

KÁTIA CYLENE LOMBARDI

**NOVA ESTRATÉGIA NO ESTUDO DAS INTERAÇÕES DE ESTRUTURAS
ORGÂNICAS COM COMPONENTES INORGÂNICOS DO SOLO COM VISTAS À
DEGRADAÇÃO DE AGROTÓXICOS E AO SEQUESTRO DE CARBONO, E A
CONTRIBUIÇÃO DE MACROFUNGOS NA FORMAÇÃO DE MATÉRIA
ORGÂNICA DE SOLOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química – Química Analítica - do Departamento de Química do Setor de Ciências Exatas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Salvio Mangrich

CURITIBA

2005

ENQUANTO HOVER AMIZADE...

Pode ser que um dia deixemos de nos falar.
Mas, enquanto houver amizade, faremos as pazes de novo.

Pode ser que um dia o tempo passe.
Mas, se a amizade permanecer, um do outro há de se lembrar.

Pode ser que um dia nos afastemos.
Mas, se formos amigos de verdade, a amizade nos reaproximará.

Pode ser que um dia não mais existamos.
Mas, se ainda sobrar amizade, nasceremos de novo, um para o outro.

Pode ser que um dia tudo acabe.
Mas, com a amizade construiremos tudo novamente, cada vez de forma diferente, sendo único e inesquecível cada momento que juntos viveremos e nos lembraremos pra sempre.

Há duas formas para viver sua vida.
Uma é acreditar que não existe milagre.
A outra é acreditar, que todas as coisas são um milagre.

(Albert Einstein, 1879-1955).

Ao meu orientador e aos meus alunos,
Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo seu amor...

Ao Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná.

A Capes – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa de doutorado concedida.

Aos docentes do Curso de Pós-graduação em Química.

A todos os colegas de turma e aos amigos do Laboratório de Projetos e Processos Ambientais.

A empresa Gapi – Grupo Agaricus de Pilar Ltda, de Pilar do Sul, São Paulo, produtora do cogumelo *Agaricus brasiliensis*.

A Embrapa/CNPQ e a Dr. Maria Angela L. de A. Amazonas, pela acolhida e contribuições.

A Betânia F. Pereira, Danyella O. Perissotto e Melissa U. Lucato, pelo convívio diário, a amizade “com tudo que tem direito”!

A UNICENTRO/Irati/PR e ao chefe do departamento de Eng. Florestal, prof. Dr. Antonio José de Araújo, pela compreensão.

A Andrea Nogueira Dias, amiga nova com força de “antiga”. Valeu!

A Denise Luz, mais do que uma amiga, uma “irmã mais velha” (no máximo dois anos)!

A Iara Messerschmidt e Rodrigo Nogueira Olendzki, pela amizade e discussões científicas.

A todos os amigos, presentes ou distantes, que tornam cada momento, vivido ou lembrado, muito feliz!

A minha família pela confiança e apoio inestimáveis.

Aos membros da banca examinadora de qualificação e de defesa de tese, por suas contribuições.

E especialmente ao Professor Mangrich, por tudo! Pelo entusiasmo, orientação, confiança, amizade, tolerância e compreensão inesgotáveis. E, por ter acreditado!

SUMÁRIO

<u>LISTA DE FIGURAS</u>	vii
<u>LISTA DE TABELAS</u>	x
<u>LISTA DE ABREVIATURAS</u>	xi
<u>RESUMO</u>	xiii
<u>ABSTRACT</u>	xiv
<u>1 – INTRODUÇÃO</u>	1
<u>2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</u>	5
<u>2.1 – HERBICIDAS S-TRIAZINAS</u>	5
<u>2.2 – COMPONENTES MINERAIS DOS SOLOS</u>	8
<u>2.3 – CARACTERIZAÇÃO DA CAULINITA PP-0559 PROVENIENTE DA REGIÃO DA AMAZÔNIA COMO MODELO DE ARGILA DE SOLOS TROPICAIS</u>	10
<u>2.4 – ÓXIDOS DE ALUMÍNIO E FERRO SINTÉTICOS COMO MODELOS DE ÓXIDOS METÁLICOS DE SOLOS TROPICAIS</u>	15
<u>2.5 – A IMPORTÂNCIA DOS SOLOS NO SEQUESTRO DE CARBONO</u>	18
<u>2.6 – PARTICIPAÇÃO DOS FUNGOS NA FORMAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA DOS SOLOS</u>	19
<u>2.7 – MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS</u>	23
<u>2.7.1 - Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica - EPR</u>	23
<u>2.7.2 - Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier - FTIR</u>	24
<u>2.7.3 - Espectroscopia eletrônica - UV-VIS</u>	25
<u>2.7.4 - Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS) ou espectroscopia para análise química elementar (ESCA)</u>	25
<u>2.8 - CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO EM VIDRO POROSO</u>	27
<u>2.9 – CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESPECTROSCÓPICA DE MELANINAS</u>	28
<u>2.10 - ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA</u>	30
<u>3 – OBJETIVOS</u>	32
<u>3.1 – OBJETIVOS GERAIS</u>	32
<u>3.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS</u>	32
<u>4 – MATERIAIS E MÉTODOS</u>	34
<u>4.1 – CARACTERIZAÇÃO POR EPR DA CAULINITA PP-0559 ORIENTADA EM CÉLULA PLANA</u>	34
<u>4.2 - QUANTIFICAÇÃO RELATIVA DE Fe³⁺ EM DOMÍNIOS DILUÍDOS NOS ESPECTROS DE EPR ORIENTADOS DE CAULINITA PP0559 APÓS REDUÇÃO</u>	35
<u>4.3 - ESTUDO DE DOIS MINERAIS PRIMÁRIOS BIOTITA E MUSCOVITA (2:1) EM COMPARAÇÃO COM A CAULINITA (1:1)</u>	36
<u>4.4 – ESTUDO DE QUÍMICA DE SUPERFÍCIE DA CAULINITA POR XPS e EPR</u>	37
<u>4.5 – ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DE HERBICIDAS S-TRIAZINAS EM SUPERFÍCIES DE ARGILA</u>	38
<u>4.6 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESPECTROSCÓPICA DA MELANINA EXTRAÍDA DO FUNGO <i>Boletинellus rompelii</i> E DO ÁCIDO HÚMICO EXTRAÍDO DO SOLO CULTIVADO COM O FUNGO</u>	38

<u>4.7 – ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA DOS ESPECTROS DE EPR E FTIR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS DA MELANINA DO MACROFUNGO <i>B. rompelii</i> E DOS ÁCIDOS HÚMICOS DE SOLO</u>	41
<u>4.8 – ESTRUTURAS QUÍMICAS DE ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDOS DE COMPOSTO DURANTE O CRESCIMENTO DE <i>Agaricus brasiliensis</i></u>	42
<u>5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	44
<u>5.1 – CARACTERIZAÇÃO POR EPR DA CAULINITA PP-0559 ORIENTADA EM CÉLULA PLANA</u>	44
5.1.1 – Considerações relevantes	47
<u>5.2 – QUANTIFICAÇÃO RELATIVA DE Fe³⁺ EM DOMÍNIOS DILUÍDOS NOS ESPECTROS DE EPR ORIENTADOS DE CAULINITA PP0559 APÓS REDUÇÃO</u>	48
5.2.1 – Considerações relevantes	50
<u>5.3 - ESTUDO DE DOIS MINERAIS PRIMÁRIOS BIOTITA E MUSCOVITA (2:1) EM COMPARAÇÃO COM A CAULINITA (1:1)</u>	51
5.3.1 – Considerações relevantes	55
<u>5.4 – ESTUDO DE QUÍMICA DE SUPERFÍCIE DA CAULINITA POR XPS e EPR</u>	56
5.4.1 – Considerações relevantes	65
<u>5.5 - ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DE HERBICIDAS S-TRIAZINAS EM SUPERFÍCIES DE ARGILAS</u>	66
5.5.1 – Considerações relevantes	72
<u>5.6 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESPECTROSCÓPICA DA MELANINA EXTRAÍDA DO FUNGO <i>Boletinelus rompelii</i> E DO ÁCIDO HÚMICO EXTRAÍDO DO SOLO CULTIVADO COM O FUNGO</u>	73
5.6.1 – Considerações relevantes	81
<u>5.7 – ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA DOS ESPECTROS DE EPR E FTIR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS DA MELANINA DO MACROFUNGO <i>B. rompelii</i> E DOS ÁCIDOS HÚMICOS DE SOLO</u>	82
5.7.1 – Análise de Componentes Principais	85
5.7.2 – Considerações relevantes	90
<u>5.8 – ESTRUTURAS QUÍMICAS DE ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDOS DE COMPOSTO DURANTE O CRESCIMENTO DE <i>Agaricus brasiliensis</i></u>	92
5.8.1 – Considerações relevantes	99
<u>6 – CONCLUSÃO</u>	100
<u>REFERÊNCIAS</u>	102

LISTA DE FIGURAS

<u>FIGURA 1 - FÓRMULAS ESTRUTURAIS DOS HERBICIDAS ATRAZINA, SIMAZINA E AMETRIN.</u>	5
<u>FIGURA 2 - DEALQUILAÇÃO E MINERALIZAÇÃO DA ATRAZINA POR σ-MnO₂ (SHIN <i>et al.</i>, 2000).</u>	6
<u>FIGURA 3 – ESPECTROS DE EPR DA FRAÇÃO ARGILA DE SOLOS SOB CAMPO NATIVO (1) E PLANTIO DIRETO (2), APÓS TRATAMENTO COM H₂O₂ E DCB (A), ÁGUA (CONTROLE) (B), E SOLUÇÃO DE ATRAZINA (C) (GIANNONI, 1998, MANGRICH <i>et al.</i>, 2005).</u>	7
<u>FIGURA 4 – ESQUEMA DA ESTRUTURA DA CAULINITA (LOMBARDI <i>et al.</i>, 2002).</u>	11
<u>FIGURA 5 - DIFRATOGRAMA DE RAIOS-X DE PÓ DA CAULINITA PP-0559. (FONTE: GARDOLINSKI <i>et al.</i>, 1999; LOMBARDI <i>et al.</i>, 2002).</u>	12
<u>FIGURA 6 - ESPECTRO DE FTIR DA CAULINITA PP-0559 (LOMBARDI, 2000).</u>	13
<u>FIGURA 7 - ESPECTRO DE EPR DE PÓ EM TUBO DE QUARTZO DA CAULINITA PP-0559 REGISTRADO A TEMPERATURA AMBIENTE EM PRIMEIRA DERIVADA (LOMBARDI <i>et al.</i>, 2002).</u>	15
<u>FIGURA 8 – DIFRATOGRAMAS DE RAIOS-X DE PÓ DOS MODELOS DE SOLOS: 1 – HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 1 % DE FERRO; 2 - HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 0,5 % DE FERRO E 10 % DE AH; 3 - HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 0,5 % DE FERRO E 4 - HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 1 % DE FERRO (LOMBARDI, 2000).</u>	16
<u>FIGURA 9 – ESPECTROS DE EPR DOS MODELOS DE SOLOS: 1 – HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 1 % DE FERRO; 2 - HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 0,5 % DE FERRO E 10 % DE AH; 3 - HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 0,5 % DE FERRO E 4 - HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 1 % DE FERRO (LOMBARDI, 2000).</u>	17
<u>FIGURA 10 – FOTOS DOS COGUMELOS <i>Agaricus brasiliensis</i> E <i>Boletinus rompelii</i>.</u>	22
<u>FIGURA 11 – SISTEMA DE CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO EM VIDRO DE TAMANHO DE PORO CONTROLADO (GE-VPC) COM DETECTOR UV-VIS ACOPLADO.</u>	41
<u>FIGURA 12 – ESPECTROS DE EPR DA CAULINITA PP-0559, ORIENTADA PARALELA () E PERPENDICULARMENTE (⊥) AO CAMPO MAGNÉTICO, EM MODO DE PRIMEIRA DERIVADA.</u>	44
<u>FIGURA 13 – ESPECTROS DE EPR DA CAULINITA PP-0559, ORIENTADA PARALELA () E PERPENDICULARMENTE (⊥) AO CAMPO MAGNÉTICO, EM SEGUNDA DERIVADA.</u>	46
<u>FIGURA 14 - ESQUEMA DETALHADO DA ESTRUTURA DA CAULINITA COM A LOCALIZAÇÃO DOS CENTROS PARAMAGNÉTICOS A, A' E B.</u>	47
<u>FIGURA 15 – ESPECTROS DE EPR DA CAULINITA PURA (1) E TRATADA COM DCB (2), NA REGIÃO DE Fe³⁺, EM DOMÍNIOS DILUÍDOS, PARA OS ESPECTROS PARALELO (a) E PERPENDICULAR (b) AO CAMPO MAGNÉTICO.</u>	49

