHCO₃ 0,05 mol L⁻¹. A varredura do espectro foi feita com passo de 0,1 nm. O pH das soluções ficou na faixa de 7,9 a 8,8. Utilizou-se um Espectrômetro de Absorção UV – Vis SHIMADZU modelo UV-1601PC, pertencente à EMBRAPA Instrumentação Agropecuária e as análises foram conduzidas em duplicatas.

4.4.4. Ressonância Magnética Nuclear (RMN de ¹³C)

Foram obtidos espectros de RMN de ¹³C no estado sólido com polarização cruzada e amplitude variável ou “Variable Amplitude Cross-Polarization” (VACP) e rotação segundo o ângulo mágico ou “Magic Angle Spinning” (MAS) em um espectrômetro VARIAN modelo Unity Inova 400, campo de 9,4 T, operando a 100,6 MHz para o ¹³C e 400 MHz para o ¹H, pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária. Utilizou-se probe para amostras sólidas da marca DOTY, do tipo supersônico, com dois canais e rotores cilíndricos (Ø 5 mm) de zircônia com tampas de Kel-F® da marca Doty. A velocidade de rotação segundo o ângulo mágico foi de 6,5 kHz. Os espectros foram adquiridos em uma largura espectral de 50 kHz e os

dados foram coletados em um tempo de aquisição de 12,8 ms. Utilizou-se a sequência de pulsos ^{13}C VACP/MAS que inclui um pulso de preparação ^1H de 4 μs , 1 ms de tempo de contato e 500 ms de tempo de espera para relaxação (Novotny et al., 2006). Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm em relação ao hexametilbenzeno (HMB) que apresenta uma banda de maior intensidade em 17,2 ppm. Um total de, aproximadamente, 15000 aquisições foram feitas para obtenção de cada espectro. As áreas de algumas regiões dos espectros foram corrigidas em função das áreas das bandas laterais observadas na região de 185-240 ppm. Essas áreas das bandas laterais foram subtraídas nas regiões em que elas aparecem no espectro (60-110 ppm) e somadas na área da banda central de acordo com Conte et al. (2002).

4.4.5. Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Foram preparadas pastilhas com 1 mg de AH (que ficou em dessecador com pentóxido de fósforo por, aproximadamente 12 horas antes do preparo das pastilhas) e 100 mg de KBr, seco em estufa a 105 °C. As pastilhas foram prensadas, sob vácuo, por 2 minutos com uma carga equivalente a 10 toneladas. Os espectros foram obtidos a partir de 64 varreduras no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução espectral de 4 cm^{-1} . As medidas foram feitas segundo metodologia estabelecida na literatura (Stevenson, 1994) utilizando o espectrofotômetro de FTIR PERKIN-ELMER modelo Spectrum 1000, da Embrapa Instrumentação Agropecuária. Foi feita a correção de linha de base de todos os espectros usando 4000, 3700, 2350, 1850 e 870 cm^{-1} como os pontos de absorbância zero.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização dos resíduos

Inicialmente os resíduos de poda de árvores, esterco bovino fresco, bagaço de laranja e torta de filtro foram caracterizados quanto ao teor de umidade, pH, teor de nitrogênio e de carbono, relação C/N e teor de cinzas (Tabela 5.1).

Observa-se que os resíduos apresentaram alto teor de umidade, variando de 63 a 80 %. Os valores de pH estavam na região próxima da neutralidade (6,9 e 6,7) na poda de árvores e torta de filtro, enquanto que era básico no esterco bovino (8,0) e ácido no bagaço de laranja (3,7). O esterco, o bagaço de laranja e a torta de filtro apresentaram alta concentração de nitrogênio, enquanto que a poda de árvores apresentou concentração baixa desse elemento, refletindo assim numa alta relação C/N desse último resíduo (112), já para os demais resíduos esta relação ficou na faixa de 20 a 26.

Tabela 5.1: Características físico-químicas dos resíduos usados na montagem das leiras de compostagem

Parâmetros	Poda de árvores	Esterco bovino	Bagaço de laranja	Torta de filtro
Umidade (%)	63	80	80	72
pH ^a	6,9	8,0	3,7	6,7
N total (g kg ⁻¹) ^b	4,2	23,1	19,9	22,1
C total (g kg ⁻¹) ^b	403,6	424,0	437,8	376,2
Razão C/N	112	21	26	20
Cinzas (g kg ⁻¹) ^b	190	150	30	270

^a medido em CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ (1:10 v:v)

^b Resultados expressos em g kg⁻¹ de matéria seca

Os parâmetros: relação C/N e teor de umidade foram usados para os cálculos das proporções dos resíduos na montagem do experimento, objetivando-se iniciar o

processo com relação C/N próxima de 35 para todas as leiras (exceto a L1). O teor de cinzas da torta de filtro foi o mais alto, em comparação aos demais resíduos. Este fato pode ser atribuído à incorporação da cinza das caldeiras, obtida do processo de queima do bagaço de cana.

Os resíduos também foram caracterizados quanto ao teor de radicais livres orgânicos do tipo semiquinona (RLO), pela técnica de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE). Na Figura 5.1 são apresentados os espectros de RPE obtidos para os resíduos (poda de árvores, esterco bovino, bagaço de laranja e torta de filtro). Não foi possível quantificar os radicais nas amostras de bagaço de laranja e torta de filtro. A primeira, por apresentar uma quantidade muito baixa de RLO e a segunda, por conter alta concentração de ferro (como mostrado na Tabela 5.2) o que alarga o sinal de RPE. Os valores dos RLO medidos para a poda de árvores e o esterco bovino foram: $8,2 \cdot 10^{16}$ e $1,3 \cdot 10^{17}$ spins g^{-1} de amostra, respectivamente.

Figura 5.1: Espectros de RLO dos resíduos *in natura* utilizados na avaliação do processo de compostagem: poda de árvores (a), esterco bovino (b), bagaço de laranja (c) e torta de filtro (d), obtidos por RPE.

5.2. Monitoramento físico e químico do processo de compostagem

5.2.1. Volume das leiras

A Figura 5.2 ilustra a perda de volume das leiras no processo de compostagem. O volume inicial das 6 leiras foi padronizado em $3,6 \text{ m}^3$ de resíduos. Após os 210 dias de compostagem os volumes foram: 1,7; 1,3; 1,0; 1,3; 1,0 e $1,2 \text{ m}^3$, para as leiras L1, L2, L3, L4, L5 e L6, respectivamente. Esses volumes correspondem à perda de 53, 64, 72, 64, 72 e 67 % nas respectivas leiras. Este fato é consequência da ação microbiana, pois no decorrer do processo há perda de massa dos materiais (liberação de CO_2 e H_2O), concentração do material inorgânico e humificação da matéria orgânica.

Houve também mudança significativa na coloração dos compostos das leiras L2, L3, L4, L5 e L6 em função do tempo de compostagem (Figura 5.2).

Chefetz, et al. (1998a) consideram que, aproximadamente, 50 % da matéria orgânica torna-se completamente mineralizada devido à degradação de compostos facilmente degradáveis que são utilizados pelos microrganismos como fonte de carbono e nitrogênio.

Figura 5.2: Fotos das leiras no tempo zero (a) e com 210 dias de compostagem (b).

Na Figura 5.3 são apresentados os teores de C total em função do tempo. Observa-se que as maiores perdas do C total ocorrem nos primeiros 2 meses de compostagem. Grigatti et al. (2004) relatam que o teor de C decresce predominantemente durante a fase termofílica devido ao intenso processo de mineralização. Esta acelerada perda nos primeiros meses de compostagem também foi observada por Vincelas-Akpa e Loquet (1997) no processo de compostagem e vermicompostagem de resíduos lignocelulósicos.

Figura 5.3: Teor de C total (g kg^{-1}) nas leiras L1, L2, L3, L4, L5 e L6 em função do tempo de compostagem.

Tiquia et al. (1998) consideram que, aproximadamente, dois terços do C do material transformado é liberado na forma de CO_2 e o um terço restante é combinado com o N nas células microbianas, levando ao aumento do N total. Ainda segundo estes autores, a oxidação do C à CO_2 ocorre durante o processo de produção de energia.

Nesse experimento foram observadas perdas de 25, 50, 20, 30, 15 e 46% nos teores de C total das leiras L1, L2, L3, L4, L5 e L6, respectivamente (Figura 5.3), com 210 dias de compostagem.

5.2.2. Teor de umidade

O teor de umidade foi monitorado semanalmente e os resultados são apresentados na Figura 5.4. Observa-se que estes teores mantiveram-se entre 50 e 65 %, faixa considerada ideal para a compostagem (Liang et al., 2003; Tiquia, 2005). Pequenas variações ocorreram no início do processo devido às condições climáticas do local nesta época.

Figura 5.4: Monitoramento da umidade em função do tempo (semanas) de compostagem em cada leira.

5.2.3. pH

Observa-se na Figura 5.5 que nas leiras L1 e L4 e em L2 e L6 houve pequena variação nos valores de pH, sendo que, nas duas primeiras houve ligeiro aumento e nas duas últimas um ligeiro decréscimo desse parâmetro. Já nas leiras L3 e L5, que começaram o processo com baixos valores de pH ($\sim 4,0$), devido à adição do bagaço de laranja, houve aumento significativo após 30 dias de compostagem. Nesse experimento não foi observada influência do pH no processo de compostagem, pois as leiras que iniciaram o processo com baixos valores de pH (L3 e L5) e as que iniciaram com altos valores de pH (L2 e L6) apresentaram valores de

pH próximos à neutralidade ou levemente alcalinos no final do processo, condição esperada para um composto estabilizado.

Figura 5.5: Variação do pH em função do tempo de compostagem das 6 leiras (média de 4 repetições).

5.2.4. Teor de cinzas

A variação do teor de cinzas reflete a decomposição e mineralização da matéria orgânica e a sua estabilização durante a compostagem pode sugerir a estabilização do processo (Wang et al., 2004; Chefetz et al., 1996; Hsu e Lo, 1999).

Como pode ser observado nos gráficos da Figura 5.6 houve aumento do teor de cinzas em função do tempo em todas as leiras. Isto ocorre devido à perda de carbono na forma de CO₂ durante o processo de compostagem, ocorrendo assim concentração do material inorgânico nos compostos.

Os teores de cinzas no início do processo foram de 19, 24, 8, 27, 8, 26 e após 210 dias eram 35, 63, 31, 46, 30 e 57 na L1, L2, L3, L4, L5 e L6, respectivamente. Nas leiras L2 e L6 foram observados os maiores teores de cinzas, enquanto que as leiras L3 e L5 apresentaram os menores teores. Estes resultados são coerentes com os resultados observados na Figura 5.3, onde foi observado que nas leiras L2 e L6

houve uma maior perda de C, enquanto que nas leiras L3 e L5 observou-se as menores perdas deste elemento.

Figura 5.6: Variação do teor de cinzas nas leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c), L4 (d), L5 (e) e L6 (f) em função do tempo de compostagem (média de 4 repetições). Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Não foi encontrado um tempo específico para a estabilização desse parâmetro para todas as leiras, pelo teste de Tukey. As médias da L1 mostraram que a partir de 30 dias não há diferença estatística entre os valores, já as leiras L2,

L3, L4, L5 e L6 não apresentaram um tempo específico de estabilização, onde as médias não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, mas os valores mostram uma tendência de estabilização a partir de 60 dias. Porém, neste tempo o processo ainda estava em plena fase termofílica.

5.2.5. Temperatura

A variação de temperatura, no interior das leiras L2, L3, L4, L5 e L6 seguiu um padrão típico apresentado por muitos sistemas de compostagem (Jeong e Kim, 2001; Hsu e Lo, 1999; Tiquia et al., 1997; Chefetz et al., 1996), porém apresentou uma maior duração da fase termofílica, que permaneceu até, aproximadamente, o 90º dia. Esse tempo de duração da fase termofílica está diretamente relacionado com as características dos resíduos usados para a compostagem (Trautmann e Olynciw, 2005). Comportamento parecido dessa fase termofílica foi observado por Jouraiphy et al. (2005) na compostagem de lodo de esgoto e resíduos de planta e por Jerzykiewicz et al. (1999), na compostagem de resíduos sólidos municipais.

Foram observadas as quatro fases de temperatura: a fase mesofílica nos primeiros três dias do processo, onde houve o aumento da temperatura. Seguiu-se a fase termofílica, onde a temperatura chegou aos 60 °C e esta fase permaneceu por, aproximadamente, 90 dias. Após esse tempo houve queda na temperatura, começando assim a fase de resfriamento e maturação e a temperatura permaneceu constante e em torno de 30 °C (Figura 5.7). A temperatura ambiente permaneceu próxima de 20 °C durante todo o tempo do experimento.

Figura 5.7: Variação da temperatura no interior das leiras (em três pontos distintos e a média destes pontos) L1 (a), L2 (b), L3 (c), L4 (d), L5 (e) e L6 (f), em função do tempo de compostagem.

O aumento da temperatura é um indicativo da evolução do processo de compostagem, pois é consequência da ação dos microrganismos sobre os resíduos, e também a dinâmica da população microbiana é fortemente influenciada pela

temperatura (Liang, et al., 2003). Observa-se na Figura 5.7a que a L1 apresentou a menor temperatura, permanecendo na fase mesofílica durante todo o processo, sendo que a temperatura não excedeu 40 °C. Isto pode ser explicado pelo fato do material dessa leira apresentar alta relação C/N (Figura 5.9), o que dificulta a ação microbiana e consequentemente retarda o processo de compostagem.

A Figura 5.8 mostra o processo de revolvimento das leiras, onde pode ser observada a formação de vapor devido à alta temperatura no interior da L2.

Figura 5.8: Foto mostrando o revolvimento da leira (L2) no sétimo dia de compostagem (o interior da leira apresenta alta temperatura).

Segundo Liang et al. (2003) a obtenção de determinado nível de temperatura é essencial para o desenvolvimento do processo de compostagem. Temperaturas abaixo de 20 °C têm demonstrado ineficiência no processo, pois a decomposição fica muito lenta ou até mesmo cessa. Temperatura acima de 60 °C também torna o processo lento, pois reduz a atividade microbiana. Se a temperatura chega aos 82 °C a atividade microbiana é amplamente retardada. Segundo estes autores, valores ótimos de temperatura, baseados na máxima decomposição dos resíduos, devem estar na faixa de 50 a 60 °C. Essa faixa de valores de temperatura foi alcançada na fase termofílica das leiras L2, L3, L4, L5 e L6 (Figura 5.7).