<u>FIGURA 16 – ESPECTROS DE EPR DA CAULINITA PURA (1) E TRATADA COM DCB (2), NA REGIÃO DOS CENTROS DE DIR, PARALELO (a) E PERPENDICULAR (b) AO CAMPO MAGNÉTICO.</u>	50
<u>FIGURA 17 – DIFRATOGRAMAS DE RAIOS-X DE PÓ DA BIOTITA (B), MUSCOVITA (M) E CAULINITA (C).</u>	52
<u>FIGURA 18 - ESPECTRO 'SURVEY' DO XPS PARA BIOTITA (B), MUSCOVITA (M) E CAULINITA (C).</u>	52
<u>FIGURA 19 - ESPECTRO DETALHADO DE XPS DAS REGIÕES DE Fe3p E Fe2p PARA A BIOTITA.</u>	53
<u>FIGURA 20 - ESPECTROS DE EPR PARALELOS (II) E PERPENDICULARES (⊥) DE BIOTITA (B), MUSCOVITA (M) E CAULINITA (C).</u>	54
<u>FIGURA 21 – ESPECTROS DE EPR EM 5000 G DAS AMOSTRAS DE CAULINITA.</u>	56
<u>FIGURA 22 – ESPECTROS DE EPR REGISTRADOS NOS DOMÍNIOS DILUÍDOS DE FERRO E INTEGRADOS.</u>	57
<u>FIGURA 23 – ESQUEMA PROPOSTO PARA AS REAÇÕES DE REDUÇÃO (A) E COMPLEXAÇÃO (B) DE Fe³⁺ DOS DOMÍNIOS CONCENTRADOS DA CAULINITA APÓS TRATAMENTO COM DCB.</u>	58
<u>FIGURA 24 – ESPECTROS DE EPR NA REGIÃO DOS DIR.</u>	59
<u>FIGURA 25 – ESPECTRO DE XPS, DE ALTA RESOLUÇÃO PARA, C1s: (A) EXPERIMENTAL, (B) CURVA AJUSTADA EM COMPONENTES 'GAUSSIANOS-LORENTZIANOS' EM LINHAS PONTILHADAS.</u>	60
<u>FIGURA 26 - ESPECTROS DE XPS DE ALTA RESOLUÇÃO PARA C1s, N1s E O1s DAS AMOSTRAS DE CAULINITA NÃO TRATADA E TRATADAS COM DCB E NaOCl.</u>	64
<u>FIGURA 27 - DIFRATOGRAMAS DE RAIOS-X DA CAULINITA ANTES E APÓS AS REAÇÕES COM SOLUÇÕES AQUOSAS DE ATRAZINA, AMETRIN E SIMAZINA.</u>	67
<u>FIGURA 28 - ESPECTROS NO FTIR DAS AMOSTRAS DE CAULINITA ANTES E APÓS AS REAÇÕES COM SOLUÇÕES AQUOSAS DE ATRAZINA, AMETRIN E SIMAZINA.</u>	67
<u>FIGURA 29 - ESPECTROS DE XPS PARA OS ÁTOMOS DE C1s E DE N1s, RESPECTIVAMENTE.</u>	69
<u>FIGURA 30 – ESPECTROS DE EPR, A 77K, EM SEGUNDA DERIVADA DAS AMOSTRAS CAULINITA ANTES E APÓS O TRATAMENTO COM SOLUÇÕES AQUOSAS DOS HERBICIDAS.</u>	71
<u>FIGURA 31 - PROPOSTA DE DEALQUILAÇÃO E MINERALIZAÇÃO DO AMETRIN, SEGUNDO PROPOSTA DE SHIN <i>et al.</i>, 2000, PARA A ATRAZINA.</u>	72
<u>FIGURA 32 – FOTO DO ÁCIDO HÚMICO, APÓS A LIOFILIZAÇÃO, EXTRAÍDO DA AMOSTRA DE SOLO ONDE CRESCE O FUNGO <i>B. rompelii</i>: AH1, COM ASPECTOS VISUAIS SEMELHANTES AOS DE ÁCIDOS HÚMICOS E AH2, COM ASPECTO VISUAL MAIS CRISTALINO.</u>	74
<u>FIGURA 33 - ESPECTRO DE EPR NA REGIÃO DE 5000 G PARA O AH1, AH2, AH3 e ME4.</u>	75
<u>FIGURA 34 - ESPECTRO DE EPR NA REGIÃO DO RLO PARA O AH1, AH2, AH3 e ME4.</u>	77
<u>FIGURA 35 - ESPECTROS NO INFRAVERMELHO PARA OS AH1, AH2, AH3 E ME4.</u>	78

<u>FIGURA 36 - CROMATOGRAMAS DOS AH1, AH2, AH3 E ME4, MOSTRANDO AS FRAÇÕES OBTIDAS A CADA 2 MINUTOS.</u>	80
<u>FIGURA 37 - ESPECTROS DE EPR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS 5, 6, 7 E 8 PARA AH1, AH2, AH3 E ME4.</u>	82
<u>FIGURA 38 - ESPECTROS DE FTIR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS 5, 6, 7 E 8 PARA AH1, AH2, AH3 E ME4.</u>	84
<u>FIGURA 39 – ESCORES DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS DOS ESPECTROS DE EPR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS 5, 6, 7 E 8 PARA AH1, AH2, AH3 E MEL4: CP1 VERSUS CP2 (A), CP2 VERSUS CP3 (B) E CP1 VERSUS CP4 (C).</u>	87
<u>FIGURA 40 – ‘LOADINGS’ DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS DOS ESPECTROS DE EPR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS 5, 6, 7 E 8 PARA AH1, AH2, AH3 E MEL4.</u>	88
<u>FIGURA 41 – ESCORES DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS DOS ESPECTROS DE FTIR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS 5, 6, 7 E 8 PARA AH1, AH2, AH3 E MEL4: CP1 VERSUS CP2 (A), CP2 VERSUS CP3 (B) E CP1 VERSUS CP4 (C).</u>	89
<u>FIGURA 42 – ‘LOADINGS’ DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS DOS ESPECTROS DE FTIR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS 5, 6, 7 E 8 PARA AH1, AH2, AH3 E MEL4.</u>	90
<u>FIGURA 43 – ESPECTROS NO FTIR PARA OS ÁCIDOS HÚMICOS AH1, AH2, AH3 E AH4 EXTRAÍDOS DAS QUATRO FASES DO COMPOSTO DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO <i>Agaricus brasiliensis</i>.</u>	93
<u>FIGURA 44 – ESPECTROS DE UV-VIS PARA OS ÁCIDOS HÚMICOS AH1, AH2, AH3 E AH4 EXTRAÍDOS DAS QUATRO FASES DO COMPOSTO DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO <i>Agaricus brasiliensis</i>.</u>	94
<u>FIGURA 45 – ESPECTROS DE EPR A 77 K PARA OS ÁCIDOS HÚMICOS AH1, AH2, AH3 E AH4 EXTRAÍDOS DAS QUATRO FASES DO COMPOSTO DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO <i>Agaricus brasiliensis</i>.</u>	95
<u>FIGURA 46 – ESPECTROS DE EPR A TEMPERATURA AMBIENTE COM G EM TORNO DE 2,0 PARA AS OS ÁCIDOS HÚMICOS AH1, AH2, AH3 E AH4 EXTRAÍDOS DAS QUATRO FASES DO COMPOSTO DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO <i>Agaricus brasiliensis</i>.</u>	96
<u>FIGURA 47 – ESPECTROS DE FTIR DAS MELANINAS DOS MACROFUNGOS <i>Boletiniellus rompelii</i> E <i>Agaricus brasiliensis</i>.</u>	98
<u>FIGURA 48 – ESPECTROS DE EPR DAS MELANINAS DOS MACROFUNGOS <i>Boletiniellus rompelii</i> E <i>Agaricus brasiliensis</i>.</u>	99

LISTA DE TABELAS

<u>TABELA 1 - TEMPO MÉDIO DE RESIDÊNCIA DA MO (ANOS) - MODELO DE JENKINSON.</u>	19
<u>TABELA 2 – REPRESENTAÇÃO DAS AMOSTRAS DO COMPOSTO ONDE SE DESENVOLVE O COGUMELO E DOS RESPECTIVOS AH, FASE DE COLETA (DIAS) E CONDIÇÕES DO COMPOSTO.</u>	43
<u>TABELA 3 - ENERGIA DE LIGAÇÃO (EV) DOS PICOS DE XPS DE CAULINITA DECONVOLUÍDOS.</u>	61
<u>TABELA 4 – RAZÕES ATÔMICAS PARA OS PICOS AJUSTADOS NOS ESPECTROS DE XPS.</u>	62
<u>TABELA 5 - ÁREAS SOB A CURVA DE ADSORÇÃO DE ÍONS Fe³⁺ EM SÍTIOS DE DOMÍNIOS DILUÍDOS NOS ESPECTROS DE EPR.</u>	68
<u>TABELA 6 - ENERGIAS DE LIGAÇÃO DOS PICOS AJUSTADOS PARA C1s E N1s DAS AMOSTRAS DE CAULINITA TRATADA COM SOLUÇÕES AQUOSAS DOS HERBICIDAS ATRAZINA, AMETRIN E SIMAZINA.</u>	70
<u>TABELA 7 – CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS SOLOS COM (SOLO 1) E SEM (SOLO 2) O CULTIVO DO FUNGO <i>B. rompelii</i> (camada de 0-20 cm).</u>	73
<u>TABELA 8 - NÚMERO DE SPINS/GRAMA DAS AMOSTRAS AH1, AH1, AH3 E ME4.</u>	76
<u>TABELA 9 - ANÁLISE ELEMENTAR DE CHN E CONCENTRAÇÃO DE METAIS PARA OS AH E MELANINA DO FUNGO <i>A. brasiliensis</i>.</u>	97

LISTA DE ABREVIATURAS

AH – ácido húmico
AM - ametrin
ASE – área de superfície específica
AT - atrazina
CE-VPC – cromatografia de exclusão em vidro de porosidade controlada
CHN – carbono hidrogênio nitrogênio
CP – componente principal
CTC – capacidade de troca catiônica
D - parâmetro de campo cristalino para distorção axial
DCB – ditionito-citrato-bicarbonato
DIR – defeitos induzidos por radiação
DQ – Departamento de Química
DRX – difração de raios-X
E – parâmetro de campo cristalino para distorção rômica
EPR - espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica
ESCA – electrons spectroscopy for chemical analysis
FTIR - espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
G - Gauss
HCA – análise hierárquica de clusters
ICP-AES – espectroscopia de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente
IV – infravermelho
LABPAM – Laboratório de Projetos e Processos Ambientais
MC – composto para cogumelo
MO – matéria orgânica
MOS – matéria orgânica do solo
NMR – espectroscopia de ressonância magnética nuclear
PCA – análise de componentes principais
PLS – mínimos quadrados parciais
RLO – radical livre orgânico
SH – substâncias húmicas
SI - simazina

UFPR – Universidade Federal do Paraná

UV – ultravioleta

UV-VIS - espectroscopia eletrônica ou ultravioleta visível

V + Al – vermiculita com alumínio nas intercadas

XPS - espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X

RESUMO

O uso racional do solo, a manutenção ou melhoria do seu potencial produtivo e a preservação ambiental a longo prazo dependem do conhecimento das características e das propriedades dos solos, que são determinadas pelos fatores e processos pedogenéticos que atuam no tempo. As propriedades químicas, físicas e biológicas dos solos são determinadas pelas interações entre seus componentes. Com os objetivos de compreender as interações de estruturas orgânicas com componentes inorgânicos do solo e a participação de macrofungos na formação de matéria orgânica dos solos (MOS), foram utilizadas espectroscopias de ressonância paramagnética eletrônica (EPR), infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), eletrônica (UV-VIS) e de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS). Na caracterização de argilas do tipo 2:1 e 1:1 conclui-se que ocorre diminuição da simetria dos sítios de impurezas de Fe^{3+} quando considerada a formação dos minerais numa escala geológica e sugere-se a participação dos defeitos induzidos por radiação (DIR) em processos oxidativos da caulinita. O poder oxidante das caulinitas e óxidos de ferro são favorecidos naturalmente porque ocorrem via redução de $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ localizados na superfície do mineral. A espectroscopia de XPS foi útil na elucidação de estruturas orgânicas ligadas a caulinita, através da qualificação e quantificação de compostos orgânicos em superfície. Assim, a nova estratégia de caracterização de MOS é estudar a matéria orgânica ligada às argilas, separadas pelo processo clássico de sedimentação. A degradação de herbicidas s-triazinas nos solos tropicais é proposta por reações de oxidação das alquilas ligadas ao N de aminas e redução de Mn(IV) da estrutura da caulinita, Fe^{3+} de óxidos presos na estrutura e centros DIR das caulinitas. No estudo da participação de macrofungos na formação de matéria orgânica dos solos, verificou-se que os cogumelos podem ter uma significativa contribuição na formação das estruturas orgânicas do solo. Primeiramente, o cogumelo rompe estruturas mais organizadas formadoras do ácido húmico durante a fase de crescimento do micélio, disponibilizando nutrientes como N, Fe e Mn para a fase de frutificação. Assim, estruturas de carboidratos são adicionadas aos solos e irão compor a MO. Íons como Fe^{+3} e Cu^{+2} são responsáveis por ligações entre a matéria orgânica e componentes inorgânicos nos solos. O íon Mn^{2+} é importante como micronutriente para os fungos. A disponibilidade de nutrientes deve ser maior que o consumo próprio do fungo, o que torna o composto residual rico em nutrientes e de boa qualidade para utilização em hortas.