5.2.6. Relação C/N

A eficiência do processo depende muito da natureza do substrato. Em geral, a relação C/N é usada como um indicador da capacidade de degradação do resíduo pelos microrganismos. Considera-se a relação C/N na faixa de 25 a 40 como valores ótimos para o início do processo de compostagem (Tuomela, et al., 2000). No entanto, alguns resíduos orgânicos com ótima relação C/N podem conter uma grande proporção de lignina e/ou celulose e não sofrer muitas mudanças com a compostagem. Esse caso pode ser bem ilustrado pelos resíduos de plantas, pois os principais componentes das plantas são celulose, hemicelulose e lignina, sendo este último componente o mais difícil de ser degradado (López et al., 2002).

A variação da relação C/N é um índice normalmente usado para a avaliação do processo de compostagem e identificação da maturidade do composto. Esta relação dá uma indicação do grau de estabilização da matéria orgânica, do ponto de vista microbiológico, bem como a estabilidade deste material quando colocado no solo. Na literatura não há um consenso quanto ao valor da relação C/N para composto maturado. Alguns autores consideram que valores próximos de 10 indicam baixa atividade microbiana e uma possível estabilização do material (Provenzano et al., 2001; Bernal et al., 1998c; Chefetz et al., 1996). Já Pullicino (2002) considera que com C/N menor que 20 tem-se um composto maturado. Para Tomati et al. (2001) composto maturado apresenta relação C/N entre 11 e 22.

Os compostos apresentaram uma diminuição significativa da relação C/N em função do tempo (Figura 5.9). Observa-se que na leira L1 houve redução da relação C/N, porém após 210 dias de compostagem o valor ainda estava alto (≈ 38), enquanto que nas demais leiras esta relação foi para a faixa de 15 a 18, indicando uma possível estabilização do composto.

A Figura 5.9 apresenta a média dos valores da relação C/N para os respectivos meses de compostagem mostrando uma tendência de decaimento exponencial dessa relação. Através dessas curvas de decaimento podemos determinar o tempo característico (t_1) que corresponde ao tempo necessário para que, aproximadamente, um terço do processo de estabilização seja concluído. E o parâmetro y_0 que corresponde ao valor da relação C/N após a estabilização dos compostos.

Figura 5.9: Curvas da variação da relação C/N nas leiras em função do tempo de compostagem (média de 4 repetições) e informações dos parâmetros das curvas de ajustes.

Observa-se pelos parâmetros da curva de decaimento que a L1 apresentou o maior tempo característico (t_1) igual 87 dias, enquanto que, para as demais leiras este tempo está entre 18 e 23 dias. O y_0 da L1, após 210 dias de compostagem, ainda foi muito alto (34) e os valores para as demais leiras encontraram-se na faixa 15 a 18, que já são considerados valores de razoável estabilização (Polak et al., 2005).

Com a análise do teste de média (teste de Tukey) observa-se na Figura 5.10 que com 60 dias já houve estabilização da relação C/N nas leiras L2, L3, L4, L5 e

L6. Porém, pelo monitoramento da temperatura, tem-se que neste período essas leiras ainda estavam em plena fase termofílica e conseqüentemente os compostos não poderiam estar estabilizados.

Figura 5.10: Variação da relação C/N nas leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c), L4 (d), L5 (e) e L6 (f) em função do tempo de compostagem (média de 4 repetições). Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Dessa forma necessita-se de outros índices para verificar o período de estabilização do processo de compostagem, pois a estabilização da relação C/N não pode ser considerada um parâmetro confiável para monitorar todo o processo, da

mesma forma que foi observado para o teor de cinzas descrito anteriormente (no item. 5.2.4).

5.2.7. Determinação da capacidade de troca catiônica pelo teor de carbono (CTC/C)

Considera-se que o aumento da CTC da matéria orgânica do solo está diretamente relacionado com o grau de humificação dessa matéria orgânica. Os grupos oxidados responsáveis pela CTC estão principalmente nos ácidos húmicos e fúlvicos, sendo que, o aumento da oxidação e decomposição da matéria orgânica leva ao aumento da CTC (Roig et al., 1988; Lax et al., 1986). Considera-se que um processo similar ocorre nos materiais orgânicos recentemente formados, sendo observado na literatura aumento da CTC durante o processo de compostagem (Sánchez-Monedero et al., 2002; Namkoong et al., 1999; Bernal et al., 1998c; Chen et al., 1989; Roig et al., 1988).

A razão CTC/C permite uma melhor caracterização dos compostos, pois leva em consideração a diferença no teor de C dos resíduos e a perda desse elemento durante o processo de compostagem. Este índice ainda traz uma informação muito significativa do ponto de vista agrônomo que é a capacidade de retenção dos nutrientes que o composto pode proporcionar ao ser incorporado ao solo (Rodella e Alcarde, 1994).

Roig et al. (1988) consideram que o valor de CTC/C de $1,7 \text{ mmol}_c \text{ g}^{-1}$ como um bom índice de humificação de esterco (bovino, ave, coelho e ovelha), mas estes autores também realçam a necessidade de novas pesquisas com outros resíduos para obtenção de novos resultados e assim poder generalizar este conceito.

Nesse trabalho observou-se um aumento significativo da razão CTC/C em todos os compostos (Figura 5.11). No composto da L1 houve um incremento de 236 % e nos compostos das leiras L2, L3 e L4 o aumento foi de 306, 216 e 278 %, respectivamente, do tempo 210 em relação ao tempo zero. Chen et al. (1989) observaram um aumento de 188 % na CTC, após 147 dias de compostagem de esterco bovino (os valores da CTC variaram de 62,8 mmol_c/100g para 180,9 mmol_c/100g).

Figura 5.11: Variação da CTC por grama de carbono dos compostos das leiras L1, L2, L3 e L4 em função do tempo de compostagem (média de 3 repetições).

O composto da L3 apresentou o menor percentual de aumento da CTC/C (do tempo 210 em relação ao tempo zero), porém observa-se que este composto apresentou a maior CTC/C no início do processo de compostagem (1,25). Este fato pode estar relacionado com a alta concentração de ácidos orgânicos (o que pode ser comprovado pelo pH $\approx$ 4,0) e alto teor de pectina presentes no bagaço da laranja que foi utilizado nesta leira. Como pode-se observar na estrutura da pectina (Figura 5.12) há grande número de grupos carboxílicos e alcoólicos que também são responsáveis pela CTC desse composto.

Figura 5.12: Fórmula estrutural da pectina.

Pode-se observar na Figura 5.13 a estabilização da CTC/C com 90 dias nas leiras L2, L3 e L4, constatada pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Já na L1 não houve essa estabilização mesmo com 210 dias de compostagem. Apesar da L1 ter apresentado um grande aumento percentual na razão CTC/C do tempo 210 em relação ao tempo zero, observando-se os valores absolutos da CTC/C tem-se que este parâmetro na L1 é muito inferior quando comparado com as demais leiras, em todos os tempos de compostagem.

Para os resíduos estudados observou-se que CTC/C acima de $2,2 \text{ mmol}_c \text{ g}^{-1}$ corresponde ao material humificado. Este valor está acima do valor mínimo recomendado pela Instrução Normativa nº 23, de 31 de agosto de 2005, do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento para fertilizantes orgânicos, que corresponde à $2,0 \text{ mmol}_c \text{ g}^{-1}$ (Brasil, 2005).

Figura 5.13: Determinação da CTC por grama de carbono dos compostos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem (média de 3 repetições). Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

5.2.8. Análise de macro e micronutrientes nos compostos

As análises de macro e micronutrientes foram realizadas no início (t_0) e no final do processo de compostagem (t_{210}) com o objetivo de avaliar o potencial fertilizante dos compostos produzidos. Os resultados apresentados na Tabela 5.2 mostram significativo incremento dos nutrientes, em consequência do aumento relativo da concentração dos elementos inorgânicos durante o processo. Estes resultados evidenciam o potencial que o composto apresenta para o uso como fertilizante orgânico. Os valores encontram-se na faixa dos valores mostrados por Soler Rovira et al. (2003) para composto, obtido a partir da mistura de lodo de esgoto e aparas de madeira.

Tabela 5.2: Análise de macro e micronutrientes da mistura dos resíduos no tempo inicial da compostagem (t_0), com 210 de compostagem (t_{210}) e alguns valores encontrados na literatura

Leiras	N	Ca	Mg	P	K	S	Cu	Fe	Mn	Zn
	-----g kg ⁻¹ -----						-----mg kg ⁻¹ -----			
L1 (t_0)	5,5 ± 0,2	6,1 ± 0,3	1,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1	3,2 ± 0,4	0,6 ± 0,1	11,9 ± 1,9	1339 ± 107	44,0 ± 3,3	7,2 ± 0,4
L2 (t_0)	12,7 ± 0,4	10,8 ± 0,9	2,6 ± 0,2	2,7 ± 0,2	4,3 ± 0,4	1,0 ± 0,1	30,0 ± 0,5	3766 ± 130	106,2 ± 2,0	55,1 ± 2,5
L3 (t_0)	10,2 ± 0,3	5,7 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,0 ± 0,1	6,5 ± 0,4	0,6 ± 0,1	13,5 ± 1,9	688 ± 26	30,9 ± 2,0	11,7 ± 0,1
L4 (t_0)	12,4 ± 0,2	20,4 ± 0,4	2,9 ± 0,1	7,8 ± 0,2	2,6 ± 0,4	1,2 ± 0,1	44,0 ± 0,6	22762 ± 1036	504,2 ± 16	85,6 ± 2,9
L5 (t_0)	10,2 ± 0,3	5,7 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,0 ± 0,1	6,5 ± 0,4	0,6 ± 0,1	13,5 ± 1,9	688 ± 26	30,9 ± 2,0	11,7 ± 0,1
L6 (t_0)	12,7 ± 0,4	10,8 ± 0,9	2,6 ± 0,2	2,7 ± 0,2	4,3 ± 0,4	1,0 ± 0,1	30,0 ± 0,5	3766 ± 130	106,2 ± 2,0	55,1 ± 2,5
L1 (t_{210})	9,9 ± 0,2	11,1 ± 0,1	2,3 ± 0,1	1,1 ± 0,1	2,1 ± 0,4	1,0 ± 0,1	19,5 ± 1,3	1996 ± 176	81,4 ± 2,3	19,2 ± 1,5
L2 (t_{210})	16,9 ± 0,6	19,2 ± 0,1	4,5 ± 0,1	5,1 ± 0,1	7,1 ± 0,4	2,5 ± 0,1	64,8 ± 1,1	13509 ± 130	244 ± 6,0	147,3 ± 1,7
L3 (t_{210})	24,4 ± 1,1	23,2 ± 0,6	4,7 ± 0,1	3,8 ± 0,1	17,4 ± 1,2	1,8 ± 0,1	25,0 ± 0,1	4593 ± 65	131 ± 5,0	51,8 ± 0,5
L4 (t_{210})	20,8 ± 0,3	33,8 ± 1,9	4,4 ± 0,5	14,5 ± 0,6	2,6 ± 0,4	2,1 ± 0,1	70,0 ± 5,3	34500 ± 1183	813 ± 29	135,5 ± 4,5
L5 (t_{210})	23,5 ± 0,6	23,3 ± 0,2	4,5 ± 0,1	4,0 ± 0,1	12,5 ± 0,8	1,9 ± 0,1	25,1 ± 0,6	6540 ± 119	152 ± 1,0	46,6 ± 0,4
L6 (t_{210})	17,1 ± 0,9	15,8 ± 0,8	3,8 ± 0,2	4,3 ± 0,2	6,2 ± 0,4	2,1 ± 0,1	62,0 ± 2,3	15405 ± 640	219 ± 11	126,6 ± 6,6
Composto^a	13	31	6	24	7	4,3 ^b	145	-	227	882

^a Obtido da mistura de lodo de esgoto e aparas de madeira, compostagem por 1 ano (Soler Rovira et al., 2003).

^b Obtido da mistura resíduos da indústria de algodão e poda de árvores, compostagem por 103 dias (Mondini et al., 2003).

Segundo a Instrução Normativa nº 23, de 31 de agosto de 2005, do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o fertilizante orgânico composto é definido como o produto obtido por processo físico, químico, físico-químico ou biológico, natural ou controlado, a partir de matérias-primas de origem industrial, urbana ou rural, animal ou vegetal, isoladas ou misturadas e pode ser enriquecido de nutrientes, princípio ativo ou agente capaz de melhorar suas características físicas, químicas ou biológicas (Brasil, 2005). A Tabela 5.3 apresenta alguns parâmetros que devem ser avaliados para a comercialização de fertilizantes orgânicos compostos.

Tabela 5.3: Especificações dos fertilizantes orgânicos compostos (Brasil, 2005)

Parâmetros	Valores
Umidade (máx.)	50 %
N total (mín.)	10 g kg ⁻¹
*Carbono orgânico (mín.)	150 g kg ⁻¹
pH (mín.)	6,0
Relação C/N (máx.)	18
*Relação CTC/C (mín.)	2,0 mmol _c kg ⁻¹
Nutrientes	Valores mínimos (g kg⁻¹)
Ca	10
Mg	10
S	10
Cu	0,5
Fe	2
Mn	0,5
Zn	1

* valores expressos em base seca, umidade determinada a 65 °C.

De acordo com os limites estabelecidos pela Instrução Normativa nº 23 (Tabela 5.3) todos os compostos apresentaram valores acima dos valores mínimos exigidos para os elementos N, C, Ca, e Fe. Os teores de Mg, Mn, Cu, Zn e S estão abaixo dos valores mínimos recomendados e desta forma necessita-se de uma complementação com adubação mineral com estes elementos.

5.2.9. Extração dos AH

5.2.9.1. Rendimento de AH extraídos

Partindo-se de 100 g de composto para o procedimento de extração observou-se incremento na massa dos AH extraídos das leiras L2, L3, L4, L5 e L6, enquanto que a L1 não apresentou grandes variações da massa em função do tempo (Figura 5.14). Este é mais um indício de que na L1 houve um processo de compostagem inefficiente.

Figura 5.14: Variação da massa de AH extraídos, partindo-se de 100 g de composto, nos diferentes tempos de compostagem (média de 2 repetições).

5.2.9.2. Determinação da relação C/N dos AH

A relação C/N dos AH foi calculada a partir dos resultados da análise elementar. Observa-se que os AH extraídos da L1 apresentaram os maiores valores em todos os tempos de compostagem (Figura 5.15). Enquanto que os valores dessa relação para os AH das leiras L2, L3 e L4 apresentaram valores similares entre si. Este fato sugere que o material extraído do composto da L1 apresenta características distintas dos demais AH extraídos.