ABSTRACT

The reasonable usage of the soil, the maintenance or improvement of its productive potential and the long term environmental preservation depend on the knowledge of the soils characteristics and properties, which are determined by the pedogenetic factors and processes acting along time. The chemical, physical and biological properties of the soil are determined by the interaction among its components. Aiming to understand the interactions between organic structures and inorganic components of the soil, as well as the participation of macrofungi in the formation of the soil organic matter (SOM), it was employed electron paramagnetic resonance spectroscopy (EPR), a Fourier transform infrared one (FTIR), an electronic one (UV-VIS) and a X-ray photoelectron one (XPS). In the characterization of 2:1 and 1:1 clay types, it is possible to conclude that a reduction in the symmetry of the Fe^{3+} impurities sites occurs when it is taken into account the minerals formation in a geological scale, for what it is suggested the participation of the radiation induced defects (RID) in the kaolinite oxidative processes. The kaolinite and the iron oxides oxidation power are naturally favored due to the fact that they occur by the reduction of $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$, located on the mineral surface. The XPS spectroscopy was useful in the elucidation of the organic structures bounded to the kaolinite, through the qualification and quantification of organic compounds on surface. Thus, the new strategy for SOM characterization is to study the organic material bounded to the clays, separated by the classic process of sedimentation. The degradation of s-triazine herbicides in tropical soils is proposed by the alkyls oxidation reactions linked to the N of amines and reduction of Mn (IV) of the structure of kaolinite, Fe^{3+} of oxides bounded in the structure and kaolinite RID centers. In the study about the macrofungi participation in the organic matter formation of the soils, it was noticed that mushrooms may play an important role in the soil organic structures formation. At first, the mushroom breaks up more organized structures which form the humic acid during the mycelium growing stage, making available nutrients as N, Fe and Mn for the fructification stage. Thus, carbohydrate structures are added to the soils and will compound the OM. Ions like Fe^{+3} and Cu^{+2} are responsible for the bindings among the organic material and the inorganic components in the soils. The Mn^{2+} ion is important as a micronutrient for the fungi. The availability of nutrients must be higher than the quantity needed by the fungi itself, which makes the residual compound rich in nutrients and of good quality for vegetable plot use.

1 – INTRODUÇÃO

A preocupação mundial com a qualidade do solo, das águas e com o uso adequado dos recursos naturais tem gerado pesquisas intensivas visando o controle da poluição ambiental e reciclagem de resíduos.

Em alguns países, o uso de herbicidas está associado à contaminação de solos e de águas subterrâneas e superficiais. Mundialmente a atrazina (2,cloro-4-etilamina-6-isopropilamina-1,3,5-triazina) (AT), é um dos herbicidas mais amplamente utilizados, em doses de 0,75 a 1,50 kg ha⁻¹ de substância ativa, em culturas de campo. Sua permanência no solo é indicada por seu tempo de meia-vida, variável na faixa de 1,5 mês até 5 anos. O intensivo uso na agricultura e a persistência deste herbicida nos solos têm causado acúmulo no ambiente, com relatos de concentrações residuais em águas superficiais e subterrâneas na faixa de 0,02 a 54 µg L⁻¹ (GELLER, 1990). No Brasil, os herbicidas do grupo das s-triazinas são utilizados intensivamente, principalmente em culturas de milho e cana-de-açúcar, onde a recomendação de uso varia de 2 a 4 kg ha⁻¹, conforme a textura do solo. Logo, o destino destes nos solos se torna assunto de grande interesse, considerando os efeitos que podem causar ao organismo humano (carcinogenia) e ao meio ambiente.

As interações das s-triazinas com a matéria orgânica são bem conhecidas em solos (SULLIVAN e FELBECK, 1968; KODAMA e SCHNITZER, 1977), onde as substâncias húmicas atuam como catalisadores da hidrólise química do herbicida e também como substrato na sorção do mesmo. A atuação de microorganismos na degradação de herbicidas no solo também tem sido demonstrada. Trabalhos recentes mostraram que a degradação de herbicidas é provocada não só pela interação com ácidos húmicos, mas também, pela interação com estruturas inorgânicas do solo, do tipo óxidos de manganês (GAMBLE e ISMAILY, 1992; LAIRD *et al.*, 1994; CELIS *et al.*, 1997; WANG *et al.*, 1999).

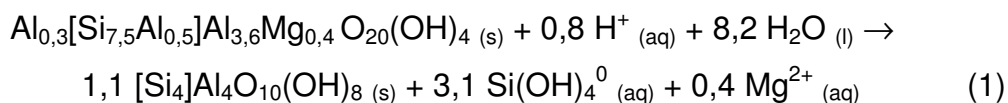
Na fração inorgânica dos solos brasileiros predominam minerais em estágio de intemperismo avançado. São os óxidos, hidróxidos ou oxi-hidróxidos de alumínio (gibsite), ferro (goetite e hematita), manganês e titânio, minerais estáveis, formados a partir da recombinação de minerais primários, durante o intemperismo.

Predominam, também, minerais de argila do tipo 1:1, como caulinitas, que são filosilicatos.

GIANNONI (1998) utilizou a fração inorgânica total do solo constituída de óxidos metálicos e argilas, principalmente caulinita, para estudar a degradação dos herbicidas do tipo s-triazina (MANGRICH *et al*, 2005). No entanto, a grande complexidade do material dificultou as conclusões sobre o que ocorria na interação dos herbicidas do tipo s-triazina com a fração inorgânica do solo.

Em LOMBARDI (2000) modelos de oxi-hidróxidos de alumínio e ferro foram sintetizados e submetidos à reação com atrazina e ametrin. Os modelos que apresentaram formação de estruturas do tipo gibsitita e baierita, avaliados por difratometria de raios-X (DRX) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), foram obtidos com a participação de 0,5 % de nitrato de ferro em 99,5 % de nitrato de alumínio como reagentes, inclusive na presença de ácido húmico. O estudo das interações das s-triazinas com componentes da fração inorgânica dos solos foi também realizado usando o mineral de argila caulinita, de alta pureza, proveniente de jazida localizada no Estado do Pará, num depósito do Rio Capim. Uma estreita relação existente entre esses dois tipos de componentes da fração inorgânica do solo (gibsitita, no oxihidróxido de Al e na caulinita) é a presença, em pequena quantidade, de íons Fe^{3+} , que funcionam como sonda na identificação de linhas características em domínios diluídos na espectroscopia de EPR. Modificações nas intensidades relativas e nas larguras destas linhas resultantes da interação com os herbicidas estimulam a pesquisa sobre os mecanismos de interação ou degradação do herbicida com o solo.

A caulinita, por ser um filosilicato tipo 1:1, pode ser acomodada segundo seu plano basal preferencial. Assim, por EPR, é possível localizar os sítios de Fe^{3+} e os defeitos induzidos por radiação (DIR) dentro da estrutura cristalina (LOMBARDI *et al.*, 2002). Nos solos, a caulinita é considerada um mineral secundário, formado a partir de transformações de minerais primários, em regiões de alta pluviosidade e boa drenagem, pela facilidade de perda por lixiviação do ácido silícico solúvel, resultante do intemperismo. A reação de intemperismo do mineral 2:1, esmectita (beidelita), com a formação de caulinita pode ser assim representada (SPOSITO, 1989):



Assim, micas como a biotita e a muscovita, minerais primários, filosilicatos 2:1, foram também estudadas segundo os planos basais como possíveis precursores da caulinita e da goetita, um oxihidróxido de Fe^{3+} (SPOSITO, 1989).

Além das técnicas de EPR, FTIR e DRX já utilizadas pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Projetos e Processos Ambientais do DQ/UFPR – LABPAM/DQ/UFPR, nos estudos de caracterizações de argilas e de interações entre componentes orgânico-inorgânicos dos solos, a espectroscopia de XPS (Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X) foi utilizada para auxiliar na elucidação das estruturas das micas e da caulinita e na indicação do mecanismo de degradação dos herbicidas.

Um aspecto que passou a ser considerado foi a possibilidade de contribuir para o conhecimento da capacidade dos solos em seqüestrar carbono, fornecendo uma ‘contra-medida’ para mitigar os impactos ambientais causados pelo aumento do CO_2 atmosférico decorrente principalmente da queima de combustíveis fósseis e desmatamentos.

No ciclo do carbono, sem considerar o papel dos oceanos, os solos contêm a maior fração de carbono em relação à vegetação e à atmosfera. Conseqüentemente, os solos são tidos como o maior reservatório e o principal sumidouro de carbono. Este armazenamento de carbono no solo é considerado seqüestro pelo seu relativo longo período de tempo de permanência no solo.

A matéria orgânica é formada por restos vegetais não decompostos como folhas e galhos; materiais em diferentes estágios de decomposição, onde a atividade microbiana é mais atuante e ocorrem processos de mineralização e humificação, e húmus, matéria orgânica já decomposta e estabilizada quimicamente.

Solos sob florestas naturais em regiões tropicais apresentam maior potencial para o seqüestro de C, pois os processos de adição de matéria orgânica, decomposição microbiana e humificação são favorecidos. Os sistemas de exploração agrícola e florestal com menor grau de revolvimento do solo estão sendo estudados e utilizados (plantio direto, cultivo mínimo), buscando diminuir os impactos ambientais como a degradação dos solos, causados pela diminuição do teor de

matéria orgânica, desagregação de partículas com constituintes organo-minerais e diminuição do carbono seqüestrado nos solos (PICOLLO, 1996).

A transformação de resíduos vegetais acumulados das atividades agrícolas e da indústria florestal em compostos orgânicos através da compostagem, que se retornados ao solo podem melhorar suas características físicas, químicas e biológicas, também vem sendo estudada.

Nas etapas iniciais da formação das substâncias húmicas, componente principal e mais refratário da matéria orgânica do solo, os microrganismos do solo, principalmente fungos melanogênicos e actinomicetos, atuam sobre a biomassa transformando-a nas chamadas melaninas do solo (PAIM *et al*, 1990, GOMES *et al*, 1996, MANGRICH *et al*, 1998). Macrofungos de solos também são importantes nesses processos (PIERCE e RAST, 1995) e, além disso, podem apresentar perspectivas econômicas favoráveis nos aspectos comestíveis e/ou farmacológicos. O *Agaricus brasiliensis*, por exemplo, conhecido como 'Cogumelo do Sol', apresenta importantes propriedades terapêuticas e valor comercial.

Assim, novas abordagens foram dadas neste trabalho: determinação das diferentes espécies ativas à espectroscopia de EPR na caulinita PP-0559 (LOMBARDI *et al.*, 2002; SCHREINER *et al.*, 2002; MANGRICH *et al.*, 2005); estudo da simetria dos íons Fe^{3+} em argilas em função da escala geológica; estudo da matéria orgânica (MO) mais recalcitrante nos solos a partir da caracterização de estruturas orgânicas que durante tempos geológicos ficaram seqüestradas em mineral de argila, contornando-se o problema da geração de artefatos nos métodos de identificação da MO mais refratária à degradação; caracterização dos efeitos da ação dos herbicidas nos minerais do solo; e a contribuição de macrofungos na formação de MO do solo.

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – HERBICIDAS S-TRIAZINAS

Ao grupo das s-triazinas pertencem os herbicidas atrazina (2,cloro-4-etilamina-6-isopropilamina-1,3,5-triazina) (AT), ametrin (2,etilamina-4-isopropilamina-6-metiltio-1,3,5-triazina) (AM), e simazina (2,cloro-4,6-bis-etilamina-1,3,5-triazina) (SI) (Figura 1).

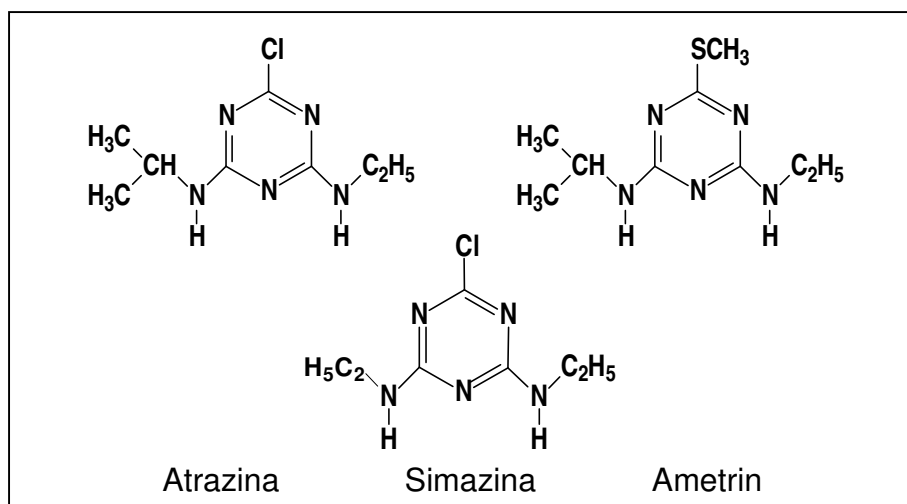


FIGURA 1 - FÓRMULAS ESTRUTURAIS DOS HERBICIDAS ATRAZINA, SIMAZINA E AMETRIN.

São herbicidas de ação sistêmica seletiva, absorvidos principalmente pelas raízes das plantas, com translocação acrópeta no xilema e acúmulo no meristema apical e folhas. São inibidores da fotossíntese e interferem em alguns processos enzimáticos (MILENIA).

Esses herbicidas são usados no controle pré e pós-emergente de plantas daninhas, tanto de gramíneas como folhas largas, que ocorrem em várias culturas, principalmente na do milho.

A solubilidade destes herbicidas em água é muito baixa, 3,5; 28 e 185 mg L⁻¹ para simazina, atrazina e ametrin, respectivamente.

Estudos sobre a interação de herbicidas com a parte orgânica de solos, por exemplo, substâncias húmicas, vêm sendo relatados por vários autores há décadas (SULLIVAN e FELBECK, 1968; KODAMA e SCHNITZER, 1977; SENESI, 1990; MARTIN-NETO *et al.*, 1994). A interação de herbicidas com a parte inorgânica do

solo tem sido reportada em diversos estudos (GAMBLE e ISMAILY, 1992; LAIRD *et al.*, 1994; CELIS *et al.*, 1997; WANG *et al.*, 1999).

SETA e KARATHANASIS (1997), estudaram o transporte da atrazina em colunas com diferentes colóides inorgânicos de solo, e observaram que a presença de maiores níveis de caulinita, Fe^{3+} e Al^{3+} nos solos estudados inibiram o transporte da atrazina, possivelmente pela adsorção nesses componentes inorgânicos.

A adsorção de alguns herbicidas em substâncias sólidas, como minerais de argila ou carbono ativado, tem sido estudada como base para o controle dos resíduos em águas (GONZALES-PRADAS *et al.*, 1997, citado por YING e WILLIAMS, 2000).

Mais recentemente, foram publicados estudos da degradação de atrazina na superfície de óxidos sintéticos de manganês, $\sigma\text{-MnO}_2$, composto semelhante a um componente mineral de solo, a birnessita, com a formação da 1,3,5 – triazina desalquilada (Figura 2) (CHENEY, 1998; WANG *et al.*, 1999), e não do cátion radicalar como fora determinado para a interação da triazina com ácidos húmicos (SENESI, 1990; MARTIN-NETO *et al.*, 1994).

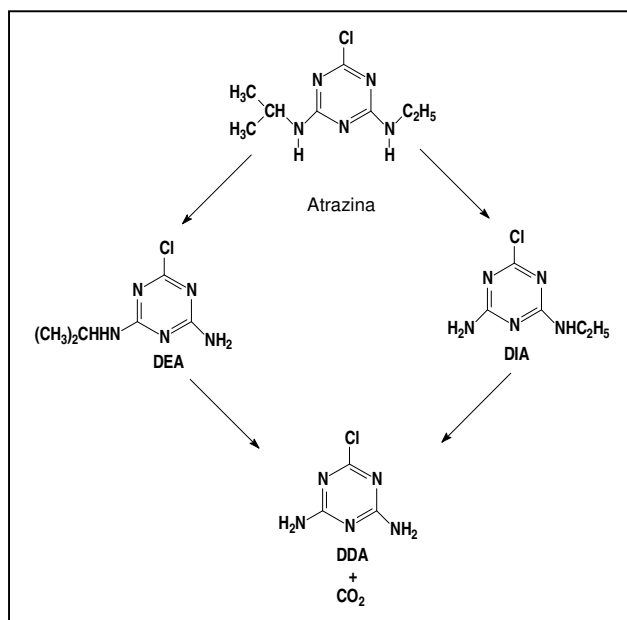


FIGURA 2 - DEALQUILAÇÃO E MINERALIZAÇÃO DA ATRAZINA POR $\sigma\text{-MnO}_2$ (SHIN *et al.*, 2000).

Estudos realizados pelo LABPAM/DQ/UFPR avaliaram a interação do herbicida atrazina com a fração argila, após tratamento com H_2O_2 e DCB (ditionito-citrato-bicarbonato), de solos sob dois sistemas de manejo, campo nativo e plantio

direto, através da espectroscopia EPR (Figura 3) (GIANNONI, 1998, MANGRICH *et al.*, 2005). Esta espectroscopia se mostrou particularmente adequada, uma vez que, sob condições favoráveis, o limite de detecção equivale à parte por milhão. Diferentemente de processo previamente observado, da interação de ácidos húmicos com AT, no qual o herbicida age como agente redutor, sendo oxidado a um cátion radicalar (SENESI, 1990), a atrazina modifica o espectro de EPR das amostras estudadas pela redução do íon Fe^{3+} , sem a formação do cátion radicalar como produto de sua oxidação, e parece complexar o íon Fe^{2+} formado. Moléculas orgânicas neutras, com o anel central 1,3,5 - triazina, são bons ligantes para o íon Fe^{2+} (MARTEL e SMITH, 1994).

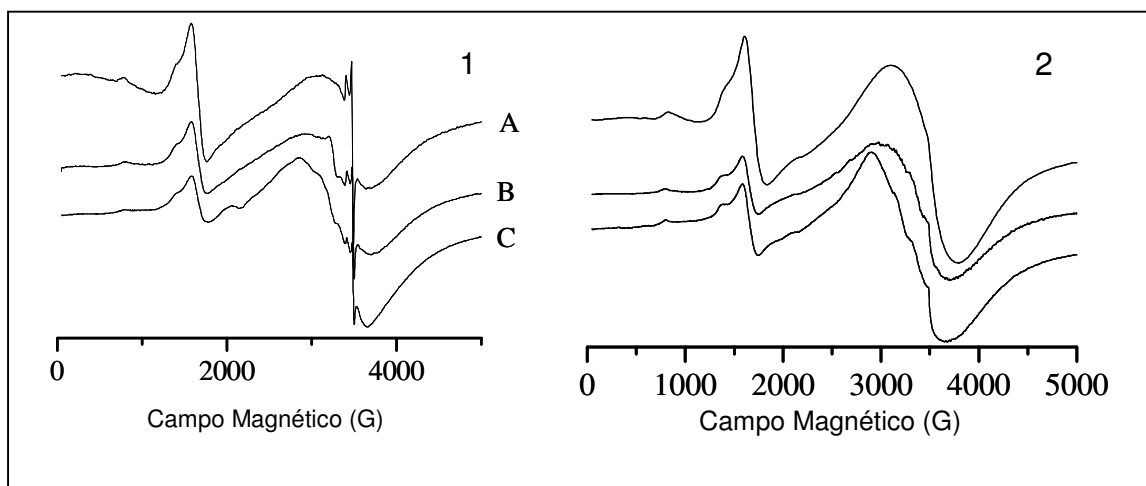


FIGURA 3 – ESPECTROS DE EPR DA FRAÇÃO ARGILA DE SOLOS SOB CAMPO NATIVO (1) E PLANTIO DIRETO (2), APÓS TRATAMENTO COM H_2O_2 E DCB (A), ÁGUA (CONTROLE) (B), E SOLUÇÃO DE ATRAZINA (C) (GIANNONI, 1998, MANGRICH *et al.*, 2005).

As frações argilas dos solos sob campo nativo e plantio direto apresentaram composições minerais diferentes determinadas por análise de DRX. A amostra de argila do campo nativo é composta principalmente de caulinita de alta cristalinidade, pequena quantidade de vermiculita com alumínio nas intercamadas (V + Al) e outros oxi-hidróxidos de ferro e alumínio, enquanto que a amostra de argila do plantio direto apresentou maiores quantidades de V + Al e menores quantidades de caulinita de alta cristalinidade (MANGRICH *et al.*, 2005).

Uma das dificuldades encontradas na caracterização da interação dos herbicidas triazínicos deveu-se à diversidade dos componentes inorgânicos dos

solos, sendo difícil compreender a participação de cada componente mineral isoladamente.

2.2 – COMPONENTES MINERAIS DOS SOLOS

Quimicamente os solos são constituídos de componentes minerais ou inorgânicos, matéria orgânica, água, ar e organismos do solo. Os componentes minerais, resultantes da atuação do intemperismo sob o material de origem, as rochas, são responsáveis pela estrutura e fertilidade dos solos. A matéria orgânica, adicionada aos solos pela decomposição de resíduos vegetais e animais, interfere nas propriedades físicas, químicas e biológicas dos mesmos, melhorando características como agregação, porosidade, fertilidade e atividade microbiana nos solos, entre outras. Os solos devem apresentar porosidade suficiente para a infiltração de água das chuvas e passagem de ar, favorecendo as trocas gasosas (macroporos) e para retenção de água (microporos).

Os componentes minerais dos solos são fracionados fisicamente conforme o tamanho de partícula em areia, com predomínio de quartzo (SiO_2), com diâmetro entre 0,05 a 2 mm; silte, contendo diversos minerais primários e secundários, com diâmetro entre 0,002 e 0,05 mm; e argila, com predomínio de minerais como a caulinita ($\text{Si}_4\text{Al}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$), com diâmetro menor que 0,002 mm. A proporção entre estas frações caracterizam a textura dos solos.

Propriedades como área de superfície específica (ASE), capacidade de troca catiônica (CTC), pegajosidade e plasticidade dos solos estão diretamente relacionadas com a fração argila.

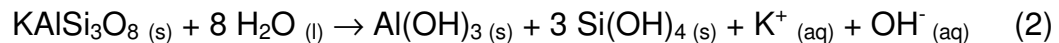
Na fração argila são encontrados os minerais secundários, produtos de reações do intemperismo químico de minerais primários. Estes últimos são originados nos processos geológicos de formação das rochas e quando nos solos, após ações do intemperismo físico, permanecem na fração areia.

As reações do intemperismo químico estão sujeitas às leis de equilíbrio químico e às oscilações das condições ambientais. Assim, se componentes, como a própria água, são retirados ou adicionados, as reações poderão ser aceleradas ou retardadas, ou seguir caminhos diferentes, gerando diferentes minerais secundários e diferentes soluções de lixiviação (TEIXEIRA *et al.*, 2003).

Na maior parte dos ambientes da superfície da Terra, as águas percolantes apresentam pH entre 5 e 9, onde predominam reações de hidratação, dissolução, hidrólise e oxidação.

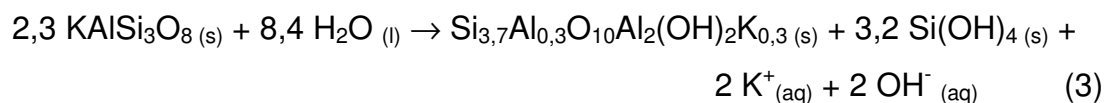
Os silicatos, principais minerais formadores das rochas, podem ser concebidos como sais de um ácido fraco (Si(OH)_4) e de bases fortes (NaOH , KOH , Ca(OH)_2 e Mg(OH)_2). Assim, em contato com a água, os silicatos sofrem hidrólise, resultando em solução alcalina.

Nas regiões do domínio tropical úmido, com precipitação abundante (superior a 1500 mm ano^{-1}) e vegetação exuberante, a associação mineral característica é de oxi-hidróxidos de ferro (goethita) e de alumínio (gibbsite) formados por processos de ferralitização ou alitização, onde toda a sílica, apesar de pouco solúvel na faixa de pH da hidrólise, é totalmente eliminada pela intensa lixiviação. A reação de hidrólise total de um feldspato de potássio resultando na formação da gibbsite pode ser assim representada:

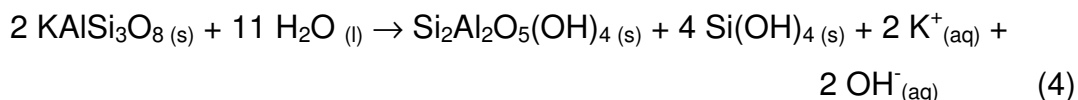


Dada a solubilidade do ácido silícico, a insolubilidade do hidróxido de alumínio, e a ocorrência de água em abundância, compreende-se a existência de gibbsite nos solos tropicais úmidos.

Já nas regiões do domínio tropical sub-úmido, com precipitação superior a 500 mm ano^{-1} e temperatura média anual superior a $15 \text{ }^\circ\text{C}$, os principais minerais formados são a caulinita e os oxi-hidróxidos de ferro (TEIXEIRA *et al.*, 2003). Em função de condições de drenagem menos eficientes, parte da sílica permanece no perfil do solo, podendo reagir com o hidróxido de alumínio e formar aluminossilicatos hidratados, chamados de argilominerais. Neste caso ocorre a hidrólise parcial do feldspato de potássio. Quando parte do potássio não é eliminado em solução, forma-se a esmectita, argilomineral 2:1 (relação Si:Al), pelo processo de bissialitização (dois átomos de silício para um de alumínio na molécula), como na formação da esmectita:



Ocorrendo eliminação total do K^+ em solução, forma-se a caulinita, com eliminação de 66 % de sílica e permanência de todo o hidróxido de alumínio:



O processo que origina argilominerais do tipo da caulinita, em que a relação de átomos de Si:Al é 1:1, é chamado de monossilitização.

Lateritas são formações superficiais constituídas por oxi-hidróxidos de alumínio e de ferro (alitização) e por caulinita (monossilitização). Ao conjunto de processos responsáveis por essas associações minerais dá-se o nome de laterização (alitização + monossilitização) (TEIXEIRA *et al.*, 2003).

Assim, solos brasileiros classificados como latossolos, são altamente evoluídos, laterizados, ricos em argilominerais 1:1 e oxi-hidróxidos de ferro e alumínio.

No estudo da interação de minerais de argila com herbicidas, seguiu-se duas estratégias (LOMBARDI, 2000). Na primeira, caracterizou-se o mineral de argila caulinita considerado de alta pureza, proveniente de jazida localizada no Estado do Pará, Brasil, que foi utilizado como modelo da ação dos minerais de solo tropical sub-úmido sobre as *s*-triazinas. Na segunda, caracterizou-se solos sintetizados, modelos de solos tropicais úmidos, partindo de Al(OH)_3 , ou gibsitita, para espécies mais complexas com presença de óxidos de ferro e ácido húmico, modelos dos óxidos metálicos que atuam sobre os mesmos herbicidas nos solos tropicais.

2.3 – CARACTERIZAÇÃO DA CAULINITA PP-0559 PROVENIENTE DA REGIÃO DA AMAZÔNIA COMO MODELO DE ARGILA DE SOLOS TROPICAIS

As caulinitas, de fórmula mínima $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$, são aluminossilicatos do tipo 1:1, constituídos de uma camada composta por octaedros de Al^{3+} e outra por tetraedros de Si^{4+} (Figura 4). São dioctaedrais, ou seja, a cada três sítios octaedrais na lamela um está vago. Os aluminossilicatos arranjados em camadas são também denominados de filossilicatos. Cada bicamada é ligada à próxima via forças de

ligações de hidrogênio OH---O na superfície de contato gibsitita – silicato. O tipo de ligação confere ao mineral maior energia de coesão, tornando baixa a sua capacidade de troca catiônica (CTC) e difíceis os processos de intercalação e organofuncionalização (GUIMARÃES *et al.*, 1998).