Figura 5.15: Variação da relação C/N dos AH extraídos dos compostos das leiras L1, L2, L3 e L4 (média de 2 repetições).

5.2.9.3. Teor de cinzas dos AH

Os AH extraídos dos compostos, segundo a metodologia sugerida pela IHSS, têm o grau de pureza avaliado pelo teor de cinzas.

A Figura 5.16 apresenta os teores de cinzas dos AH. Observa-se que os teores foram baixos (< 3 %), indicando alta pureza dos materiais após a extração.

Figura 5.16: Variação dos teores de cinzas dos AH extraídos em função do tempo de compostagem (média de 2 repetições).

5.3. Análises Espectroscópicas

5.3.1. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

5.3.1.1. Análise dos compostos

A concentração dos radicais livres orgânicos do tipo semiquinona (RLO) é usada como um índice de humificação da matéria orgânica de solos (González-Pérez et al., 2004; Bayer et al., 2002; Bayer et al., 2000; Olk et al., 2000; Martin-Neto et al., 1998). Dessa forma, foram determinadas as concentrações dos RLO e a largura de linha do sinal do material *in natura* a fim de avaliar a potencialidade do uso dessa técnica para a determinação do grau de humificação de compostos.

A Figura 5.17a mostra um espectro típico de RPE ilustrando a largura de linha (ΔH) e o fator g de um sinal de RLO. Com uma varredura mais ampla do espectro (de 0 a 5000 Gauss) pode-se observar a presença de ferro na amostra (Figura 5.17b), onde o ferro rômico apresenta o sinal na região de 1500 Gauss e o óxido de ferro amorfo em, aproximadamente, 2600 Gauss. Além do íon Fe^{3+} outros íons paramagnéticos como o Mn^{2+} , Cu^{2+} , VO^{2+} , entre outros, se sobrepõe aos sinais dos RLO induzindo a uma intensa diminuição da concentração dos RLO (Novotny e Martin-Neto, 2002). Segundo Bayer et al. (2000) o sinal de quartzo (SiO_2) pode interferir na quantificação dos RLO em agregados organominerais. O sinal do quartzo foi identificado no material *in natura* das leiras L1, L2, e L3, mas em uma intensidade baixa, como é ilustrado na Figura 5.17c. Considerando a metodologia utilizada para quantificação dos RLO ($I \times (\Delta H)^2$, onde I é intensidade do sinal e ΔH a largura de linha do sinal), é observado que o sinal do quartzo não se sobrepõe às regiões utilizadas para o cálculo da concentração dos radicais. O sinal do SiO_2 nos compostos pode ser justificado pela presença de areia, pois a poda de árvores foi originada de uma região litorânea (cidade de Bertioga, litoral de São Paulo).

Figura 5.17: Sinal típico dos radicais livres orgânicos do tipo semiquinona (RLO) (a), espectro com varredura mais ampla mostrando sinais de íons ferro (Fe^{3+}) (b) e sinal do SiO_2 observado nos compostos das leiras L1, L2 e L3 juntamente com o sinal do RLO (c).

Na Figura 5.18 são apresentados os espectros dos RLO do composto da L1 em função do tempo e as larguras de linha (ΔH) dos compostos da L1, L2 e L3 em função do tempo de compostagem. Foram observadas variações nas intensidades dos sinais (Figura 5.18a), em função do tempo, mas não se observam grandes variações na largura de linha (ΔH). Apenas o composto da L3, no tempo zero de compostagem, apresentou um baixo valor na largura de linha. Isso pode ser devido a dois fatores: baixa concentração de RLO nesse material, como ilustrado na Figura 5.1c e também ao baixo valor de pH (4,0) nesse tempo de compostagem (Figura 5.5). Senesi e Schnitzer (1977) observaram que houve redução na largura de linha de alguns ácidos fúvicos quando medidos em pH 2,2 comparado com estes mesmos materiais em pH 7,0. Não foram observadas variações significativas de ΔH no material *in natura* nas demais leiras e nos demais tempos de compostagem (Figura 5.18b).

Figura 5.18: Sinais de RLO do composto da L1 em função do tempo de compostagem (a), largura de linha (ΔH) do sinal de RLO dos compostos da L1, L2 e L3, em função do tempo, sendo a média de 4 repetições (b).

A determinação da concentração de RLO do composto da L4 não foi possível, pois além da ressonância dos RLO também foi observada uma linha de ressonância assimétrica e com intensidade relativa variável. Essa ressonância pode ser devida à presença de ferro que além de ocasionar deformação na linha de base do sinal do RLO (Figura 5.19), aumenta a largura de linha (ΔH) do sinal. Essas alterações são atribuídas ao surgimento de uma linha larga centrada em $g \approx 2,2$ gerada pela superposição de linhas decorrentes de interações dipolares entre metais paramagnéticos e óxido de ferro (Guimarães et al., 2001). O composto da L4 apresentou a maior concentração de ferro total (22762 mg kg^{-1} no início e 34500 mg kg^{-1} no final do processo), quando comparado com os demais compostos (Tabela 5.2).

Figura 5.19: Espectro de RPE com varredura do campo magnético de 0 a 5000 Gauss (a) e na região do sinal dos RLO ilustrado a distorção do sinal devido à interferência do ferro (b).

As concentrações, dos RLO dos compostos, normalizadas pelo teor de carbono, em função do tempo são apresentadas na Figura 5.20. Observa-se incremento nas concentrações destes radicais em função do tempo de compostagem, sendo o aumento mais pronunciado, observado para o composto da L1. Porém, o monitoramento da temperatura, as análises da razão atômica C/N, CTC/C e as análises das técnicas espectroscópicas do composto da L1, mostraram que esse composto não apresentou características de material humificado. Desta forma, tem-se como hipótese que essa maior concentração dos radicais na L1 é devido aos RLO da lignina presente na poda de árvores. Para Czechowski et al. (2004) a concentração de RLO da lignina é alta e comparável à observada em materiais humificados. Nas leiras L2 e L3 havia menos lignina (comparando com a L1), pois houve mistura de resíduos (na proporção de, aproximadamente, 1:1 em massa seca).

Figura 5.20: Concentrações de RLO em spins $(\text{g de carbono})^{-1} (x10^{17})$ dos materiais *in natura* das leiras L1, L2 e L3 em função do tempo de compostagem, determinadas por RPE (média de 4 repetições).

Também pode-se observar na Figura 5.20 a baixa concentração de RLO no composto da L3, em relação às outras leiras, no tempo zero de compostagem. Esse comportamento pode ser consequência da baixa concentração de RLO no bagaço de laranja (Figura 5.1c) e ao baixo valor de pH da mistura neste tempo de compostagem ($\text{pH} = 4,0$). Czechowski et al. (2004) verificaram que a medida da concentração de RLO é altamente sensível ao pH. Estes pesquisadores observaram que a quantificação dos radicais em meio alcalino (atmosfera de gás amônia) aumentou de 7 a 15 vezes a concentração dos mesmos, em relação à condição ambiente (atmosfera de ar). Senesi e Schnitzer (1977) e Senesi (1990a) também observaram que o pH tem um forte efeito nas medidas de concentração de RLO. Senesi (1990a) relata que os efeitos da oxidação e redução na concentração dos RLO em soluções de ácidos fúlvicos com diferentes valores de pH são aparentemente reversíveis. Ele considera que este comportamento é devido às reações ilustradas na Figura 5.21. Sendo que em meio ácido ou neutro ocorrem as

reações do tipo da Figura 5.21a em meio alcalino ocorrem as reações do tipo da Figura 5.21b.

Figura 5.21: Esquema da estabilização do radical livre semiquinona em função das condições do meio (Senesi, 1990a).

Nesse trabalho foi constatada essa influência do pH (composto da L3) e possivelmente da lignina (composto da L1) na quantificação dos RLO.

Com o objetivo de avaliar a hipótese da influência da lignina na quantificação dos RLO no composto da L1, fez-se um estudo mais detalhado desse material.

Na Figura 5.22 são apresentados os teores de RLO no composto (material *in natura*), no composto sem os AH (material lavado várias vezes com solução de NaOH 0,1 molL⁻¹, para retirar possíveis AH da amostra), na lignina (isolada pelo método Klason) e nos AH extraídos (segundo metodologia sugerida pela IHSS). Estas quantificações foram realizadas para os materiais coletados nos tempos 0 e 210 dias de compostagem da L1. Observa-se que a fração lignina apresentou os maiores teores de RLO no tempo 0 e com 210 dias de compostagem, em relação as demais frações. Desta forma pode-se inferir que o fato da L1 apresentar a maior concentração de RLO, em relação a L2 e L3 (Figura 5.20), se deve à maior

concentração de lignina nesse composto. Também pode-se observar que houve um incremento de $\approx 2,7$ vezes na concentração de RLO na lignina no tempo 210 em relação ao tempo zero de compostagem (Figura 5.22). Isso nos leva a inferir que apesar do processo de compostagem não ter sido eficiente na L1 pode ter ocorrido concentração ou alguma transformação na estrutura da lignina gerando assim uma maior concentração de RLO.

Figura 5.22: Concentrações de RLO em spins (g de carbono)⁻¹ ($\times 10^{17}$) do composto *in natura*, do composto sem AH, da lignina e dos AH da L1 no tempo zero e após os 210 dias de compostagem, determinadas por RPE (média de 4 repetições).

Segundo Browning (1967) o método Klason para obtenção da lignina ocasiona mudanças nas propriedades químicas da madeira. Diante desse fato, foi questionado se as altas concentrações de RLO da lignina (obtida pelo método Klason) observadas na Figura 5.22 foram decorrentes da lignina presente na poda de árvores ou do processo de obtenção da lignina (a hidrólise ácida).

Diante dessa dúvida foi feito um estudo com lignina comercial, produzida pela empresa Westvaco e denominada lignina Indulin. Essa lignina Indulin foi submetida ao mesmo tratamento feito para obtenção da lignina do composto da L1 (descrito no

item 4.3.4). Os resultados da quantificação dos RLO dessa lignina antes e após o tratamento são mostrados na Figura 5.23.

Figura 5.23: Concentrações de RLO em spins g⁻¹ (x10¹⁷) da lignina comercial sem tratamento (1) e após o tratamento (2) e (3), determinadas por RPE (média de 2 repetições).

Como pode ser observado na Figura 5.23, o processo de obtenção da lignina (segundo o método Klason) não contribui com a formação de RLO. O que leva a inferir que as concentrações destes radicais, observadas na Figura 5.22, realmente são dos constituintes da poda de árvores e o aumento observado no composto da L1 (Figura 5.20) foi, predominantemente, devido à lignina do resíduo utilizado no processo de compostagem (poda de árvores) e não decorrente apenas da formação de AH (processo de humificação).

Ao observarmos a estrutura da lignina (Figura 5.24) vemos que ela realmente apresenta alto potencial para a formação dos RLO, devido à grande quantidade de estruturas fenólicas nessa molécula.

Figura 5.24: Esquema estrutural da lignina de madeira moída da Faia (*Fagus silvatica*), (Fengel e Wegener, 1984).

A lignina é um composto polifenólico e sua despolimerização é uma parte essencial para o processo de degradação. Esse processo ocorre através da ação de fungos especializados na degradação de lignina e envolve hidrólise enzimática e oxidação por hidroxil e outros possíveis radicais livres. As quinonas que são produzidas no processo de humificação são provavelmente oriundas dessa despolimerização de polifenóis, como a lignina, realizada por fungos (Czechowski et al., 2004; Rimmer, 2006).

Diante dos resultados de concentração dos RLO para o composto (material *in natura*) observa-se que esta análise apresenta limitação para o monitoramento do

processo de compostagem de material com alta concentração de lignina (como resíduos de poda de árvores, da L1) e materiais com grande variação de pH (L3). Deve-se então fazer a extração dos AH para quantificação dos RLO neste material.

5.3.1.2. Análise dos AH extraídos dos compostos

Foram determinados os parâmetros: largura de linha do sinal (ΔH), concentrações dos RLO e o fator giromagnético (fator g) dos AH das leiras L1, L2, L3, L4, L5 e L6, a fim de avaliar a potencialidade do uso dessa técnica para a determinação do grau de humificação dos AH extraídos de compostos.

Na Figura 5.25 são apresentados os espectros dos RLO dos AH da L1 em função do tempo e as larguras de linha dos AH extraídos dos compostos das 6 leiras em função do tempo de compostagem. Foram observadas variações nas intensidades dos sinais (Figura 5.25a), mas não se observam grandes variações na largura de linha (ΔH), em função do tempo.

Figura 5.25: Sinais de RLO dos AH extraídos da L1 em função do tempo de compostagem (a), largura de linha (ΔH) do sinal de RLO dos AH extraídos dos compostos da L1, L2, L3, L4, L5 e L6, em função do tempo de compostagem, sendo a média de 4 repetições (b).

Ouatmane et al. (2002) não observaram mudanças significativas nos valores das larguras de linha dos sinais RPE de AH, extraídos de diferentes compostos. Os autores consideram que esses resultados sugerem baixo grau de aromaticidade, poucas estruturas conjugadas e policondensadas e ocorrência de espécies de radicais livres similares nos AH estudados.

A Figura 5.26 apresenta as concentrações de RLO nos AH em função do tempo de compostagem. Observa-se que em todas as leiras houve aumento dos RLO, sendo o aumento menos significativo o da L1. Esse fato pode ser devido à menor formação de AH nesse composto (L1), por representar um material menos susceptível ao ataque microbiano. Enquanto que, nas demais leiras a mistura de resíduos, ricos em polissacarídeos e N, favoreceu o processo de humificação, com maior formação de AH. Este fato também foi observado nos resultados dos teores de AH extraídos durante o processo de compostagem (Figura 5.14), onde obteve-se os menores teores de AH no processo de extração para o composto da L1, em todos os tempos de compostagem.

Figura 5.26: Concentrações dos RLO em spins g⁻¹ de amostra (×10¹⁷) dos AH extraídos das leiras L1, L2, L3, L4, L5 e L6 em função do tempo de compostagem, determinadas por RPE (média de 4 repetições).

Para Rimmer (2006) o processo de humificação, pelo qual a matéria orgânica do solo torna-se estabilizada, envolve a decomposição química de resíduos de plantas e animais em produtos como açúcares, compostos amínicos e quinonas, os quais podem ser recombinados por reações de polimerização (teoria macromolecular) (Schulten e Schnitzer, 1997) ou pode haver uma auto-organização dessas moléculas para formar as substâncias húmicas (teoria supramolecular) (Piccolo e Conte, 2000).