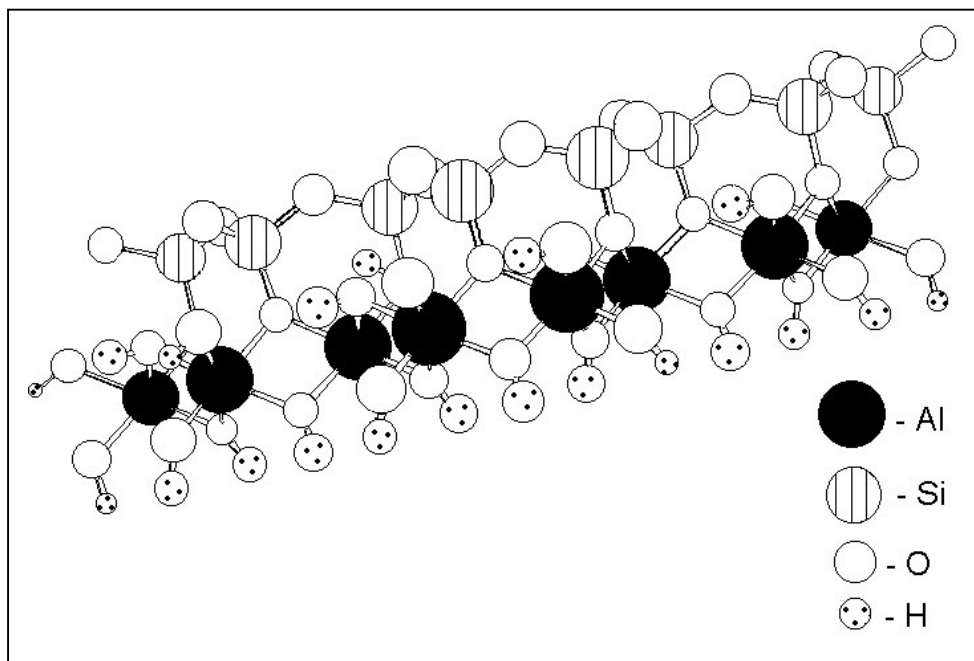


FIGURA 4 – ESQUEMA DA ESTRUTURA DA CAULINITA (LOMBARDI *et al.*, 2002).

As substituições isomórficas nos sítios tetraédricos ou octaédricos, com cátions de cargas diferentes das de Si^{4+} e/ou Al^{3+} são raras, resultando em pouca ou nenhuma carga permanente. Assim, a CTC e a ASE são muito baixas (SCHULZE, 1989). O íon ferro participa da estrutura da caulinita como principal impureza, onde o estado de valência e a posição atômica dependem das condições de formação do mineral (MULLER e CALAS, 1993). O Fe^{3+} pode substituir isomorficamente o Al^{3+} em posições octaédricas detectáveis por EPR (GAITE *et al.*, 1997). O ferro pode estar, também, adsorvido na superfície da caulinita na forma de oxi-hidróxido de Fe^{3+} .

Na caracterização estrutural e morfológica da caulinita PP-0559, da Amazônia brasileira (LOMBARDI *et al.*, 2002), o difratograma de raios-x de pó (Figura 5) apresentou somente picos de difração relativos ao seu plano basal, caracterizando perfeito empilhamento das lamelas, com distância basal, $d(001)$, de 0,716 nm.

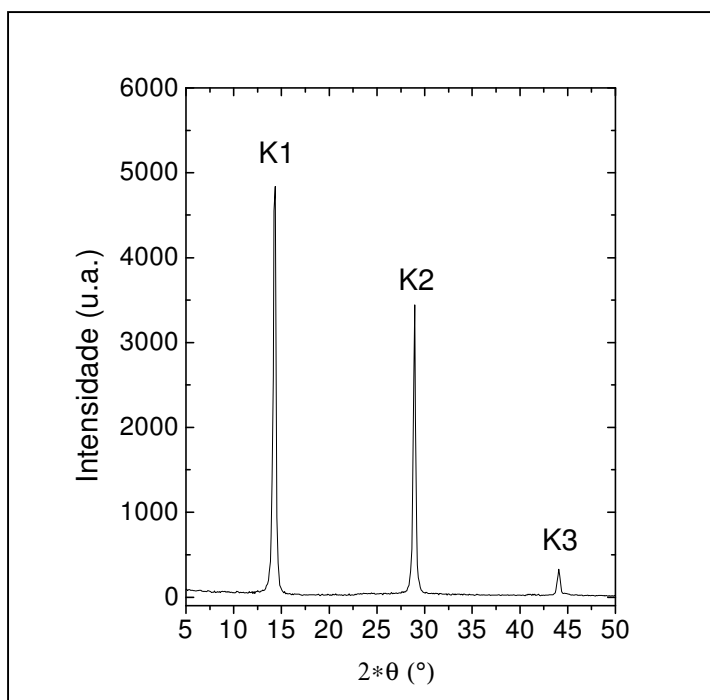


FIGURA 5 - DIFRATOGRAMA DE RAIOS-X DE PÓ DA CAULINITA PP-0559. (FONTE: GARDOLINSKI *et al.*, 1999; LOMBARDI *et al.*, 2002).

A caulinita apresenta estrutura triclinica, onde os eixos a e b da célula unitária cristalina coincidem com o plano da lamela, enquanto o eixo c não é colinear com o normal ao plano da lamela. É formada por lâminas monocristalinas bem definidas e mais espessas que 2 μm .

O espectro de FTIR da amostra caulinita PP-0559 (Figura 6) corresponde à amostra de alto grau de cristalinidade, devido às posições e intensidades relativas das bandas de estiramento OH (ver inserção na Fig. 6). Atribui-se a banda em aproximadamente 3620 cm^{-1} a vibrações de grupos OH internos e a banda em torno de 3700 cm^{-1} a vibrações de grupos OH da superfície interna, encontradas em todos os minerais do grupo dos caulins. Desordem na cristalinidade da caulinita seria detectada nesta região se o dublete de linhas em 3669 e 3651 cm^{-1} fosse substituído por uma linha larga simples em 3653 cm^{-1} (RUSSELL e FRASER, 1994).

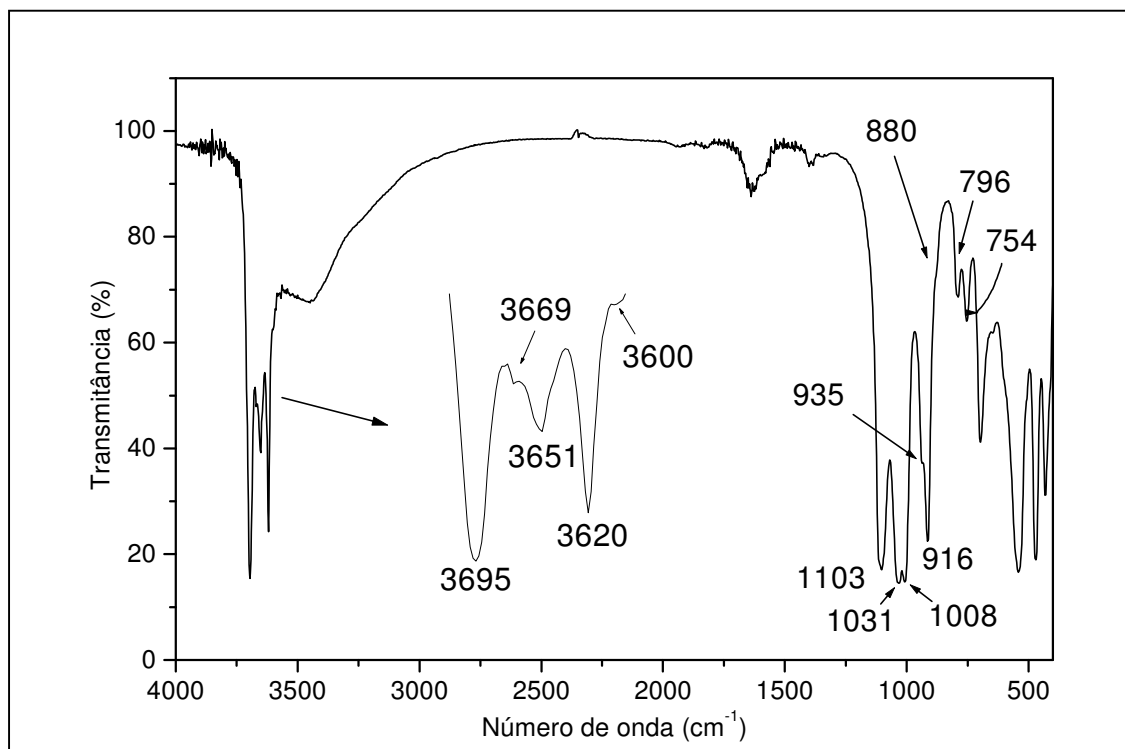


FIGURA 6 - ESPECTRO DE FTIR DA CAULINITA PP-0559 (LOMBARDI, 2000).

As vibrações encontradas em números de onda menores que 1200 cm^{-1} são semelhantes para todos os caulins. Um exemplo é dado pelas bandas de deformação angular, M-O-H em 938 e 916 cm^{-1} , decorrentes de vibrações de grupos OH internos e de superfície interna, respectivamente. RUSSELL e FRASER (1994) citam que uma região útil para distinguir uma caulinita bem cristalizada de uma haloisita, mineral de mesma fórmula química que a caulinita, mas em sistema cristalino monoclinico, está entre 750 e 800 cm^{-1} . Na caulinita as intensidades das bandas em 754 e 796 cm^{-1} são quase iguais, enquanto que, para a haloisita, a banda em 796 cm^{-1} reduz-se a uma fraca inflexão. Quando a caulinita apresenta desordens na cristalinidade, essas intensidades relativas têm valores intermediários.

Bandas fracas em 3600 cm^{-1} , e outra correspondente em 880 cm^{-1} , têm sido interpretadas como resultado de vibrações de estiramento e deformação de OH, respectivamente, de grupos $\text{Al}^{3+}\text{-O-Fe}^{3+}\text{-OH}$ correspondentes à substituição do Al^{3+} em sítio octaédrico por Fe^{3+} na estrutura da caulinita, isto é, associada com caulins de baixa cristalinidade (RUSSELL e FRASER, 1994), ou com caulinitas bem cristalizadas de origem laterítica (RUSSELL e FRASER, 1994). Essas mesmas

bandas são reveladas por análise no infravermelho com alta resolução em caulins diversos, independente da origem e conteúdo de Fe total das amostras, confirmando suas atribuições à presença de Fe^{3+} em ambiente octaédrico na estrutura da caulinita, logo ligado a grupos O-H (DELINEAU *et al.*, 1994).

No espectro de EPR, a presença de Fe^{3+} em ambiente octaédrico na estrutura da caulinita pode ser identificada pelas 4 linhas com valores de g iguais a 9,0, 5,0, 4,3 e 3,5 (Figura 7), características de caulinitas de alta cristalinidade, na região de campo magnético de 500 a 2500 Gauss (G), conhecida como de domínios diluídos de íons Fe^{3+} (BALAN *et al.*, 2000). Este grupo de linhas pertence a dois centros de simetria de íons Fe^{3+} , dentro da estrutura da caulinita. O centro I, ou, centro $\text{Fe}^{3+}_{(I)}$, com linhas em $g = 4,3$ e $g = 9,0$, é atribuído a íons Fe^{3+} em sítio onde a relação entre os parâmetros de campo cristalino E (distorção rômica) e D (distorção axial), definida por λ , é igual a 0,33 (AASA, 1970; GOODMAN e HALL, 1994). Este centro de Fe^{3+} , com máxima distorção rômica, está associado a defeitos na estrutura das caulinitas, ou a abaixamentos de simetria causados pela ruptura de ligações de hidrogênio entre camadas, comuns a caulinitas Fe-substituídas, pobremente ordenadas, típicas de oxissolos (MOLINARI, 1992). O outro conjunto de linhas de EPR, com $g = 3,5$ e $g = 5,0$, está associado ao centro paramagnético II, ou $\text{Fe}^{3+}_{(II)}$, e é atribuído a complexos de íons Fe^{3+} em estruturas mais simétricas, com $\lambda = 0,22$, portanto, com menor valor de E (AASA, 1970).

O espectro em 5000 G também apresenta linha larga ($g \sim 2$, $\Delta H_{pp} > 500$ G), característica de interações dipolo-dipolo entre íons Fe^{3+} . Esta região é denominada de domínios concentrados de ferro (BALAN *et al.*, 2000). Dentro desta região encontram-se as linhas dos defeitos induzidos por radiação (DIR), os centros A, A' e B, que são correspondentes a centros paramagnéticos devidos a buracos de elétrons, ou vacâncias, em ligações Si-O (A e A') e Al-O (B) da estrutura da caulinita.

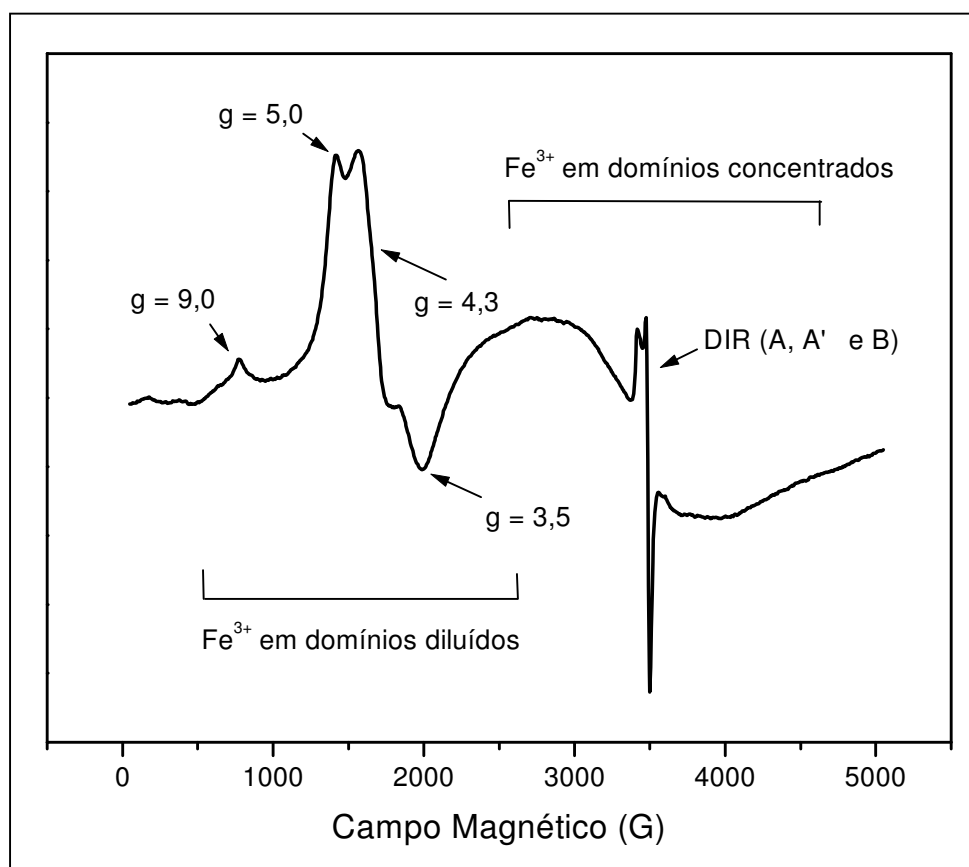


FIGURA 7 - ESPECTRO DE EPR DE PÓ EM TUBO DE QUARTZO DA CAULINITA PP-0559 REGISTRADO A TEMPERATURA AMBIENTE EM PRIMEIRA DERIVADA (LOMBARDI *et al.*, 2002).

2.4 – ÓXIDOS DE ALUMÍNIO E FERRO SINTÉTICOS COMO MODELOS DE ÓXIDOS METÁLICOS DE SOLOS TROPICAIS

Modelos de solos a partir de soluções de nitrato de alumínio ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$), de nitrato de ferro ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) e de hidróxido de sódio (1 mol L^{-1}) e um ácido húmico (AH) (composição elementar: 50,2 % de carbono, 3,0 % de hidrogênio, 2,1 % de nitrogênio e 19,4 % de cinzas) foram preparados em laboratório (LOMBARDI, 2000). Os difratogramas dos modelos de solos que apresentaram formação de estruturas do tipo gibsite e baierita são mostrados na figura 8: 1 – hidróxido de alumínio com 1 % de ferro; 2 - hidróxido de alumínio com 0,5 % de ferro e 10 % de AH; 3 - hidróxido de alumínio com 0,5 % de ferro e 4 - hidróxido de alumínio com 1 % de ferro. São identificados os picos de difração característicos dos minerais gibsite e baierita, que são espécies polimórficas de $\text{Al}(\text{OH})_3$, em estrutura octaédrica, diferindo no empilhamento de suas unidades (HSU, 1989).

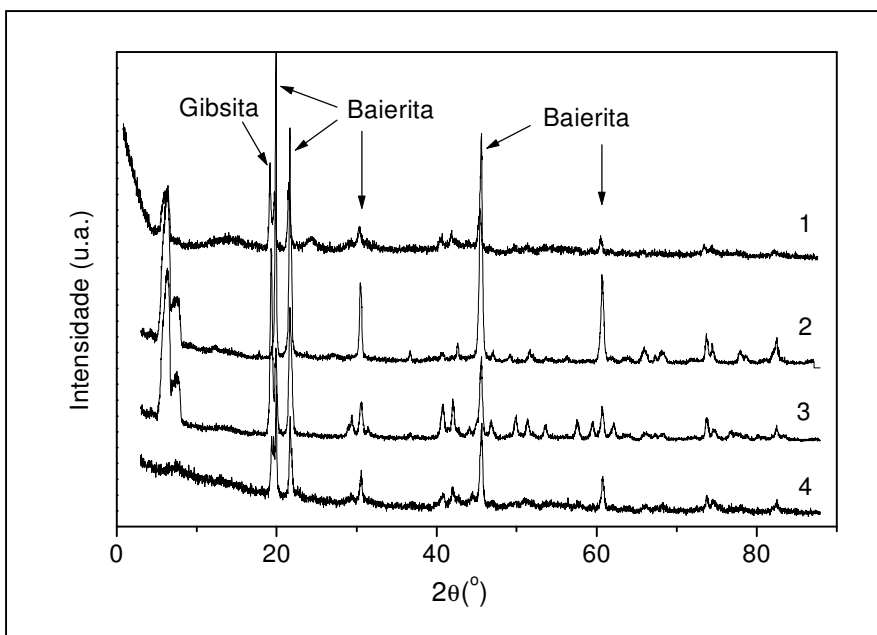


FIGURA 8 – DIFRATOGRAMAS DE RAIOS-X DE PÓ DOS MODELOS DE SOLOS: 1 – HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 1 % DE FERRO; 2 - HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 0,5 % DE FERRO E 10 % DE AH; 3 - HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 0,5 % DE FERRO E 4 - HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 1 % DE FERRO (LOMBARDI, 2000).

O pico relativo a gibsita é mais intenso no difratograma do modelo 3, seguido pelos modelos 1 e 4. O modelo 2 não apresentou o pico para a gibsita. Espectros no FTIR confirmam a presença de gibsita nos modelos 1 e 3 por um quarteto de bandas em 3620, 3527, 3464 e 3380 cm^{-1} e banda de deformação OH em 1017 cm^{-1} (RUSSELL e FRASER, 1994; HSU, 1989). Assim, a melhor organização estrutural, com a formação da gibsita, ocorreu quando foram utilizadas menores quantidades de nitrato de ferro (5 %) sem a presença de ácido húmico na síntese dos modelos.

Todos os espectros de EPR (Figura 9) apresentam linhas características de íons Fe^{3+} , sendo que os modelos 2 e 3 (ambos com 0,5 % de ferro) apresentam número maior de sítios com diferentes simetrias para Fe^{3+} , identificados pelos diferentes valores de g (GOODMAN e HALL, 1994) em domínios diluídos.

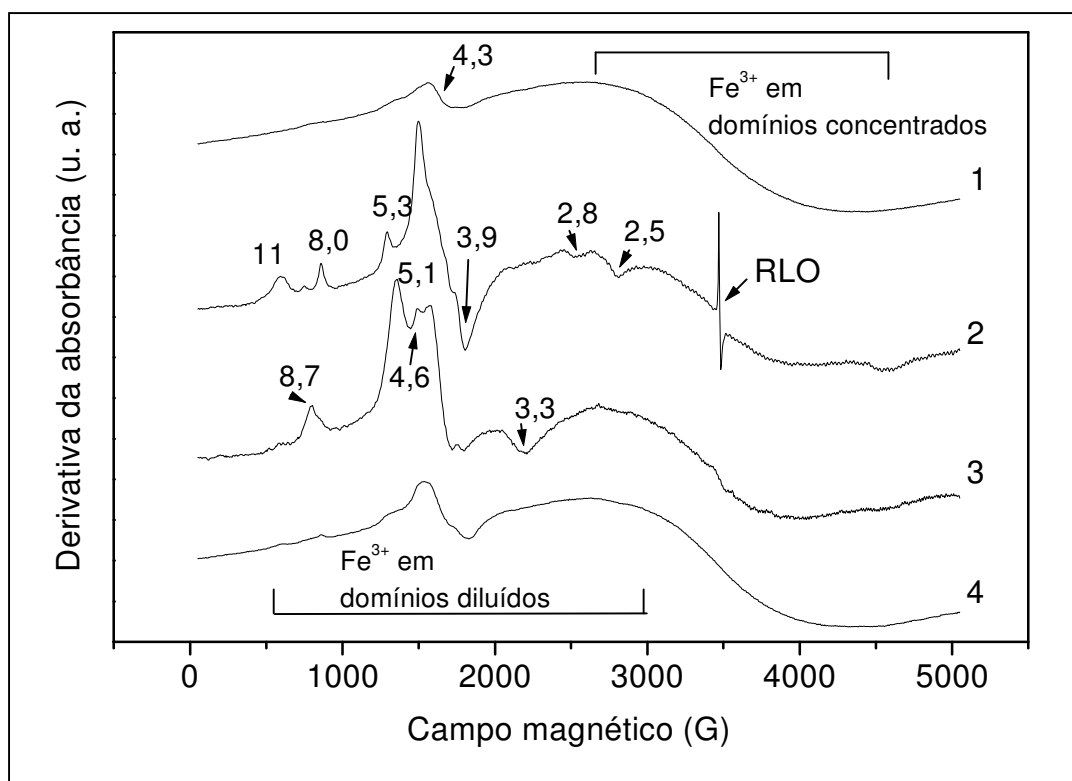


FIGURA 9 – ESPECTROS DE EPR DOS MODELOS DE SOLOS: 1 – HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 1 % DE FERRO; 2 - HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 0,5 % DE FERRO E 10 % DE AH; 3 - HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 0,5 % DE FERRO E 4 - HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COM 1 % DE FERRO (LOMBARDI, 2000).

O modelo 3 apresentou as linhas características dos sítios I ($g = 4,3$) e II ($g = 7,9; 5,1$ e $3,8$) para Fe^{3+} que o espectro da caulinita também apresenta, porém, distingui-se outro conjunto de valores de g ($11,0; 8,7; 4,6$ e $3,3$) que podem contribuir como sinal anisotrópico de Fe^{3+} em outro sítio de simetria. Cristais de gibsita apresentam hábito de crescimento lamelares a tabulares de contornos pseudo-hexagonais (<http://www.rc.unesp.br/museudpm/banco/grm.html>, acessado em 23/04/05). Esta semelhança entre os espectros da caulinita e do modelo 3, sugere que houve formação de gibsita na forma lamelar, com os íons Fe^{3+} substituindo sítios de Al^{3+} em domínios diluídos. Essa formação foi favorecida pela presença de menor quantidade de nitrato de ferro na síntese do modelo. Os modelos 1 e 4 mostram linha larga de interações dipolo-dipolo entre íons Fe^{3+} , na região de domínios concentrados de ferro (BALAN *et al.*, 2000). Esta linha de interação ferromagnética com $g \sim 2$ tende a aumentar com a adição de ferro na preparação dos modelos. Por sua vez, este aumento é inibido com a adição de AH. O modelo 2

apresenta sinal de radical livre orgânico (RLO) no espectro, com $g = 2,0057$, do tipo semi-quinona, típico de matéria orgânica de solos.

Os modelos de solos foram submetidos a reações com atrazina em formulação técnica (1 e 2) e em formulação comercial (3 e 4). Resultados tais como diminuição da relação das intensidades dos picos (4,3/5,0) e diminuição da largura da linha de interação ferromagnética quando da reação com herbicida na formulação técnica e uma nova linha com $g = 2,0147$ com largura de linha maior que 5 G, característica de radical livre formado nas vizinhanças de íons ferro quando da reação com herbicida comercial estimulam a pesquisa sobre os mecanismos de interação ou degradação do herbicida com o solo (LOMBARDI, 2000).

2.5 – A IMPORTÂNCIA DOS SOLOS NO SEQÜESTRO DE CARBONO

O potencial para seqüestrar carbono de qualquer solo depende da sua capacidade de estocar componentes resistentes de plantas em médio prazo e de proteger e acumular substâncias húmicas (SH), a fração mais recalcitrante da matéria orgânica (MO) do solo, formadas pelas transformações de materiais orgânicos no ambiente dos solos. A formação das SH depende de características intrínsecas de cada solo, como a vegetação que suporta, profundidade, drenagem, disponibilidade de água e ar, temperatura e composição mineralógica. Este potencial também depende das características químicas da MO dos solos e sua resistência à decomposição microbiana. GATES *et al.* (1983) indicam que existem incertezas com relação ao estoque de C nos ecossistemas terrestres do nosso planeta, onde os maiores erros estão nas estimativas de quantidades de C nas substâncias húmicas, o que significa dizer, incertezas quanto às estruturas químicas da MO.

Os fatores que favorecem a resistência da MO à degradação podem ser químicos, como a formação de estruturas do tipo hidrocarbonetos de cadeias longas, ou físicos, como a interação da MO dos solos com colóides e/ou a formação de agregados com a fração inorgânica dos solos (PICCOLO, 1996, SWIFT, 2001, HAYES e CLAPP, 2001, DENEFF *et al.*, 2001).

Nos solos, como um sistema dinâmico em formação, prevê-se a interação física e química da matéria orgânica com a fração mineral, podendo ser mediada também biologicamente. Quimicamente, essa interação ocorreria através de forças

de Van der Waals, ligações de hidrogênio, troca de ligantes, ligações mediadas por cátions e/ou oxi-hidróxidos (STEVENSON, 1982).

O modelo de Jenkinson (Tabela 1) apresenta a contribuição da proteção física e estabilização química da MO nos solos para o armazenamento do carbono.

TABELA 1 - TEMPO MÉDIO DE RESIDÊNCIA DA MO (ANOS) - MODELO DE JENKINSON.