Segundo Tuomela et al. (2000) tem sido proposto que o húmus é principalmente formado por lignina, polissacarídeos e compostos nitrogenados, porém os mecanismos de transformação da matéria orgânica em húmus são muito complexos e envolvem um grande número de reações de degradação e condensação. Estes autores consideram que, inicialmente, a lignina é degradada por enzimas extracelulares a unidades menores as quais são susceptíveis à absorção pelas células microbianas onde são parcialmente convertidas a fenóis e quinonas. Estas substâncias são liberadas junto com enzimas oxidativas ao meio ambiente onde são polimerizadas por mecanismos de formação de radicais livres.

Amalfitano et al. (1992) consideram que as alterações da molécula de lignina contribuem para a formação de AH provavelmente por meio da remoção de carboidratos, modificação de cadeias laterais, desmetilação (particularmente da guaiacila que é uma das principais unidades aromáticas presente na lignina), oxidação de estruturas derivadas do catecol para o-quinona e finalmente adição nucleofílica de compostos aminos nesta última estrutura.

Porém neste trabalho ficou evidente que para haver a formação dos AH os resíduos devem apresentar boas condições para a efetiva ação dos microrganismos. Sendo um dos pré-requisitos a relação C/N inicial próxima de 35. Pôde-se observar

que na L1 houve alguma transformação da lignina (pelos resultados de RPE do composto, mostrado na Figura 5.22), porém não houve humificação do material (conforme será mostrado posteriormente pelas demais técnicas espectroscópicas).

Jerzykiewicz et al. (1999), estudando a compostagem de resíduo sólido municipal, não observaram alterações significativas na concentração de RLO no material *in natura*. Porém observaram aumento da concentração desses radicais livres nas frações AH e AF de alguns compostos. Eles observaram que para os AH a concentração máxima de RLO foi em, aproximadamente, 40 dias de compostagem seguida de queda nos valores desses radicais. Neste trabalho foram observadas concentrações máximas de RLO em 180 dias, nos AH das leiras L2, L3 e L4, seguida de queda das concentrações desses radicais (Figura 5. 26).

Na Figura 5.27 são apresentadas as medidas do fator g dos RLO dos AH. Esse fator g fornece informações sobre o ambiente químico onde se encontra o elétron desemparelhado. Quanto menor o seu valor mais próximo do valor teórico obtido para o elétron livre (que é 2,0023). Em substâncias húmicas quanto menor o seu valor é um indicativo de maior deslocalização do elétron desemparelhado, sugerindo maior grau de condensação de estruturas aromáticas.

Os valores obtidos para o fator g (em torno de 2,0036 a 2,0040) estão dentro da faixa dos normalmente encontrados na literatura para AH e AF, que variam de 2,0030 a 2,0043 (Senesi, 1990a; Jezierski et al., 1998). Contudo, não se obteve um comportamento que permitisse concluir a respeito do avanço da compostagem em função do tempo. Para cada leira houve um comportamento distinto para esse parâmetro.

Jerzykiewicz et al. (1999), estudando o composto de resíduo sólido municipal, não observaram alterações significativas no valor do fator g no material *in natura*,

mas observaram uma variação no fator g de 2,0031 para 2,0037, nos AH extraídos desses compostos, durante 150 dias de compostagem. Eles consideram que este parâmetro pode ser usado no estudo de maturação de compostos. Porém esse fato não foi observado nesse trabalho (Figura 5.27). Observa-se que a variação do fator g não apresenta um comportamento conclusivo em relação à estabilização desses compostos.

Figura 5.27: Valores do fator g dos RLO dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c), L4 (d), L5 (e) e L6 (f), em função do tempo de compostagem (média de 4 repetições).

Na Figura 5.28 têm-se as correlações entre a concentração de RLO dos AH com a relação C/N dos compostos. Observa-se que houve correlação linear entre estes dois parâmetros para a L1 e para as demais leiras houve correlação com característica de decaimento exponencial.

Figura 5.28: Correlações entre as concentrações de RLO dos AH extraídos dos compostos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) e a razão atômica C/N dos compostos.

Houve boa correlação entre esses parâmetros (R e $R^2 > 0,90$), porém a espectroscopia de RPE parece ser mais sensível para detectar as transformações ocorridas nos compostos, pois pela relação C/N observa-se que, para os compostos das leiras L2, L3 e L4, a partir do 3º ponto (correspondendo aos 60 dias de compostagem) o material já estava estabilizado, enquanto que por RPE observa-se que após este tempo ainda há transformações nos AH, com consistente aumento nos níveis de RLO.

Desta forma, pode-se inferir que mesmo após a estabilização da relação C/N tem-se transformações químicas que são detectadas pela RPE, sugerindo mais uma vez a ineficiência da relação C/N para monitorar a estabilização de todo o processo da compostagem.

5.3.2. Fluorescência de luz UV – Vis

5.3.2.1. Determinação da melhor concentração dos AH para as análises de fluorescência

Inicialmente foram obtidos espectros no modo de varredura de emissão com excitação em 240 nm. Foram preparadas soluções com diferentes concentrações (0,1; 0,5; 1; 5; 15; 20; 25; 30; 50; 100; 200 mg L⁻¹) de AH extraídos da L1, L2, L3 e L4, em solução de NaHCO₃ 0,05 mol L⁻¹ (Figura 5.29). Esta análise foi realizada com o objetivo de identificar a melhor concentração de AH para se trabalhar. Observa-se na Figura 5.30 que a maior intensidade de fluorescência foi com a concentração de 20 mg L⁻¹ e a partir desse valor tem-se diminuição das intensidades de fluorescência, sendo que em 200 mg L⁻¹ o sinal praticamente se extingue. Esse comportamento é explicado pelo efeito do filtro interno que é causado pela absorção da luz emitida pelas moléculas dos AH (Mobed et al., 1996; Rosa et al., 2005). Baseado nesta observação, o trabalho foi conduzido com a concentração de 20 mg L⁻¹ para minimizar esse efeito e reduzir as interações entre as moléculas.

Portanto, todas as análises de fluorescência no modo de emissão, excitação e varredura sincronizada foram realizadas com soluções de AH na concentração de 20 mg L⁻¹, preparadas em solução de NaHCO₃ 0,05 mol L⁻¹.

Figura 5.29: Espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc.} = 240$ nm dos AH extraídos das amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em algumas das concentrações em estudo.

Figura 5.30: Variações das intensidades de fluorescência dos espectros de emissão com $\lambda_{exc.} = 240$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função das concentrações dos AH.

5.3.2.2. Análise de fluorescência nos modos de emissão, excitação e varredura sincronizada

Os espectros de fluorescência das substâncias húmicas são constituídos pela soma dos espectros dos diferentes tipos de fluoróforos, consequência da complexidade molecular e heterogeneidade dessas substâncias. Desta forma, os espectros apresentam bandas que são avaliadas de acordo com suas intensidades e posição no espectro, ou seja, deslocamento para maiores ou menos comprimentos de onda (Miikki et al., 1997).

Os AH extraídos dos compostos das leiras L1, L2, L3 e L4, nos diferentes tempos de compostagem, foram avaliados segundo três metodologias definidas na literatura para avaliação do grau de humificação de AH de solos (Zsolnay et al., 1999; Kalbitz et al., 1999; Milori et al., 2002). Os espectros são apresentados nas Figuras 5.31, 5.32 e 5.33.

Na Figura 5.31 são apresentados os espectros de emissão com excitação em 240 nm. Nesse comprimento de onda de excitação são favorecidos os fluoróforos de estruturas mais simples. Observa-se que houve redução na intensidade de fluorescência em função do tempo de compostagem. Na L1 houve redução das bandas centradas em 349 e 395 nm e alteração do perfil do espectro. Essa redução foi mais acentuada a partir de 150 dias de compostagem. Nas leiras L2 e L4 a redução das bandas foi gradual em função do tempo e também foram observadas mudanças no perfil dos espectros, com aumento da intensidade de fluorescência em maiores comprimentos de onda (λ na região de 500 a 550 nm). Houve mudança da intensidade máxima de fluorescência, que inicialmente estava na região de 409 e 408 nm, para maior comprimento de onda 426 e 418 nm nas leiras L2 e L4, respectivamente, em função do tempo. Já na L3, após 60 dias de compostagem,

além de redução da intensidade de fluorescência, houve mudança no formato da banda, passando a ter maior intensidade em maior comprimento de onda (intensidade máxima da banda passou de 348 nm para 428 nm). A diminuição na intensidade das bandas (em menores λ) sugere que houve redução (consumo) das estruturas mais simples nos materiais compostados. Já o aumento da intensidade em maior comprimento de onda sugere a formação ou concentração de estruturas mais complexas. Miikki et al. (1997) consideram que as mudanças nas características dos espectros de fluorescência de AH extraídos durante o processo de compostagem podem ser explicadas pelo aumento da policondensação e conjugação de estruturas insaturadas e a maior uniformidade e homogeneidade dos fluoróforos durante a humificação do material.

Figura 5.31: Espectros de emissão com $\lambda_{exc.} = 240$ nm dos AH extraídos de amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos diferentes tempos de compostagem.

A Figura 5.32 apresenta os espectros de varredura sincronizada, com $\Delta\lambda = 55$ nm. Também foi observado para os AH das leiras L2, L3 e L4 redução na intensidade das bandas na região de menores comprimentos de onda (λ próximo de 285 nm) e aumento na região de maiores comprimentos de onda (λ próximo de 375 nm) em função do tempo. Esse fato também sugere que há consumo de estruturas mais simples, seguida de formação de estruturas mais complexas e humificadas (mais conjugadas e/ou substituídas). Para os AH da L1 foi observado apenas uma discreta redução de intensidade de fluorescência.

Figura 5.32: Espectros de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 55$ nm dos AH extraídos de amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos diferentes tempos de compostagem.

Os espectros de emissão com excitação em 465 nm são apresentados na Figura 5.33. Neste comprimento de onda são excitados os fluoróforos de estruturas mais complexas, cuja concentração aumenta durante o processo de humificação e,

portanto, a área sob a curva de emissão é proporcional ao grau de humificação (Milori et al., 2002).

Com exceção dos espectros da L1, observou-se um aumento na intensidade de emissão de fluorescência dos demais espectros em função do tempo de compostagem, mostrando assim a formação de estruturas mais humificadas durante o processo (Figura 5.33).

Figura 5.33: Espectros de emissão com $\lambda_{exc.} = 465$ nm dos AH extraídos de amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos diferentes tempos de compostagem.

Além dos espectros obtidos segundo metodologias bem definidas para estudo de AH de solos (descrita anteriormente), também foram avaliados outros comprimentos de onda, no modo de emissão, com excitação em 280 nm; excitação, com emissão em 350 e 510 nm e varredura sincronizada, com $\Delta\lambda = 20$ nm. Este estudo foi feito com o objetivo de melhorar o entendimento das transformações da matéria orgânica durante a formação dos AH no processo de compostagem (Figuras

5.34 a 5.37). Estes espectros foram avaliados a partir das intensidades máximas das bandas de fluorescência.

Os espectros no modo de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 20$ nm são utilizados para monitoramento de substâncias mais simples, como os ácidos fúlvicos aquáticos (Peuravuori et al., 2002), enquanto que o $\Delta\lambda = 55$ nm já é utilizado no estudo de substâncias mais complexas como AH de solos (Milorí et al., 2002). Como no processo de compostagem tem-se inicialmente estruturas mais simples, foi avaliado esse parâmetro para verificar se ele seria mais sensível para monitorar o processo.

Observou-se que os espectros com $\Delta\lambda = 20$ nm apresentaram bandas mais definidas que os de $\Delta\lambda = 55$ nm. Também foram observadas reduções nas intensidades das bandas nas regiões de menores comprimentos de onda (λ próximo de 325 nm) e aumento na região de maiores comprimentos de onda (λ próximo de 390 nm) dos AH das leiras L2, L3 e L4, em função do tempo de compostagem (Figura 5.34). Para os AH da L1 foi observado apenas redução na intensidade de fluorescência (Figura 5.34a).

Nesses espectros observa-se que as maiores intensidades de fluorescência estão centradas na região de 325 e 390 nm. Esta é uma característica de material pouco humificado, quando comparado com AH de solos. Olk et al. (2000) obtiveram as maiores intensidades nos espectros de AH, extraídos de solo, com varredura sincronizada ($\Delta\lambda = 18$ nm) na região de 468 a 484 nm e também picos de menor intensidade ou ombros na região próxima de 500 nm. Soler Rovira et al. (2003) observaram um pico em 477 e um ombro em 501 no espectro de varredura sincronizada ($\Delta\lambda = 18$ nm) de AH extraídos de solo. Enquanto que os espectros de

AH extraídos de compostos apresentaram um intenso pico em 390 nm e picos de menor intensidade relativa em 441, 466 e 492 nm.

Figura 5.34: Espectros de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 20$ nm dos AH extraídos de amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos diferentes tempos de compostagem.

Para Soler Rovira et al. (2002) as bandas em menores comprimentos de onda observadas nos espectros dos AH extraídos de solos com aplicação de lodo ou cevada sugerem a presença de moléculas pequenas e heterogêneas de baixo grau de humificação, aromaticidade e policondensação quando comparadas com as amostras de AH de solo que apresentam menor heterogeneidade química, macromoléculas mais policondensadas e humificadas.

A Figura 5.35 apresenta os espectros de emissão de fluorescência com excitação em 280 nm. Estes espectros, assim como os espectros de emissão com excitação em 240 nm favorecem a excitação dos fluoróforos de estruturas mais simples. Porém, foi feito este teste (com um deslocamento de 40 nm) para verificar

se haveria maiores variações dos espectros em função do tempo de compostagem. Foram observadas variações semelhantes de intensidade e deslocamento das bandas conforme observado na Figura 5.31 (espectros de emissão com excitação em 240 nm).

Figura 5.35: Espectros de emissão com $\lambda_{exc.} = 280$ nm dos AH extraídos de amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos diferentes tempos de compostagem.

Como nos espectros de emissão, com excitação em 240 e em 280 nm, foi observada uma banda de maior intensidade na região de 350 nm e aumento da intensidade de fluorescência na região de 510 nm, foram obtidos espectros de excitação, com emissão em 350 nm e em 510 nm para melhor monitoramento dessas regiões.