Componente orgânico	Tempo de residência (anos)
Material de planta prontamente degradável	0,2
Material de planta resistente	3,3
Biomassa microbiana	2,4
Matéria orgânica protegida fisicamente	71
Matéria orgânica estabilizada quimicamente	2900

Fonte: Piccolo, A., Humic Substances in Terrestrial Ecosystems, 1996.

KENNEDY, M. J. *et al.*, 2002, mostraram que 85% da variação do carbono orgânico total pode ser relacionada com a área da superfície mineral de sedimentos marinhos, indicando o importante papel da adsorção de compostos de C nas superfícies de minerais de argila na preservação do C orgânicos nos solos de origem sedimentar.

Assim, torna-se importante o reconhecimento de estruturas minerais componentes dos solos e das impurezas de MO recalcitrantes nessas estruturas como modelo de seqüestro de carbono.

2.6 – PARTICIPAÇÃO DOS FUNGOS NA FORMAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA DOS SOLOS

O crescimento das atividades agrícolas e da indústria florestal tem como efeito o aumento dos níveis de poluição ambiental causado pelo acúmulo de resíduos dessas atividades. Processos que busquem a transformação desses resíduos para produzir insumos para as próprias atividades agrícolas, minimizando o efeito poluidor, são importantes para a sustentabilidade da produção e para a segurança ambiental.

Em trabalhos anteriores, procurou-se realizar pesquisa básica com vistas ao desenvolvimento de processo de transformação adequada de esterco de diferentes

animais, fonte poluidora importante, em fertilizantes orgânicos para solos (GUIMARÃES *et al.*, 1997).

Os fertilizantes orgânicos naturais dos solos são formados a partir da transformação da biomassa vegetal por processos químicos e bioquímicos moldados evolutivamente ao longo dos tempos. Um dos processos de transformação dos resíduos vegetais em fertilizantes orgânicos ou compostos mais estáveis nos solos (MO humificada) é a compostagem.

A compostagem pode ser definida como uma decomposição e estabilização biológica de substratos sob condições que permitam o desenvolvimento de temperaturas termofílicas, ou seja, temperaturas onde há um predomínio de microrganismos termófilos, cerca de 50-55 °C, como resultado da atividade microbiana. O material formado, denominado composto, é suficientemente estável para o armazenamento e aplicação agrícola sem efeitos adversos ao meio ambiente.

A compostagem é uma alternativa para o reaproveitamento de resíduos orgânicos oferecendo a vantagem de obter rapidamente, e em melhores condições, a estabilização da matéria orgânica desejada, além de agir de forma eficiente na eliminação de microrganismos patogênicos, levando a um produto final de boa qualidade agronômica.

Recentemente, foram realizados trabalhos de caracterização de ácidos húmicos extraídos de diferentes fases durante o processo de compostagem de resíduos orgânicos (restos vegetais, serragem e lodo biológico) em sistemas com reatores de bancadas (PAIXÃO, 2004) e industriais (MAIA, 2004).

Outro processo de transformação que ocorre nas etapas iniciais da formação das substâncias húmicas, componente principal da matéria orgânica do ambiente, é a atuação dos microrganismos do solo, principalmente fungos melanogênicos e actinomicetos, sobre a biomassa transformando-a nas chamadas melaninas do solo. A partir de espécies químicas relativamente simples como glicose (fonte de carbono), nitrato ou peptona (fonte de nitrogênio) e nutrientes inorgânicos como os íons K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , HPO_4^{2-} , SO_4^{2-} , Mn^{2+} , Fe^{3+} e Zn^{2+} , utilizados no preparo de meios de cultura para crescimento de fungos, foram estudadas as estruturas químicas de melaninas formadas por diversos fungos melanogênicos e actinomicetos extraídos de solos do Cerrado Brasileiro. As estruturas químicas das melaninas produzidas por estes microrganismos foram comparadas com as de ácidos húmicos extraídos dos

mesmos solos. Ao contrário do que se dizia até então, verificou-se que os microorganismos são tão, ou mais importantes, no estabelecimento das estruturas químicas desses materiais que a própria biomassa verde de origem (PAIM *et al.*, 1990; GOMES *et al.*, 1996).

Em continuidade ao estudo com melaninas de actinomicetos, verificou-se que as estruturas de porfirinas em ácidos húmicos, além de serem resultado do decaimento de clorofila de plantas, o que se acreditava até então, são também produto da síntese por parte desses microrganismos (MANGRICH *et al.*, 1998).

Prepararam-se melaninas também por processos abióticos. As estruturas de melaninas preparadas a partir da oxidação da L-dopa por quatro tipos diferentes de oxidantes químicos, O_2 , H_2O_2 , $K_3[Fe(CN)_6]$ e $MnPO_4$, foram estudadas por métodos químicos e espectroscópicos (STAINSACK *et al.*, 2003). Por análise de C, H e N e determinação de grupos ácidos carboxílicos e fenólicos verificou-se que o pirofosfato de manganês (III) foi o oxidante mais efetivo e o oxigênio do ar o menos efetivo. Dados de espectroscopia de EPR mostraram a capacidade da melanina formada em degradar o sistema $[Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}$.

O cultivo de certas espécies de cogumelos apresenta-se como promissora alternativa na transformação de resíduos vegetais. Os cogumelos são macrofungos que compõem aproximadamente 12.000 espécies e apresentam capacidade de bioconversão de resíduos lignocelulósicos, tanto florestais como agrícolas. Sabe-se que mais de 70% da biomassa produzida no processo agrícola e florestal é considerada residual. Muitas das espécies de cogumelos são comestíveis. Das 35 espécies conhecidas de cogumelos comestíveis, sete ou oito são cultivadas comercialmente. Outra importante atribuição dos cogumelos é sua propriedade medicinal. O consumo regular de seus extratos pode melhorar o sistema imunológico aumentando a resistência a doenças e até causando regressão de enfermidades. Alguns compostos já foram identificados como promotores de efeitos antitumorais, antibióticos, cardiovasculares e modulantes imunológicos (WASSER e WEIS, 1999).

Os cogumelos podem também sintetizar melaninas, que são objeto de intensas pesquisas na indústria farmacêutica para usos em protetores solares e cosméticos, e, também, no estudo do comportamento e colaboração dessas no desenvolvimento de doenças como câncer de pele, Parkinson e surdez (STAINSACK, 1998).

No Brasil, encontram-se espécies nativas de cogumelos com grande potencial de contribuição para o seu desenvolvimento no sentido de prover alimentos (cultivo de cogumelos comestíveis) e reduzir a poluição ambiental (compostagem de resíduos vegetais), melhorando as condições de saúde.

Alguns cogumelos se desenvolvem nos solos, como é o caso do *Boletiniellus rompelii*, e outros sobre compostos, ou seja, sobre resíduos vegetais já compostados por microrganismos termófilos, é o caso do *Agaricus brasiliensis* (Figura 10).



FIGURA 10 – FOTOS DOS COGUMELOS *Agaricus brasiliensis* E *Boletiniellus rompelii*.

O *Agaricus brasiliensis*, nova classificação do *Agaricus blazei*, conhecido como “Cogumelo do sol”, é um macrofungo com propriedades antitumorais (MIZUNO *et al.*, 1999, 1998; FUJIMIYA *et al.*, 1998) e antimutagênicas (OSAKI *et al.*, 1994), com efeitos profiláticos no tratamento de doenças de hipertensão (EGUCHI *et al.*, 1999).

Pesquisas relacionadas à formação de melaninas durante o desenvolvimento de alguns cogumelos comestíveis, principalmente no período de corte para a comercialização, são conduzidas com o objetivo de poder interferir e evitar o processo de sua formação, uma vez que o escurecimento desvaloriza comercialmente o produto final (JOLIVET *et al.*, 1998; KAHN *et al.*, 1998, KAHN e BENSALOM, 1997, KAHN, 1995). Assim como esses cogumelos na fase de fruto sintetizam melaninas, poderiam sintetizar na forma vegetativa de micélio, liberando esses metabólitos no meio de cultivo.

Alguns trabalhos reportam a utilização da enzima tirosinase de origem fúngica (cogumelos) em processos de oxidação química e enzimática de compostos do tipo

quinonas como precursores na formação de melaninas (ROSEI, 1996; ROSEI e MOSCA, 1995; JACOBSON *et al.*, 1991).

O *Boletinelus rompelii* é um fungo encontrado na região de São José dos Pinhais, PR, e apresenta perspectivas econômicas favoráveis nos aspectos comestíveis e/ou farmacológicos. Estudos são necessários para evidenciar seu valor.

Nos solos, os fungos também são importantes agentes de agregação de partículas, formando os agregados.

Agregados de solo são formados por uma combinação ou arranjo espacial de suas partículas primárias (areia, silte, argila, cascalho) produzindo “torrões” ou partículas porosas maiores (como torrões ou blocos). A estabilidade à deformação e tipo de acomodação entre as partículas que compõe os agregados definem uma propriedade importante do solo que é a sua estruturação, que pode ser descrita em termos de grau, forma e classe dos agregados de solo, e está relacionada à estabilidade, porosidade e infiltração de água no solo. Solos bem estruturados absorvem rapidamente a água mesmo depois de longos períodos da chuva, por isso são mais resistentes ao escoamento superficial. Os seus agregados são estáveis e, portanto, não se desmancham com o impacto das gotas de chuva. Formam grandes blocos de partículas que não são arrastados pela água da chuva. As partículas menores também não são arrastadas, nem por escoamento superficial (escoamento horizontal), nem por lixiviação. Eles têm também boas correlações entre ar/água/solo para o crescimento das plantas. (CAETANO, 2003).

2.7 – MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS

2.7.1 - Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica - EPR

A ressonância paramagnética eletrônica (“electron paramagnetic resonance” - EPR) trata da investigação de moléculas ou íons com elétrons desemparelhados, que na presença de campo magnético e radiação eletromagnética monocromática na faixa das microondas entram em ressonância. Os campos magnéticos são da ordem de 3000 gauss e correspondem a ressonâncias com campos magnéticos de

freqüência de 10 GHz e comprimento de onda de 3 cm (microondas) (ATKINS, 1999).

O spin do elétron e sua associação com o momento magnético (possivelmente com a contribuição do momento angular) são as bases da espectroscopia de EPR. Na presença de um campo magnético H, uma molécula ou íon, tendo um elétron desemparelhado, tem dois níveis de energia dados pela equação:

$$E = g \beta H m_s \quad (5)$$

Onde β é o magnéton de Bohr, m_s é o numero quântico de spin (+1/2 ou -1/2) e g é o fator de proporcionalidade igual a 2,0023 para o elétron livre. Para radicais este valor é muito próximo do valor do elétron livre, mas para os metais de transição os acoplamentos spin - órbita e desdobramento do campo zero podem levar a variações maiores do valor de g (EBSWORTH *et al.*, 1991).

A técnica de EPR é capaz de fornecer informações estruturais sobre a formação de complexos dos íons metálicos com as substâncias húmicas. Pode também detectar radicais livres e fornecer parâmetros espectroscópicos que se correlacionam com o grau de humificação da matéria orgânica (GUIMARÃES *et al.*, 2001).

2.7.2 - Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier - FTIR

A interação da radiação infravermelha com uma molécula envolve a interação de um componente oscilante do campo elétrico da radiação com o momento dipolo oscilante da molécula. Assim, para moléculas absorverem radiação infravermelha como energia de excitação vibracional é necessário haver mudança em seu momento dipolo (SOLOMONS, 1996) e quando há esta modificação, os compostos absorvem radiação em certas regiões do espectro. O estiramento de moléculas diatômicas homonucleares não possui absorção no infravermelho.

As análises de FTIR têm sido usadas nos estudos de macromoléculas orgânicas complexas como as substâncias húmicas (STEVENSON, 1982).

GUIMARÃES, 1997. SCHNITZER, 1971), na identificação de grupos funcionais, como ácidos carboxílicos, aminas, amidas, grupos alifáticos e grupos hidroxilas. Com relação a essas questões, a espectroscopia no infravermelho tem sido muito útil no estudo de melaninas. LOGANATHAN *et al.*, 1999, caracterizaram a melanina de esporos de um fungo causador de mofo por métodos químicos e físicos, onde o espectro de IV indicou a presença de grupos hidroxilas, carboxilas e carbonilas e os espectros de UV, IV e EPR mostraram-se semelhantes aos da melanina padrão produzida pela oxidação da dihidroxifenilalanina (DOPA). Tem sido usada também para avaliações dos efeitos dos extratores químicos utilizados e o grau de pureza alcançado através dos processos de purificação (PAIM *et al.*, 1990).

2.7.3 - Espectroscopia eletrônica - UV-VIS

A espectroscopia de UV-VIS trata da absorção da radiação de onda no visível e no ultravioleta para promoção de elétrons para níveis de energia mais elevados na molécula (VOGEL, 1992).

Os espectros de UV-Vis são fundamentais para se ter informações sobre o grau de humificação e sobre a biomassa de origem quando se trata de frações húmicas do solo. Usa-se a razão E2/E4 para avaliar se a biomassa é de origem terrestre (maior absorção em 270 nm – E2) ou de origem marinha (maior absorção em 407 nm – E4). O grau de humificação é avaliado pela razão E4/E6 (absorção em 465 nm – E4 e absorção em 665 nm – E6), onde o teor de estruturas aromáticas, ou o grau de humificação são inversamente proporcionais a razão E4/E6. No caso de melaninas, a razão E4/E6 é utilizada na avaliação do grau de condensação e/ou conjugação de suas estruturas.