Os espectros de excitação com emissão em 350 nm e em 510 nm apresentaram informações complementares, pois enquanto os espectros de excitação com emissão em 350 nm avaliam os fluoróforos mais simples, os com

emissão em 510 nm avaliam os fluoróforos mais complexos (condensados e/ou conjugados).

Observa-se na Figura 5.36 redução das intensidades de fluorescência, nos AH das leiras L2, L3 e L4, em função do tempo, enquanto que na Figura 5.37 houve incremento na intensidade de fluorescência nos AH dessas mesmas leiras. Isso mais uma vez realça a degradação de estruturas simples e formação de estruturas mais complexas (humificadas) em função do tempo de compostagem nessas leiras.

Figura 5.36: Espectros de excitação com $\lambda_{em.} = 350$ nm dos AH extraídos das amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos diferentes tempos de compostagem.

Figura 5.37: Espectros de excitação com $\lambda_{em.} = 510$ nm dos AH extraídos das amostras das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos diferentes tempos de compostagem.

Na Figura 5.37 não foram observadas variações nas intensidades dos espectros dos AH da L1, sugerindo assim que não houve humificação desse material, conforme foi observado no espectro de emissão com excitação em 465 nm (Figura 5.33).

Todos os espectros de fluorescência da L1 nos modos de varredura de emissão, excitação e varredura sincronizada apresentaram picos (ou bandas) nos mesmos comprimentos de onda. Este fato sugere que os fluoróforos das estruturas dos AH da L1 não mudaram durante todo o processo de compostagem.

5.3.2.3. Índices de maturação e estabilização dos compostos propostos através da técnica de fluorescência

A partir dos espectros de fluorescência, mostrados no item anterior, foram calculados alguns índices com o objetivo de determinar a maturação dos compostos.

Para os cálculos dos índices segundo as metodologias propostas por Zsolnay et al. (1999) e Kalbitz et al. (1999) foram usados comprimentos de ondas diferentes daqueles usados por estes pesquisadores, pois os espectros apresentaram perfis diferentes. Para o índice de Zsolnay et al. (1999) foram usadas as áreas: A_4 = região entre 510 e 580 nm e a área A_1 = região entre 300 e 370 nm. A divisão das áreas A_4/A_1 foi usada como grau de humificação. O índice proposto por Kalbitz et al. (1999) foi calculado a partir da relação das intensidades das bandas com máximos em 375 e 285 nm (I_{375}/I_{285}). Enquanto que, o índice de Milori et al. (2002) foi calculado a partir da área total sob o espectro na região de 480 a 600 nm (A_{465}).

As Figuras 5.38, 5.39 e 5.40 apresentam as variações dos índices em função do tempo segundo as metodologias de Zsolnay et al. (1999), Kalbitz et al. (1999) e Milori et al. (2002), respectivamente. Observa-se que os 3 índices calculados a partir dos espectros dos AH da L1 não tiveram variações significativas em função do tempo de compostagem. Os índices A_4/A_1 e A_{465} apresentaram as mesmas tendências de variação em função do tempo, enquanto que o índice I_{375}/I_{285} para a L4 apresentou um comportamento semelhante ao apresentado pelos AH da L1.

Figura 5.38: Variação do índice A_4/A_1 obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 240$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.

Figura 5.39: Variação do índice I_{375}/I_{285} obtido dos espectros de fluorescência no modo de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 55$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.

Figura 5.40: Variação do índice A_{465} obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 465$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.

A equação usada no ajuste dos pontos para cada índice é a seguinte:

$$Y = y_0 + A (1 - \exp(-x/t_1))$$

onde, $(y_0 + A)$ corresponde ao valor de estabilização do índice e t_1 é denominado tempo característico e corresponde ao tempo necessário para que, aproximadamente, um terço do processo de estabilização do índice seja atingido.

Na Tabela 5.4 têm-se os valores dos parâmetros $(y_0 + A)$ e t_1 para as leiras L2, L3 e L4 em função do tempo. A L1 não apresentou variação relevante durante todo o processo, portanto não foi aplicada equação para ajustes dos pontos de seus índices e o mesmo ocorreu com o índice I_{375}/I_{285} da L4. Este índice também não forneceu dados conclusivos para as leiras L2 e L3.

Tabela 5.4: Valores do tempo característico (t_1) e do parâmetro ($y_0 + A$) obtidos da equação de ajuste dos pontos referentes aos índices, sugeridos na literatura, em função do tempo de compostagem

Índice	t_1 (dias)				$(y_0 + A)$			
	L1	L2	L3	L4	L1	L2	L3	L4
A_4/A_1	-	52 ± 9	57 ± 11	61 ± 11	-	1,1	0,9	0,8
I_{375}/I_{285}	-	50 ± 8	72 ± 20	-	-	1,3	1,3	-
A_{465}	-	31 ± 9	36 ± 8	45 ± 10	-	3600	3350	3800

Pode-se inferir que a partir da definição do t_1 será necessário um período superior a 90 dias de compostagem para que ocorra a estabilização completa dos índices. E ainda pela comparação entre os valores de t_1 tem-se um indicativo que as misturas de resíduos seguem a seguinte velocidade de estabilização: $L2 > L3 > L4$.

Além desses 3 índices de fluorescência calculados a partir das metodologias encontradas na literatura para AH de solos, nesse trabalho foram propostos novos índices que são apresentados nas Figuras 5.41 a 5.46. Para obtenção desses índices foram relacionadas as intensidades máximas das bandas nas regiões de menores e maiores comprimentos de ondas dos espectros de emissão, excitação e varredura sincronizada.

Figura 5.41: Variação do índice $I_{400/350}$ obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 240$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.

Figura 5.42: Variação do índice $I_{500/350}$ obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 280$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.

Figura 5.43: Variação do índice $I_{275/225}$ obtido dos espectros de excitação com $\lambda_{em} = 350$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.

Figura 5.44: Variação do índice $I_{390/325}$ obtido dos espectros de fluorescência no modo de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 20$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.

Figura 5.45: Variação do índice $I_{440/325}$ obtido dos espectros de fluorescência no modo de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 20$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.

Figura 5.46: Variações do índice $I_{500/325}$ obtido dos espectros de fluorescência no modo de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 20$ nm dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem.

Os parâmetros tempo característico (t_1) e ($y_0 + A$) dos índices, propostos neste trabalho, para as leiras L2, L3 e L4 são apresentados na Tabela 5.5. Todos os índices calculados para os AH da L1 não apresentaram variações relevantes.

Tabela 5.5: Valores do tempo característico (t_1) e do parâmetro ($y_0 + A$) obtidos da equação de ajuste dos pontos referentes aos índices, propostos neste trabalho, em função do tempo de compostagem

Índice	t_1 (dias)				$(y_0 + A)$			
	L1	L2	L3	L4	L1	L2	L3	L4
$I_{400/350}$	-	93 ± 6	55 ± 8	65 ± 5	-	2,3	1,8	1,7
$I_{500/350}$	-	69 ± 8	68 ± 8	89 ± 11	-	0,9	0,7	0,6
$I_{275/225}$	-	67 ± 45	41 ± 10	51 ± 33	-	0,8	0,8	0,8
$I_{390/325}$	-	27 ± 6	39 ± 10	46 ± 9	-	1,4	1,2	1,0
$I_{440/325}$	-	36 ± 3	48 ± 17	44 ± 11	-	1,1	0,8	0,7
$I_{500/325}$	-	42 ± 6	40 ± 15	51 ± 12	-	0,6	0,4	0,4

Os índices $I_{400/350}$ e $I_{500/350}$ não se mostraram eficientes, pois apresentam estabilização em um tempo muito alto, enquanto que o índice $I_{275/225}$ também não deve ser recomendado, pois os pontos apresentaram grande dispersão em relação às curvas (Figura 5.43) e conseqüentemente altos desvios nos valores dos t_1 (Tabela 5.5).

O índice $I_{390/325}$ apresentou a mesma tendência dos valores de t_1 observadas nos índices A_4/A_1 e A_{465} , e eles sugerem a seguinte ordem de velocidade de estabilização das leiras: $L2 > L3 > L4$ e mostraram-se coerentes para monitorar o processo de compostagem.

Pela análise do parâmetro ($y_0 + A$), pode-se observar que a L2 apresentou uma tendência de ter os maiores valores, sugerindo assim que este foi o composto mais humificado, seguido da L3 e L4. Na L1 praticamente não houve variação dos índices, indicando que o processo de degradação ocorreu de forma muito lenta.

5.3.2.4. Correlações dos índices de fluorescência dos AH com a relação C/N dos compostos

Nas Figuras 5.47 a 5.49 são apresentadas as correlações entre os índices de fluorescência dos AH, que podem ser recomendados para monitoramento do processo, com a relação C/N dos compostos.

Com exceção da L1, que teve apenas queda da relação C/N e os índices de fluorescência ficaram praticamente estáveis, todas as demais correlações mostram que há rápida estabilização da relação C/N, porém os índices de fluorescência continuam aumentando. Isto é um indicativo que a relação C/N não é um bom parâmetro para identificar a maturação de compostos, pois ela só monitora o início do processo da compostagem, até aproximadamente 60 dias. Já os índices continuam aumentando sugerindo, assim, continuação das transformações da matéria orgânica.

Figura 5.47: Correlação entre o índice A_4/A_1 obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 240$ nm dos AH e a relação C/N dos compostos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d).

Figura 5.48: Correlação entre o índice A_{465} obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 465$ nm dos AH e a relação C/N dos compostos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d).

Figura 5.49: Correlação entre o índice I_{390}/I_{325} obtido dos espectros de fluorescência no modo de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 20$ nm dos AH e a relação C/N dos compostos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d).

Chefetz et al. (1996), concluíram que embora a relação C/N seja um parâmetro muito utilizado para definir o nível de decomposição da matéria orgânica, este parâmetro não se mostrou confiável no monitoramento da compostagem de resíduo sólido municipal.

Este mesmo comportamento foi observado neste trabalho, com o uso de diferentes resíduos orgânicos, mostrando assim que a relação C/N realmente não pode ser considerada eficiente para monitorar a maturação e estabilização do processo de compostagem.

5.3.2.5. Correlações dos índices de fluorescência dos AH com as concentrações de RLO dos AH determinadas por RPE

As Figuras 5.50 a 5.52 apresentam as correlações entre os índices de fluorescência, recomendados para monitoramento do processo, com as concentrações de RLO dos AH. Com exceção dos resultados da L1, observa-se correlação linear entre os resultados de fluorescência e RPE. Houve boa correlação com R variando de 0,78 a 0,95.

Figura 5.50: Correlação entre o índice A_4/A_1 obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 240$ nm dos AH e a concentração de RLO dos AH, determinados por RPE, das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d).

Figura 5.51: Correlação entre o índice A_{465} obtido dos espectros de emissão de fluorescência com $\lambda_{exc} = 465$ nm dos AH e a concentração de RLO dos AH, determinados por RPE, das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d).

Figura 5.52: Correlação entre o índice I_{390}/I_{325} obtido dos espectros de fluorescência no modo de varredura sincronizada com $\Delta\lambda = 20$ nm dos AH e a concentração de RLO dos AH, determinados por RPE, das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d).

Estes resultados são bons indicativos da evolução do processo de compostagem, pois o aumento destes dois parâmetros sugerem humificação dos compostos das leiras L2, L3 e L4

5.3.3. Absorção UV – Vis

Segundo Zbytniewski e Buszewski (2005) há regiões importantes no espectro de UV – Vis, das substâncias húmicas, onde a absorção deve ser avaliada: próximo de 280 nm, de 400 a 500 nm e acima de 600 nm. Segundo estes autores a análise dos espectros de absorção dos extratos alcalinos de composto é, geralmente, baseada na hipótese de que a absorção na região de 260 – 280 nm pode ser devida à lignina e quinonas presentes em materiais no início da transformação. A absorção na região de 460 a 480 nm reflete o material orgânico no início da humificação e a

absorção em 600 – 670 nm é considerada como um indicativo de material humificado com alto grau de estruturas aromáticas e condensadas.

Na Figura 5.53 são apresentadas as curvas de absorção UV – Vis dos AH nos vários tempos. As análises foram feitas em soluções de 20 mg L^{-1} de AH, devido à região do espectro que foram feitas as varreduras (de 200 a 400 nm), e tendo em vista a observância à lei de Lambert-Beer.

Não foram observadas diferenças qualitativas entre os espectros de absorção em função do tempo, para cada leira (Figura 5.53). Observou-se apenas que em todas as leiras, exceto a L1, tem-se uma tendência de aumento da intensidade de absorção em função do tempo. Em todos os espectros há um ombro na região de 277 nm que pode ser atribuído ao anel aromático o-substituído (Amalfitano et al., 1992) e a moléculas de lignina e quinona (Zbytniewski e Buszewski, 2005).

Figura 5.53: Espectros de absorção UV-Vis dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem. ($[\text{AH}] = 20 \text{ mg L}^{-1}$ em NaHCO_3 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$).

Korshin et al. (1997) consideram que as moléculas da matéria orgânica que apresentam a maior parte dos cromóforos absorvendo na região do ultravioleta ($\lambda < 400$ nm) são grupos aromáticos com vários graus e tipos de substituição, incluído fenóis e vários ácidos aromáticos monosubstituídos e polisubstituídos. Estes cromóforos estão associados com a fração húmica da matéria orgânica.

A partir dessas curvas (Figura 5.53) foi calculada a razão E_{225}/E_{315} , que relaciona a intensidade de absorção em 225 nm e 315 nm (Figura 5.54). Estes comprimentos de onda estão relacionados com as transformações de estruturas mais simples (menos humificadas).

Figura 5.54: Variação do índice E_{225}/E_{315} obtido dos espectros de absorção UV-Vis dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem. ($[AH] = 20 \text{ mg L}^{-1}$ em $\text{NaHCO}_3 \text{ } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$).

Houve redução de caráter exponencial na relação E_{225}/E_{315} , apenas para os AH das leiras L2 e L3. Analisando-se o tempo característico (t_1) da equação de decaimento, tem-se uma tendência de estabilização completa deste parâmetro a

partir de 60 dias de compostagem. Os AH das leiras L1 e L4 não apresentaram variações conclusivas desse índice (Figura 5.54).

Como este índice relaciona as regiões de baixos comprimentos de ondas (< 400 nm), através dele observa-se moléculas mais simples, que absorvem nessa região e, portanto, com a diminuição do índice pode-se inferir que houve degradação (ou transformações) dessas moléculas (estruturas menos condensadas ou de baixa conjugação). Estes resultados corroboram com os dados obtidos pela fluorescência UV – Vis.

Na Figura 5.55 são apresentadas as curvas de absorção UV – Vis dos AH nos diferentes tempos de compostagem. As análises foram feitas em soluções de 200 mg L^{-1} de AH, devido à região do espectro que foram feitas as varreduras (de 400 a 700 nm). Observa-se também nesses espectros um aumento da intensidade de absorção, em função do tempo para os AH de todas as leiras, exceto a L1.

Figura 5.55: Espectros de absorção UV-Vis dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem. ($[\text{AH}] = 200 \text{ mg L}^{-1}$ em NaHCO_3 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$).

A partir dessas curvas foi calculada a razão E_4/E_6 , que relaciona a intensidade de absorção nos comprimentos de onda de 465 e 665 nm. Nos AH da L1 não foram observadas variações significativas na relação E_4/E_6 , mas para os AH das leiras L2, L3 e L4 observou-se aumento dessa relação em função do tempo (Figura 5.56). Pela análise do tempo característico (t_1), pode-se inferir que a estabilização completa desse parâmetro deverá ocorrer somente após os 100 dias de compostagem, nas leiras L2 e L4. Este parâmetro variou de 7,2 a 9,7 na L2, de 4,0 a 10,0 na L3 e de 5,4 a 7,6 na L4.

Ouatmane et al. (2002) encontram valores entre 6,3 e 7,5 para a relação E_4/E_6 de compostos produzidos a partir de diferentes resíduos orgânicos, após 6 meses de compostagem.

Figura 5.56: Variação do índice E_4/E_6 obtido dos espectros de absorção UV-Vis dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) em função do tempo de compostagem. ($[AH] = 200 \text{ mg L}^{-1}$ em $\text{NaHCO}_3 \text{ } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$).

Na literatura tem-se que esta relação, para os AH extraídos de solos, é inversamente proporcional ao grau de condensação das estruturas aromáticas. Logo, alta relação E_4/E_6 reflete baixo grau de condensação aromática e a presença de grandes proporções de estruturas alifáticas (Chen et al., 1977; Ouatmane, et al., 2002).

Nos AH extraídos de compostos têm sido observado comportamento oposto para a relação E_4/E_6 comparado com esta relação para AH extraído de solo. Alguns pesquisadores têm observado aumento desse parâmetro para os AH extraídos de compostos, em função do tempo de compostagem (Jerzykiewicz et al., 1999; Baddi et al., 2004; Fuentes et al., 2006). Isto pode ser devido, principalmente, ao processo de oxidação e ao aumento do conteúdo de estruturas aromáticas com grupos funcionais oxigenados (Chefetz et al., 1996; Chefetz et al., 1998b). A alta relação E_4/E_6 também tem sido associada com a presença de moléculas orgânicas de baixa massa molecular (Senesi et al., 2007) ou estruturas mais alifáticas com alto conteúdo de grupos funcionais, como os carboxílicos (Baddi et al., 2004; Rivero et al., 2004).

Estas mudanças na relação E_4/E_6 também podem ser causadas pelo forte processo exotérmico (Jerzykiewicz et al., 1999) como foi observado pela evolução da temperatura durante a compostagem (Figura 5.7). Foi constatado uma coerência entre o tempo de estabilização da relação E_4/E_6 , da temperatura e da relação CTC/C, que ocorreu após os 90 dias de compostagem.

Saab e Martin-Neto (2007) consideram que a relação E_4/E_6 está relacionada com anéis aromáticos condensados e não com a aromaticidade total conforme é obtida em espectro de RMN de ^{13}C com a técnica VACP/MAS. Para Colnago et al. (1997) a condensação de anéis aromáticos desloca o λ_{max} para comprimento de

onda cada vez maior até chegar na região do visível, onde são feitas as leituras de E_4/E_6 . Para ter $\lambda_{\max}$ na região de 465 nm, são necessários pelo menos 4 anéis condensados (como pode ser ilustrado na Figura 5.57) e para ter $\lambda_{\max}$ em 665 nm deve-se ter pelo menos 5 anéis condensados. Dessa forma a razão E_4/E_6 se relaciona com os anéis condensados e não com a aromaticidade total. Portanto uma estrutura do tipo da lignina (Figura 5.24), apesar de apresentar alta concentração de anéis aromáticos teria alta relação E_4/E_6 , pois estes anéis não estão condensados. Desta forma o material extraído pode ter características do tipo da lignina.

Figura 5.57: Espectros de absorção eletrônica do benzeno, naftaleno, fenantreno, antraceno e naftaceno (Silverstein et al., 1994).

5.3.4. Ressonância Magnética Nuclear (RMN de ^{13}C)

Nos espectros de RMN de ^{13}C (Figura 5.58) observam-se bandas características, em determinadas faixas de deslocamentos químicos para os AH de todas as leiras. A partir das áreas desses espectros foram calculadas as

intensidades relativas dos grupos: alifáticos não substituídos (0 – 45 ppm), metoxil e N – alifáticos (45 – 60 ppm), O – alifáticos, carboidratos e polissacarídeos (60 – 110 ppm), aromáticos (110 – 140 ppm), fenólicos (140 – 160 ppm) e carboxílicos (160 – 185 ppm) (Stevenson, 1994; Knicker, 2000).

As variações das áreas são apresentadas na Figura 5.59. Ao analisarmos as variações relativas das áreas dos espectros nos tempos zero e 210 de compostagem para cada leira observou-se que:

Figura 5.58: Espectros de RMN de ^{13}C (VACP/MAS) das amostras sólidas dos AH extraídos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c), L4 (d), L5 (e) e L6 (f), nos tempos 0, 30, 90 e 210 dias de compostagem, * indicam as bandas laterais.

Figura 5.59: Intensidades relativas (% da área total 0 a 185 ppm) das bandas nos espectros de RMN de ^{13}C (VACP/MAS) de amostras sólidas de AH das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c), L4 (d), L5 (e) e L6 (f), nos tempos 0, 30, 90 e 210 dias de compostagem.

Na L1 houve redução de 10 % na região de carbono alifático não substituído, 11 % na região de O – alifáticos (carboidratos e polissacarídeos) e incremento de 12,5 % na região de carboxílicos. Este aumento dos grupos carboxílicos pode ser um dos fatores responsável pelo aumento da CTC desse composto.

Na L2 houve redução de 17 % na região de carbono alifático não substituído, 21 % na região de O – alifáticos (carboidratos e polissacarídeos) e incremento de 28 %, 14 % e 11 % nas regiões de aromático, fenólico e carboxílicos, respectivamente.

Na L3 houve redução muito significativa (60 %) na região de O – alifáticos (relativos a degradação de carboidratos e polissacarídeos) e esse fato pode ter contribuído para o aumento da região carbono alifático (16 %), aumento dos carbonos metoxil e N – alifáticos (185 %). Pois, segundo Chen (2003), alguns dos produtos de quebra dos polissacarídeos são transformados em cadeias alquílicas simples. Também houve incremento de 180 %, 133 % e 11 % nas regiões de carbonos aromáticos, fenólicos e carboxílicos, respectivamente, que pode ser consequência da concentração desses grupos em função da degradação dos polissacarídeos. Para Chen (2003) a alta decomposição dos carboidratos resulta na acumulação da lignina modificada que é rica em anéis aromáticos e fenólicos. Chefetz et al. (1998b) acreditam que o aumento das estruturas aromáticas é relativo, sendo consequência da decomposição de moléculas alifáticas. A rápida degradação dos carboidratos e polissacarídeos ocorreu durante a fase termofílica do processo.

O alto teor de carboidratos na mistura da L3 é devido ao bagaço de laranja e esse resíduo é facilmente degradado. Os espectros dos ácidos

húmicos das leiras L3 e L5, no tempo zero, apresentaram as mesmas bandas características do pectato de cálcio que estão nas regiões de 70, 80, 100, 130 e 170 ppm (Jarvis e Apperley, 1995). Isto indica que no procedimento de extração dos AH houve extração da pectina proveniente do bagaço de laranja e que as maiores modificações nas bandas dos espectros são decorrentes da degradação desse polissacarídeo.

Na L4 as maiores modificações foram nas regiões de carbono alifático (redução de 24 %), O – alifáticos (incremento de 10 %) e carboxílico (incremento de 42 %). E os espectros dos AH das leiras L5 e L6 apresentaram as mesmas características dos espectros dos AH das leiras L3 e L2, respectivamente.

Skjemstad et al., 1998 consideram que em materiais pouco decompostos, como resíduo de plantas, têm-se picos mais acentuados na região de 55 – 110 ppm devido a presença da celulose, isso foi observado nos espectros de todas as leiras (Figura 5.58). O pico mais pronunciado foi encontrado na região de 55 ppm nas leiras L1, L2, L4 e L6, em todos os tempos de compostagem. Este pico é usualmente atribuído ao carbono metoxil de lignina (Chen, 2003).

Chen (2003) descreve diferenças entre espectros de AH extraído de esterco fresco e esterco maturado, onde houve incremento de 12 % de carbono de carboxílico e 8 % de carbono de aromático, além de redução de 8 % de carbono alifático não substituído. Enquanto que, na compostagem de resíduos sólidos municipais o teor de carbono aromático dos AH aumentou em 39 % e o carbono alifático diminuiu 19%.

Observa-se que a porcentagem de aumento ou redução de determinadas bandas está diretamente relacionado com as características iniciais dos resíduos e que com 210 dias de compostagem os AH extraídos de todos os compostos apresentaram características muito similares.

Também são apresentados (Figura 5.60) os percentuais de alifaticidade e aromaticidade calculados a partir das áreas dos espectros, segundo Stevenson (1994) e González-Pérez et al. (2004):

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

$$\text{Aromaticidade (\%)} = \frac{\text{área de sinais de C aromático (110 – 160 ppm)} \times 100}{\text{área dos sinais de C (0 – 160 ppm)}}$$

Apenas para os AH da leira L1 não foram observadas variações significativas nos percentuais de aromaticidade e alifaticidade indicando assim poucas transformações físicas no material dessa leira. Já as demais leiras apresentam decréscimo das estruturas alifáticas e aumento das estruturas aromáticas nos compostos.

Figura 5.60: Percentuais de alifaticidade (Ali) e aromaticidade (Aro) calculados a partir das áreas dos espectros.

5.3.5. Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Algumas bandas características foram observadas em todos os espectros de FTIR (Figura 5.61) e estas bandas, baseado nos dados publicados por Stevenson (1994), Silverstein et al. (1994), Miikki et al. (1997), podem ser atribuídas aos seguintes grupos:

3386 – 3412 cm^{-1} (estiramento OH e NH);

2928 – 2930 cm^{-1} (estiramento assimétrico de C alifático);

1739 cm^{-1} (estiramento C=O de cetonas e dos grupos COOH);

1647 – 1652 cm^{-1} (estiramento C=C dos anéis aromáticos, estiramento C=O e deformação N–H das amidas primárias e estiramento assimétrico C–O dos íons COO^-);

1511 cm^{-1} (estiramento C–N de amidas);

1414 – 1450 cm^{-1} (estiramento assimétrico C–O, deformação O–H e deformação C–O–H dos grupos carboxílicos e estiramento simétrico dos íons COO^-);

1220 – 1230 cm^{-1} (estiramento simétrico C–O e deformação O–H dos grupos COOH);

1010 – 1124 cm^{-1} (estiramento C–O de polissacarídeos).

Os espectros dos AH extraídos dos compostos das leiras L1 e L4 não apresentaram variações significativas, porém nos espectros dos AH das leiras L2 e L3 pode-se observar algumas transformações.

Na L2 houve diminuição da intensidade do pico na região de 2930 cm^{-1} correspondente às cadeias alifáticas. Mas os espectros ainda apresentam uma grande similaridade. Esta similaridade nos espectros da L2 e nos espectros das demais leiras pode ser devido à extração de compostos estáveis, como a lignina, que pode afetar as propriedades espectroscópicas dos AH. Os AH de todas as leiras apresentam absorções em 1652, 1600 e 1511 cm^{-1} que podem ser devidas aos estiramentos de anéis aromáticos de monômeros da lignina (Amalfitano et al., 1992). Estes autores consideraram que usando o método de extração de AH sugerido pela IHSS, foi possível extrair 10 % do total do conteúdo de lignina de uma mistura de solo e palha de trigo.

Figura 5.61: Espectros de FTIR dos AH extraídos dos compostos das leiras L1 (a), L2 (b), L3 (c) e L4 (d) nos tempos 0, 30, 90, 150 e 210 dias de compostagem.

Na L3 também houve redução na intensidade do pico correspondente às cadeias alifáticas (2928 cm^{-1}) e significativa mudança nas intensidades dos picos de 1739 e 1647 cm^{-1} nos tempos t_0 e a partir do tempo t_{30} . Observa-se que no tempo zero a maior intensidade é do pico em 1739 cm^{-1} que corresponde aos grupos COOH (este fato corrobora com o baixo valor de pH neste tempo de compostagem apresentado na Figura 5.5). A partir de 30 dias de compostagem há aumento no valor de pH e passa a predominar o pico em 1647 cm^{-1} , que corresponde aos grupos COO^- . Houve intensa diminuição dos picos na região de 1130 a 950 cm^{-1} correspondendo à degradação dos

carboidratos (Figura 5.61), como também foi observado nos espectros de RMN de ^{13}C .

Os resultados de FTIR sugerem que a tendência das reações químicas no processo de compostagem é a transformação dos constituintes da matéria orgânica facilmente degradáveis como as cadeias alifáticas, polissacarídeos e proteínas. As mudanças observadas também sugerem que o processo de compostagem transforma a matéria orgânica fresca heterogênea em um produto mais homogêneo no final do processo. As formas dos espectros de FTIR dos AH tornam-se similares, nos últimos tempos de compostagem, como também foi observado nos espectros de RMN de ^{13}C .

6. CONCLUSÕES

Pelo monitoramento da temperatura observou-se nas leiras L2, L3, L4, L5 e L6 as três fases características do processo de compostagem, havendo estabilização desse parâmetro após 90 dias de compostagem. A temperatura é um indicativo da evolução do processo de compostagem em todas as leiras, exceto a L1, onde não ocorreu a fase termofílica.

Houve significativa redução da relação C/N nos primeiros 60 dias de compostagem, porém este parâmetro não se mostrou sensível para acompanhar as transformações ocorridas durante todo o processo. Este fato foi constatado através das correlações deste índice com os obtidos por fluorescência e as concentrações de RLO dos AH, por RPE, onde foi observado estabilização da C/N e aumento dos demais parâmetros. Desta forma pode-se concluir que apesar da relação C/N ser um parâmetro amplamente utilizado na literatura para monitorar a compostagem, ele não pode ser considerado efetivo para determinar a estabilização do processo. Isto ficou bem evidente, pois a relação C/N estabilizou com apenas 60 dias, enquanto que o fim da fase termofílica só foi detectado após os 90 dias.

As medidas de CTC/C mostraram que após 90 dias de compostagem os compostos das leiras L2, L3 e L4 estavam estabilizados. O tempo de estabilização desse parâmetro coincidiu com o fim da fase termofílica. A relação CTC/C alcançou valores acima de $2,2 \text{ mmol}_c \text{ g}^{-1}$, após sua estabilização. Estes valores estão acima do limite mínimo ($2,0 \text{ mmol}_c \text{ g}^{-1}$) exigido pela Instrução Normativa nº 23, do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

O monitoramento do processo de compostagem através da espectroscopia de fluorescência mostrou-se bastante promissor. Pelos tempos característicos das

curvas de decaimento para os índices de fluorescência (A_4/A_1 , A_{465} , $I_{390/325}$) foi possível observar a seguinte ordem para a velocidade de degradação dos resíduos: $L2 > L3 > L4$, enquanto que em L1 as variações foram irrelevantes.

Os AH da L2 apresentaram os maiores valores de $(y_0 + A)$, este parâmetro corresponde ao valor de estabilização do índice de fluorescência, sugerindo assim que este material foi o mais humificado. Pelo monitoramento do carbono total, pode-se observar que os compostos das leiras L2 e L6 (mistura de poda de árvores e esterco bovino, sem e com aplicação do ácido pirolenhoso, respectivamente) foram os mais mineralizados (houve a maior perda de C durante todo o processo) e apresentaram os maiores teores de cinzas, enquanto que nos compostos das leiras L3 e L5 (mistura de poda de árvores e bagaço de laranja) verificou-se a menor mineralização (menor perda de C) e os menores teores de cinzas. Este fato sugere que apesar do bagaço de laranja ser facilmente degradado pelos microrganismos ele não é totalmente mineralizado e sim, apenas transformado.

Houve aumento na concentração dos radicais livres orgânicos do tipo semiquinona (RLO) durante o processo de compostagem, em todas as leiras analisadas, porém no composto da L1 observou-se um aumento mais significativo que nas demais leiras, sugerindo que este composto seria o mais humificado. Este fato é contraditório em relação aos demais parâmetros. Um estudo mais detalhado deste composto permitiu constatar que a lignina é a principal fonte dos RLO. Desta forma a determinação destes radicais em material *in natura* que contenha alto teor de lignina, como poda de árvores, não é um bom indicador para monitorar o processo de humificação na compostagem. No entanto, estes resultados sugerem que o uso dessa técnica pode ser uma alternativa para análises “não destrutivas” do teor de lignina em resíduos e materiais orgânicos.

Pela correlação da relação C/N dos compostos com a concentração de RLO dos AH, foi constatado que este último parâmetro é mais sensível para detectar as transformações ocorridas durante o processo de compostagem. Pois, nas leiras L2, L3 e L4, foi observada a estabilização da relação C/N em 60 dias, mas o aumento dos RLO, após este tempo, mostra que algumas transformações químicas ainda estavam ocorrendo, o que é pertinente com o fato dessas leiras ainda estarem em plena fase termofílica.

Análises da relação E_4/E_6 de substâncias húmicas extraídas de solo, geralmente, apresentam um decréscimo desse parâmetro com o avanço do grau de humificação. No presente estudo houve um aumento nos valores de E_4/E_6 , conforme dados reportados na literatura. Estes sugerem reações de oxidação e aumento de estruturas aromáticas com grupos funcionais oxigenados, sendo que estes AH formados não apresentam características de estruturas muito conjugadas. Já as análises de E_2/E_3 revelaram uma tendência de degradação de estruturas mais simples assim como foi observado nos resultados de fluorescência.

Os espectros de FTIR apresentaram poucas variações em função do tempo de compostagem, mas nas leiras L2 e L3 foi possível identificar diminuição da intensidade do pico na região de 2930 cm^{-1} correspondente às cadeias alifáticas. Na L3 também foi observada uma intensa diminuição dos picos na região de 1130 a 950 cm^{-1} , correspondendo à degradação dos carboidratos, isto também foi verificado pelas análises de RMN de ^{13}C . Em todas as leiras, exceto a L1, houve aumento do teor de aromaticidade e diminuição do teor de alifaticidade dos AH.

O fato de triturar ou não o bagaço de laranja (L3 e L5) e a adição do extrato pirolenhoso (visando catalisar o processo) na L6 não influenciaram na estabilização dos compostos. Este experimento mostrou que o uso do ácido pirolenhoso (na

concentração indicada pelo fabricante) não produziu o efeito desejado no processo de compostagem.

PROPOSTAS DE TRABALHOS FUTUROS

Analisar os AH extraídos com a técnica de desacoplamento defasado (DD) em RMN de ^{13}C para avaliar não só a aromaticidade total, mas também o grau de condensação desses anéis aromáticos.

Estudar, por cromatografia de exclusão de tamanho, a formação de AH durante o processo de compostagem e inferir sobre o tamanho e as características químicas das moléculas formadas.

Aplicar os compostos, com os diferentes tempos de compostagem, no solo para avaliar a correlação dos parâmetros químicos e espectroscópicos e as respostas de desenvolvimento das plantas cultivadas, fornecendo bases científicas para a agricultura orgânica.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE CÍTRICOS (ABECitrus).

Produção de Laranja - Série Histórica. Disponível em:

<<http://www.abecitrus.com.br>>. Acesso em: 06 set. 2006.

ADANI, F.; GENEVINI, P.; TAMBONE, F.; MONTANERI, E. Compost effect on soil humic acid: a NMR study. **Chemosphere**, v. 65, p. 1414-1418, 2006.

AMALFITANO, C.; PIGNALOSA, V.; AURIEMMA, L.; RAMUNNI, A. The contribution of lignin to the composition of humic acids from a wheat-straw amended soil during 3 years of incubation in pots. **The Journal of Soil Science**, v. 43, p. 495-504, 1992.

BADDI, G. A.; HAFIDI, M.; CEGARRA, J.; ALBURQUERQUE, J. A.; GONZÁLVIZ, J.; GILARD, V.; REVEL, J. C. Characterization of fulvic acids by elemental and spectroscopic (FTIR and ^{13}C -NMR) analyses during composting of olive mill wastes plus straw. **Bioresource Technology**, v. 93, p. 285-290, 2004.

BARROW, G. M. **Introduction to molecular spectroscopy**. New York: McGraw Hill, 1962. 318 p.

BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; SAAB, S. C.; MIELNICZUK, J.; Interação da fração mineral na estimativa do grau de humificação da matéria orgânica em agregados organominerais por ressonância paramagnética eletrônica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 11-17, 2000.

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

BERNAL, M. P.; SÁNCHEZ-MONEDERO, M. A.; PAREDES, C.; ROIG, A. Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil. **Agriculture Ecosystems & Environment**, v. 69, p. 175-189, 1998a.

BERNAL, M. P.; NAVARRO, A. F.; SÁNCHEZ-MONEDERO, M. A.; ROIG, A.; CEGARRA, J. Influence of sewage sludge compost stability and maturity on carbon and nitrogen mineralization in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 30, n. 3, p. 305-311, 1998b.

BERNAL, M. P.; PAREDES, C. SÁNCHEZ-MONEDERO; CEGARRA, J. Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes. **Bioresource Technology**, v. 63, p. 91-99, 1998c.

BETTIOL, W; CAMARGO, O. A. **Impacto ambiental do uso do lodo de esgoto**. Jaguariuna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. 312 p.

BOOPATHY, R. BEARY, T., TEMPLET, P. J. Microbial decomposition of post-harvest sugarcane residue. **Bioresource Technology**, v. 79, p. 29-33, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 23, de 31 de agosto de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 08 set. 2005. Seção 1, p. 12. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 08 ago. 2006.

BROWNING, B. L. **Methods of wood chemistry**. New York: John Wiley, 1967. 882 p.

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.

CERETTA, C. A.; BAYER, C.; DICK, D. P.; MARTIN-NETO, L.; COLNAGO, L. A. Métodos espectroscópicos. In: SANTOS, G. de A.; CAMARGO, F. A. de O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. p. 293-298.

CHEFETZ, B.; HATCHER, P. G.; HADAR, Y.; CHEN, Y. Chemical and biological characterization of organic matter during composting of municipal solid waste. **Journal of Environmental Quality**, v. 25, p. 776-785, 1996.

CHEFETZ, B.; HATCHER, P. G.; HADAR, Y.; CHEN, Y. Characterization of dissolved organic matter extracted from composted municipal solid waste. **Soil Science Society of America**, v. 62, p. 326-332, 1998a.

CHEFETZ, B.; ADANI, F.; GENEVINI, P.; TAMBONE, F.; HADAR, Y.; CHEN, Y. Humic-acid transformation during composting of municipal solid waste. **Journal of Environmental Quality**, v. 27, p. 794-800, 1998b.

CHEN, Y.; SENESI, N.; SCHNITZER, M. Information provided on humic substances by E_4/E_6 ratios. **Soil Science Society of America**, v. 41, p 352-358, 1977.

CHEN, Y.; INBAR, Y.; HADAR, Y.; MALCOLM, R. L. Chemical properties and solid-state CPMAS ^{13}C -NMR of composted organic matter. **Science of the Total Environment**, v. 81-82, p. 201-208, 1989.

CHEN, Y. Nuclear magnetic resonance, infra-red and pyrolysis: application of spectroscopic methodologies to maturity determination of composts. **Compost Science & Utilization**, v. 11, n. 2, p. 152-168, 2003.

COLNAGO, L. A.; MARTIN-NETO, L.; MIYAZAWA, M.; VIEIRA, E. M.; BONAGAMBA, T. J.; PANEPUCCI, H. Estudo da razão E_4/E_6 e aromaticidade por RMN de ^{13}C em estado sólido de AH de um latossolo roxo. In: ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, 2., 1997, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Sociedade Brasileira de Substâncias Húmicas/Embrapa Instrumentação Agropecuária, 1997. p. 167.

CONTE, P.; PICCOLO, A.; LAGEN, B. VAN; BUURMAN, P. JAGER, P. A. Quantitative differences in evaluating soil humic substances by liquid-and solid-state ^{13}C -NMR spectroscopy. **Geoderma**, v. 80, p. 339-352, 1997.

CONTE, P.; PICCOLO, A.; VAN LAGEN, B.; BUURMAN, P.; HEMMINGA, M. A. Elemental quantitation of natural organic matter by CPMAS ^{13}C NMR spectroscopy. **Solid State Nuclear Magnetic Resonance**, v. 21, p. 158-170, 2002.

CZECHOWSKI, F.; GOLONKA, I.; JEZIERSKI, A. Organic matter transformation in the environment investigated by quantitative electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy: studies on lignins. **Spectrochimica Acta. Part A: Molecular And Biomolecular Spectroscopy**, v. 60, p. 1387-1394, 2004.

ECOCEM. **Composting Process**. Disponível em: <http://www.ecochem.com/t_compost_faq2.html>. Acesso em: 20 dez. 2005.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood chemistry, ultrastructure, reactions**. Berlin: Walter de Gruyter, 1984. 613 p.

FUENTES, M.; GONZÁLEZ-GAITANO, G.; GARCÍA-MINA, J. M. The usefulness of UV-visible and fluorescence spectroscopies to study the chemical nature of humic substances from soils and composts. **Organic Geochemistry**, v. 37, p. 1949-1959, 2006.

GARBIN, J. R. **Estudos espectroscópicos da fotólise de pesticidas em água na presença de substâncias húmicas**. 2004. 90 f. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais). Interunidades (EESC / IFSC / IQSC) – Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2004.

GIL, V. M. S.; GERALDES, C. F. G. C. **Ressonância magnética nuclear: fundamentos, métodos e aplicações**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1987. 1012 p.

GLASS, V. **Onde há fumaça há lucro**. Disponível em: <http://globo rural.globo.com/barra.asp?d=/edic/188/rep_tecnologiaa.htm>. Acesso em: 30 abr. 2005.

GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; MATIN-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}C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy. **Geoderma**, v. 118, p. 181-190, 2004.

GRIGATTI, M.; CIAVATTA, C.; GESSA, C. Evolution of organic matter from sewage sludge nad garden trimming during composting. **Bioresource Technology**, v.91, p. 163-169, 2004.

GUIMARÃES, E.; MANGRICH, A. S.; MACHADO, V. G.; TRAGHETTA, D. G.; LOBO, M. A. Criterious preparation and characterization of earthworm-composts in view of animal waste recycling. Part II. A synergistic utilization of EPR and ^1H NMR spectroscopies on the characterization of humic acids from vermicomposts. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, n. 6, p. 734-741, 2001.

HSU, J. H.; LO, S. L. Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformations during composting of pig manure. **Environmental Pollution**, v. 104, p. 189-196, 1999.

INBAR, Y.; CHEN, Y.; HADAR, Y. Solid-state Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance and Infrared Spectroscopy of Composted Organic Matter. **Soil Science Society of America**, v. 53, p. 1695-1701, 1989.

ITAVO, L. C. V.; SANTOS, G. T.; JOBIM, C. C.; VOLTOLINI, T. V.; FARIA, K. P.; FERREIRA, C. C. B. Composição e digestibilidade aparente da silagem de bagaço de laranja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 5, p. 1485-1490, 2000.

JARVIS, M. C.; APPERLEY, D. C. Chain conformation in concentrated pectic gels: evidence from ^{13}C NMR. **Carbohydrate Research**, v. 275, p. 131-145, 1995.

JEONG, Y. K.; KIM, J. S. A new method for conservation of nitrogen in aerobic composting processes. **Bioresource Technology**, v. 79, p. 129-133, 2001.

JERZYKIEWICZ, M.; DROZD, J.; JEZIERSKI, A. Organic radicals and paramagnetic metal complexes in municipal solid waste composts. An EPR and chemical study. **Chemosphere**, v. 39, n. 2, p. 253-268, 1999.

JEZIERSKI, A.; DROZD, J.; JERZYKIEWICZ, M.; CHEN, Y.; KAYE, K. J. EPR in the environmental control: copper complexes and free radicals in soil and municipal solid waste compost. **Applied Magnetic Resonance**, v. 14, p. 275-282, 1998.

JOURAIPHY, A.; AMIR, S.; GHAROUS, M. E.; REVEL, J. C.; HAFIDI, M. Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformation during composting of sewage sludge and green plant waste. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 56, p. 101-108, 2005.

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

KIEHL, E. J. **Manual de Compostagem**: maturação e qualidade do composto. Piracicaba: [s. n.], 1998. 172 p.

KNICKER, H. Biogenic nitrogen in soils as revealed by solid-state carbon-13 and nitrogen-15 nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Environmental Quality**, v. 29, n. 3, p. 715-723, 2000.

KORSHIN, G. V.; CHI-WANG, L.; BENJAMIN, M. M. Monitoring the properties of natural organic matter through UV spectroscopy: a consistent theory. **Water Research**, v. 31, n. 7, p. 1787-1795, 1997.

LAX, A.; ROIG, A.; COSTA, F. A method for determining the cation-exchange capacity of organic materials. **Plant and Soil**, v. 94, p. 349-355, 1986.

LIANG, C.; DAS, K. C.; McCLENDON, R. W. The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a biosolids composting blend. **Bioresource Technology**, v. 86, p. 131-137, 2003.

LÓPEZ, M. J.; ELORRIETA, M. A.; VARGAS-GARCIA, M. C.; SUAREZ-ESTRELLA, F.; MORENO, J. The effect of aeration on the biotransformation of lignocellulosic wastes by white-rot fungi. **Bioresource Technology**, v. 81, p. 123-129, 2002.

LUMB, M. D. **Luminescence spectroscopy**. London: Academic Press, 1978. 375 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1989. 201 p.

MARTIN-NETO, L.; NASCIMENTO, O. R.; TALAMONI, J.; POPPI, N. R. EPR of micronutrients: humic substances complexes extracted from a brazilian soil. **Soil Science**, v. 151, n. 5, p. 369-376, 1991.

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

Mc PHIE, P. Enzyme purification and related techniques: dialysis. In: JACOBY, W. B. (Ed.). **Methods in enzymology**. New York: Academic Press, 1971. p. 23-32.

MIIKKI, V.; SENESI, N.; HÄNNINEN, K. Characterization of humic material formed by composting of domestic and industrial biowastes. Part 2 Spectroscopic evaluation of humic acid structures. **Chemosphere**, v. 34, n. 8, p. 1639-1651, 1997.

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.; DIEKOW, J.; GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; BAYER, C.; SALTON, J. Organic matter study of whole soil samples using laser-induced fluorescence spectroscopy. **Soil Science Society Of America Journal**, v. 70, p. 57-63, 2006.

MOBED, J. J.; HEMMINGSEN, S.L.; AUTRY, J. L.; MEGOWN, L. B., Fluorescence characterization of IHSS humic substances: total luminescence spectra with absorption correction. **Environmental Science & Technology**, v. 30, p. 3061-3065, 1996.

MONDINI, C.; DELL'ABATE, M. T.; LEITA, L.; BENEDETTI, A. An integrated chemical, thermal, and microbiological approach to compost stability evaluation. **Journal of Environmental Quality**, v. 32, p. 2379-2386, 2003.

MORELLI, J. L. Compostagem de resíduos produzidos pelas usinas de cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO SOBRE COMPOSTAGEM – SICOM, 1., 2004, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, 2004. 1 CD-ROM.

NAMKOONG, W.; HWANG, E. Y.; CHEONG, J. G.; CHOI, J. Y. A comparative evaluation of maturity parameters for food waste composting. **Compost Science Land Utilization**, v. 7, n. 2, p. 55-62, 1999.

NOVOTNY, E. H. **Estudos Espectroscópicos e cromatográficos de substâncias húmicas de solos sob diferentes sistemas de preparo**. 2002. 216 f. Tese (Doutorado em Físico-Química /IQSC) – Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2002.

NOVOTNY, E. H.; MARTIN-NETO, L. Effects of humidity and metal ions on the free radicals analysis of peat humus. **Geoderma**, v. 106, p. 305-307, 2002.

NOVOTNY, E. H.; KNICKER, H.; COLNAGO, L. A.; MARTIN-NETO, L. Effect of residual vanadyl on the spectroscopic analysis of humic acids. **Organic Geochemistry**, v. 37, p. 1562-1572, 2006.

OLIVEIRA, P.V.; KRUG, F.J.; NÓBREGA, J.A. **Espectrometria de Absorção Atômica**. Piracicaba: [s.n.], 2000. 41 p. Apostila – Curso em Análise Química.

OLK, D. C.; BRUNETTI, G.; SENESI, N. Decrease in Humication of Organic Matter with Intensified Lowland Rice Cropping: A Wet Chemical and Spectroscopic Investigation. **Soil Science Society of America**, v. 64, p. 1337-1347, 2000.

OUATMANE, A.; D'ORAZIO, V.; HAFIDI, M.; SENESI, N. Chemical and physicochemical characterization of humic acid-like materials from composts. **Compost Science Land Utilization**, v. 10, n. 1, p. 39-46, 2002.

PASCHOAL, A. D. **Produção orgânica de alimentos: agricultura sustentável para os séculos XX e XXI**. Piracicaba: [s.n.], 1994. 191 p.

PEERSEN, O. B.; WU, X. L.; KUSTANOVICH, I.; SMITH, S. O. Variable-amplitude cross-polarization MAS NMR. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 104, p. 334-339, 1993.

PEURAVUORI, J.; KOIVIKKO, R.; PIHLAIA, K. Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy. **Water Research**, v. 36, p. 4552-4562, 2002.

PICCOLO, A.; CONTE, P. Molecular size of humic substances: supramolecular associations versus macromolecular polymers. **Advances in Environmental Research**, v. 3, n. 4, p. 508-521, 2000.

PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances. **Soil Science**, v. 166, n. 11, p. 810-832, 2001.

PLAZA, C.; SENESI, N.; POLO, A.; BRUNETTI, G. Acid-base properties of humic and fulvic acids formed during composting. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 18, p. 7141-7146, 2005.

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.

POOLE, C.; FARACH, H. T. **Theory of magnetic resonance**. New York: Wiley-Interscience, 1972. 452 p.

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

PROVENZANO, M. R.; OLIVEIRA, S. C.; SILVA, M. R. S.; SENESI, N. Assessment of maturity degree of composts from domestic solid wastes by fluorescence and fourier transform infrared spectroscopies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5874-5879, 2001.

PULLICINO, D. S. **Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformations during composting of municipal solid waste**. Malta, 2002. 11p Degree of master of science, Department of Chemistry, University of Malta.

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

RIMMER, D. L. Free radicals, antioxidants, and soil organic matter recalcitrance. **European Journal of Soil Science**, v. 57, p. 91-94, 2006.

RIVERO, C.; CHIRENJE, T.; MA, L. Q.; MARTINEZ, G. Influence of compost on soil organic matter quality under tropical conditions. **Geoderma**, v. 123, p. 355-361, 2004.

RODELLA, A. A.; ALCARDE, J. C. Avaliação de materiais orgânicos empregados como fertilizantes. **Scientia Agricola**, v. 51, n. 3, p. 556-562, 1994.

RODRIGUES, M. S. Resíduos orgânicos como matéria-prima para compostagem. In: SIMPÓSIO SOBRE COMPOSTAGEM – SICOM, 1., 2004, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, 2004. CD-ROM.

ROIG, A.; LAX, A.; CEGARRA, J.; COSTA, F.; HERNANDEZ, M. T. Cation exchange capacity as a parameter for measuring the humification degree of manures. **Soil Science**, v. 146, n. 5, p. 311-316, 1988.

ROSA, A. H.; SIMÕES, M. L.; OLIVEIRA, L. C.; ROCHA, J. C.; MARTIN-NETO, L.; MILORI, D. M. B. P. Multimethod study of the degree of humification of humic substances extracted from different tropical soil profiles in Brazil's Amazonian region. **Geoderma**, v. 127, p. 1-10, 2005.

SAAB, S. C.; MARTIN-NETO, L. Anéis aromáticos condensados e relação E_4/E_6 : estudo de ácidos húmicos de gleissolos por RMN de ^{13}C no estado sólido utilizando a técnica CP/MAS desacoplamento defasado. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 260-263, 2007.

SÁNCHEZ-MONEDERO, M. A.; CEGARRA, J.; GARCÍA, D.; ROIG, A. Chemical and structural evolution of humic acids during organic waste composting. **Biodegradation**, v. 13, p. 361-371, 2002.

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, n. 2. p. 115-130, 1997.

SENESI, N. Composted materials as organic fertilizers. **Science of the Total Environment**, v. 81-82, p. 521-542, 1989.

SENESI, N. **Application of electron spin resonance (ESR) spectroscopy in soil chemistry**. New York: Springer-Verlag, 1990a. p. 77-127. (Advances in Soil Science, v. 14).

SENESI, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interaction with metal ions and organic chemicals, Part II. The fluorescence spectroscopy approach. **Analytica Chimica Acta**, v. 232, p. 77-106, 1990b.

SENESI, N.; SCHNITZER, M. Effects of pH, reaction time, chemical reduction and irradiation on ESR spectra of fulvic acid. **Soil Science**, v. 123, n. 4, p. 224-234, 1977.

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

SENESI, N.; PLAZA, C.; BRUNETTI, G.; POLO, A. A comparative survey of recent results on humic-like fractions in organic amendments and effects on native soil humic substances. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 39, p. 1244-1262, 2007.

SILVA, F.V.; NOGUEIRA, A.R.A.; SOUZA, G.B.; ZAGATTO, E.A.G. A polyvalent flow injection system for multielemental, spectrophotometric analysis of plant material. **Analytica Chimica Acta**, v. 370, p. 39-46, 1998.

SILVA, W. T. L. da.; NOVAES, A. P. de.; MARTIN-NETO, L.; MILORI, D. M. B. P.; SIMÕES, M. L.; HANEDA, R. N.; FIALHO, L. L.; LEONELLI, F. C. V. **Método de aproveitamento biossólido proveniente de lodo de esgoto residencial através de processo de compostagem seguido de biodigestão anaeróbia**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2004. 50 p. (Embrapa Instrumentação Agropecuária. Documentos, 13).

SILVERSTEIN, R. N.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 5. ed. São Paulo: Guanabara, 1994. 387 p.

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.

SKJEMSTAD, J. O.; JANIK, L. J.; TAYLOR, J. A. Non-living soil organic matter: what do we know about it? **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 38, p. 667-680, 1998.

SOLER ROVIRA, P. A.; BRUNETTI, G.; POLO, A.; SENESI, N. Comparative chemical and spectroscopic characterization of humic acids from sewage sludges and sludge-amended soils. **Soil Science**, v. 167, n. 4, p. 235-245, 2002.

SOLER ROVIRA, P. A.; BRUNETTI, G.; POLO, A.; SENESI, N. Effects of amendment with composted sludge on soil humic acid properties. **Compost Science & Utilization**, v. 11, n. 2, p. 176-184, 2003.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry**: gênese, composition, reactions. 2. ed. New York: John Wiley, 1994. 496 p.

STUART, B. **Modern infrared spectroscopy**: analytical chemistry by open learning. New York: John Wiley, 1996. 179 p.

SUTTON, R.; SPOSITO, G. Molecular structure in soil humic substances: the new view. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 23, p. 9009-9015, 2005.

SWIFT, R. S. Organic matter characterization. In: SPARKS, D. L.; PAGE, A. L.; HELMKE, P. A.; LOEPPERT, R. H.; SOLTANPOUR, P. N.; TABATABAI, M. A.; JOHNSTON, C. T.; SUMNER, M. E. (Eds.). **Methods of soil analysis**: chemical methods. Madison, WI: Soil Science Society of America, 1996. part 3, p. 1011-1069. (Book Series, 5).

TAN, K. H. **Humic matter in soil and environment**: principles and controversies. New York: Marcel Dekker, 2003. 386 p.

TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY. **TAPPI test methods, 1998-1999**. Atlanta: TAPPI Press, c1998. 1v.

TIQUIA, S. M. Microbiological parameters as indicators of compost maturity. **Journal of Applied Microbiology**, v. 99, p. 816-828, 2005.

TIQUIA, S. M.; TAM, N. F. Y.; HODGKISS, I. J. Effects of turning frequency on composting of spent pig-manure sawdust litter. **Bioresource Technology**, v. 62, p. 37-42, 1997.

TIQUIA, S. M.; TAM, N. F. Y.; HODGKISS, I. J. Changes in chemical properties during composting of spent pig litter at different moisture contents. **Agriculture Ecosystems & Environment**, v. 67, p. 79-89, 1998.

TOMATI, U.; MADEJON, E.; GALLI, E.; CAPITANI, D.; SEGRE, A. L. Structural changes of humic acids during olive mill pomace composting. **Compost Science Land Utilization**, v. 9, p. 134-142, 2001.

TRAUTMANN, N.; OLYNCIW, E. Compost Microorganisms. In: CORNELL Composting, **Science & Engineering**. Disponível em: <<http://compost.css.cornell.edu/microorg.html>>. Acesso em: 11 mar. 2005.

TUOMELA, M.; VIKMAN, M.; HATAKKA, A.; ITAVAARA, M. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. **Bioresource Technology**, v. 72, p. 169-183, 2000.

VAN GINKEL, J. T.; VAN HANEGHEM, I. A.; RAATS, P. A. C. Physical properties of composting material: gas permeability, oxygen diffusion coefficient and thermal conductivity. **Biosystems Engineering**, v. 81, n. 1, p. 113-125, 2002.

VINCESLAS-AKPA, M.; LOQUET, M. Organic matter transformations in lignocellulosic waste products composted or vermicomposted (*Eisenia Fetida Andrei*): chemical analysis and ¹³C CPMAS NMR spectroscopy. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 29, n. 3-4, p. 751-758, 1997.

WANG, P.; CHANGA, C. M.; WATSON, M. E.; DICK, W. A.; CHEN, Y.; HOITINK, H. A. J. Maturity indices for composted dairy and pig manures. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 25, p. 767-776, 2004.

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

WERTZ, J. E.; BOLTON, J. R. **Electron spin resonance: elementary theory and practical applications**. New York: McGraw Hill, 1972. 497 p.

WILLIAMS, S. **Official methods of analysis of the associations official analytical chemists**. 14. ed. Arlington: AOAC, 1984. 1141p.

ZECH, W.; SENESI, N.; GUGGENBERGER, 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.

ZBYTNIIEWSKI, R.; BUSZEWSKI, B. Characterization of natural organic matter (NOM) derived from sewage sludge compost. Part 1: chemical and spectroscopic properties. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 471-478, 2005.

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.