2.7.4 - Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS) ou espectroscopia para análise química elementar (ESCA)

A técnica de análise por XPS é utilizada para identificação de energias de transições eletrônicas próximas do núcleo dos átomos, e de outros parâmetros físicos, ou para identificar elementos químicos presentes nas amostras, quando é chamada de ESCA (electron spectroscopy for chemical analysis). Para evitar

detalhamentos cansativos, será chamada sempre de espectroscopia de XPS. Ela permite também determinar os grupos funcionais, o estado de oxidação e a carga efetiva do elemento químico em estudo. É aplicada a todos os elementos, exceto o H e o He. Muito utilizada para o estudo de superfícies sólidas (incluindo monocamadas), adsorção, catálise, corrosão e difusão. O efeito fotoeletrônico é o principal fenômeno que ocorre durante as análises. Um fóton de raios-X, de energia $h\nu$, penetra na superfície da amostra e é absorvido por um elétron com uma dada energia de ligação, E_{lig} , em um átomo não excitado neutro. Esse elétron então é extraído, dando origem a um átomo em estado ionizado, emerge da superfície com a energia cinética, E_k , depois de perder para a mesma uma energia igual à função trabalho, Φ . A energia cinética dos fotoelétrons é medida indiretamente, através da energia necessária para a desaceleração até determinada corrente de passagem no analisador. Esse valor caracteriza o elemento químico de onde o elétron foi extraído, seu estado de oxidação, sua envolvente atômica (esfera de coordenação) e é proporcional à quantidade do elemento presente na amostra. A distribuição de energia dos elétrons foto-emitidos refletirá a distribuição dos estados eletrônicos na superfície do material com um característico deslocamento em energia.

A energia total de excitação ($h\nu$) será igual a energia de ligação (E_{lig}), necessária para retirada do elétron da camada mais interna, mais a energia cinética com a qual o elétron é ejetado, mais as perdas de energia dos raios-X, devido às absorções de energia da amostra e do equipamento, correspondente a seguinte equação de balanço de energia:

$$h\nu = E_{lig} + E_k + \Phi \quad (6)$$

Φ , como já foi dito, representa a função de trabalho, $h\nu$ é a energia do feixe de raios-X, e E_k é a energia cinética. A equação acima permite calcular a energia de ligação (E_{lig}) do elétron ejetado das camadas mais internas do átomo (NEFEDOV, 1988), mas é uma equação simplificada. Uma descrição realista é bem mais complexa porque implica na resolução de um problema de muitos elementos com n elétrons no estado inicial e $n-1$ elétrons, mais um buraco em um nível de energia no estado final (devido à perda de elétrons nas subcamadas mais internas). Esses

estados, representados por funções de onda de muitos elétrons, envolvem interações de diferentes elétrons uns com os outros e com os núcleos, que abre a possibilidade para que ocorram processos de relaxação de energia ao longo de toda a vizinhança inicialmente afetada pela absorção do fóton incidente. Portanto, a aproximação de um único elétron que despreza todas as correlações eletrônicas é bastante simplificada.

2.8 - CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO EM VIDRO POROSO

Este tipo de cromatografia líquida permite a separação das substâncias em função dos respectivos tamanhos e formas moleculares. A fase estacionária da cromatografia de exclusão, ou por permeação em gel, é constituída por materiais porosos com os tamanhos dos poros estreitamente controlados. O mecanismo primário da retenção das moléculas do soluto é o da diferença de penetração (ou de permeação) de cada molécula do soluto no interior das partículas do vidro. As moléculas que forem muito grandes serão efetivamente excluídas de certos poros do vidro e passarão pela coluna principalmente através do volume líquido intersticial. As moléculas menores podem entrar no interior das partículas do vidro, de acordo com os respectivos tamanhos e com a distribuição dos tamanhos dos poros que lhes são oferecidos, e são retidas por tempo maior.

Atualmente há uma intensa e estimulante discussão no meio científico sobre a estrutura, forma e tamanho das moléculas de substâncias húmicas (SH) e, em diversos artigos que sustentam esta discussão, foram empregados o fracionamento e a análise de substâncias húmicas utilizando a cromatografia de exclusão por tamanho (NOVOTNY, 2002).

2.9 – CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESPECTROSCÓPICA DE MELANINAS

BERDY, 1985, relata o valor prático da classificação de metabólitos fúngicos (antibióticos) de acordo com suas propriedades físicas e químicas segundo análise elementar, espectros de UV e IV, grupos funcionais, massa molecular, estruturas químicas. Adverte também para a importância, nos processos de caracterização e isolamento, da classificação de acordo com solubilidade, características ácido-base, extração do filtrado por vários solventes em diferentes valores de pH, absorção em resina de troca iônica ou outros sorventes.

Diversos metabólitos fúngicos são determinados e/ou caracterizados por técnicas como ressonância magnética nuclear (NMR) (HIROTANI *et al.*, 2000), espectroscopia de ultravioleta-visível (UV-Vis) (ROSEI *et al.*, 1995; YANG *et al.*, 1995), espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR) (SEALY *et al.*, 1984; MANGRICH *et al.*, 1998), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) (PIERCE e RAST, 1995), espectrometria de massa (ROSEI *et al.*, 2000; ALLEGRI *et al.*, 1996; BERTAZZO *et al.*, 1994) e pelo conjunto dessas (FINDLAY e HE, 1991; KAMALOV *et al.*, 2000).

LOGANATHAN e KALYNASUNDARAM, 1999, caracterizaram a melanina de esporos de um fungo causador de mofo por métodos químicos e físicos, onde o espectro de IV indicou a presença de grupos hidroxilas, carboxilas e carbonilas e os espectros de UV, IV e EPR mostraram-se semelhantes aos da melanina padrão produzida pela oxidação da di-hidroxifenilalanina (DOPA). STAINSACK *et al.*, 2003, caracterizaram sítios de complexação de metais em melaninas sintéticas obtidas pela oxidação da L-DOPA.

Estudos químicos e espectroscópicos comparando melaninas de fungos e ácidos húmicos de solos são encontrados a partir de 1974 (FILIP *et al.*, 1974).

LINHARES *et al.*, 1997 e 1998, discutiram uma possível participação de melaninas de actinomicetos na formação de substâncias húmicas de solos quando determinaram, por cromatografia gasosa-líquida de capilaridade, o conteúdo de açúcares em melaninas de nove actinomicetos e os ácidos húmicos dos mesmos solos brasileiros pela semelhança entre as estruturas.

A estrutura química de um ácido húmico sintético ou melanina sintética obtida por polimerização oxidativa de hidroquinona ou para-benzoquinona em solução

alcalina foi determinada por análise elementar, NMR de ^1H , espectroscopias de FTIR e eletrônica. Obteve-se um material poli (hidroxihidroquinona-hidrobenzoquinona) tendo as unidades monoméricas conectadas na posição orto e, portanto, uma coluna poli (orto-fenilena), com semelhanças químicas em relação aos ácidos húmicos e melaninas naturais (CATALDO, 1998).

Caracterizando melaninas fúngicas e ácidos húmicos de solos por análise química e espectroscopia de IV, PAIM *et al.*, 1990, relatam que os espectros de IV das melaninas apresentam mais informações de grupos funcionais distintos. Bandas mais intensas em 2940 e 2870 cm^{-1} e moderadas em 1450 e 1380 cm^{-1} indicam forte caráter alifático, enquanto que bandas em 1620 cm^{-1} (estiramento C=C de aromáticos) e em 1390 cm^{-1} (estiramento C-O fenólico) são características de grupos aromáticos. Em 1030 cm^{-1} a banda é atribuída a estiramento de C-O de polissacarídeos. PAIM *et al.*, 1990, concluíram que como a porção alifática das melaninas polimeriza lentamente e decompõe mais rapidamente nos solos que a porção aromática, esta última forma um tipo de estrutura orgânica mais semelhante a dos ácidos húmicos.

PIERCE e RAST, 1995, avaliaram por FTIR os espectros dos esporos de cogumelos cultivados (*Agaricus bisporus*) e as melaninas isoladas desses. O espectro dos esporos apresenta absorções características de melanina, quitina e proteína, enquanto que o da melanina isolada caracteriza-a pela banda em 1600 cm^{-1} atribuída primariamente a grupos aromáticos.

BILINSKA, 1996, descreveram os espectros de IV de melaninas fúngicas em detalhes, e por comparação foi possível identificar bandas de três tipos de amidas (I, II e III), indicando que alguns pigmentos isolados são melanoproteínas. Bandas próximas a 1700 cm^{-1} são de estiramento assimétrico de grupos carboxílicos livres (grupos C=O de COOH) e em 1400 cm^{-1} são de grupos carboxílicos ionizados (estiramento simétrico de C=O de COO⁻). Bandas na região de 1600 cm^{-1} foram atribuídas a vibrações no plano de ligações HC=CH de aromáticos.

A espectroscopia de EPR é uma boa ferramenta para o estudo de melaninas e ácidos húmicos em complexos com íons metálicos paramagnéticos, podendo informar sobre os estados de oxidação, tipos de coordenação e geometria dos sítios ligantes (MANGRICH e VUGMAN, 1988). MANGRICH *et al.*, 1998, estudaram a química de coordenação de ferro(III) e cobre(II) em melaninas sintetizadas por

actinomicetos extraídos de solos. O espectro de EPR indicou a presença de cobre ligado a grupos funcionais oxigenados e nitrogenados e ferro em sítio rômico. Para algumas melaninas, um multiplete de linhas espaçadas em $16 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ (valor da constante de acoplamento super-hiperfino, A_{\perp}), característico da interação de um elétron desemparelhado do cobre com quatro átomos de N magneticamente equivalentes no plano, identifica a presença de complexos cobre-porfirina. A presença desses complexos foi confirmada por espectro de UV-Vis: bandas α (564 nm) e β (522 nm) e banda Soret típica ao redor de 400 nm é cerca de 20 vezes mais intensa.

2.10 - ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA

A caracterização de amostras por análises químicas e espectroscópicas pode fornecer um grande número de variáveis. Na análise individual de cada variável, perdem-se as informações da variância total dos dados e de como essas variáveis se intercorrelacionam. O modelo estatístico de métodos multivariados considera a correlação entre essas variáveis permitindo a extração de uma quantidade maior de informações.

A análise de componentes principais (PCA, do inglês “principal component analysis”) é um método exploratório que tem como objetivo separar as informações importantes das redundantes pela redução dos dados a partir da combinação linear das variáveis originais. Na análise exploratória são examinadas as relações entre as amostras, e entre as variáveis, através de gráficos de “scores” e “loadings” respectivamente, os quais permitem também avaliar a influência de cada variável em cada amostra, encontrando similaridades ou diferenças nos dados (ADAMS, 1995; STENBERG *et al.*, 1998).

Também são empregados outros métodos quimiométricos, dentre os quais, a Rotação Varimax e a Análise Hierárquica de Clusters (HCA, “Hierarchical Cluster Analysis”). Esses dois métodos são, às vezes, utilizados como complementares ao PCA (NOLIN *et al.*, 1989; HORWATH *et al.*, 1998; DUFFY *et al.*, 1997; SCHULTEN e HEMPFLING, 1992). A Rotação Varimax (JÖRESKOG *et al.*, 1976; FORINA *et al.*, 1988; SENA, 1996), aplicada após o PCA, explora a liberdade de rotação das componentes principais (CPs), levando a uma estrutura mais simples. Ela roda

rigidamente os eixos das CPs de tal forma que eles coincidam com os vetores mais divergentes no espaço, maximizando a variância. A HCA (BRATCHELL, 1989) é um método de agrupamento não baseado em PCs. Ela procura dividir as amostras em grupos homogêneos, com base em critérios de similaridade relacionados à distância entre elas.

O método dos mínimos quadrados parciais (PLS) do inglês “Partial Least Squares” pode ser visto como uma extensão do PCA pela introdução de um segundo bloco de variáveis (variáveis dependentes – y) para a análise multivariada .

O método PLS descreve a co-variância entre a matriz de variáveis independentes, x , e a matriz de variáveis dependentes, y . Deste modo, o modelo pode ser construído de tal forma que descreva a relação entre uma ou mais variáveis, y , e as variáveis, x . O método é capaz de extrair tanto informações quantitativas quanto qualitativas das séries de dados. Os fatores “loading” mostram a importância das diferentes variáveis na construção do modelo. Tanto o PCA quanto o PLS são métodos de projeção e seus resultados podem ser facilmente vistos em gráficos, os quais são usados na interpretação dos dados (MARTENS e NAES, 1996).

Muitos trabalhos recentes procuram aplicar esse tipo de estratégia para avaliar características intrínsecas à fertilidade do solo, comparar às condições de manejo do solo e relacionar as propriedades físico-químicas com as várias metodologias empregadas (JANIK e SKJEMSTAD, 1995).

Estes trabalhos permitem, por exemplo, classificar solos de acordo com sua fertilidade (NOLIN *et al.*, 1989), comparar nutrientes de plantas e solos e determinar os fatores que controlam a mineralização do nitrogênio em solos úmidos, a desnitrificação em solos cultivados e não cultivados (HORWATH *et al.*, 1998) e a degradação de solos semi-áridos pelo uso. E mais, relacionar propriedades físicas com a formação de turfa, visando melhorar a qualidade do solo; e constatar que a solução do solo é a principal responsável pela acidificação de solos na região meio-oeste da Suécia. Outra aplicação interessante foi o estudo dos parâmetros que controlam a atividade de microorganismos benéficos, visando estabelecer um controle biológico (DUFFY *et al.*, 1997). A PCA tem sido usada também para verificar diferenças nos parâmetros microbiológicos e químicos em experimentos de longa duração usando lodo biológico como corretivo da fertilidade do solo.

3 – OBJETIVOS

3.1 – OBJETIVOS GERAIS

- Compreender as interações de estruturas orgânicas com componentes inorgânicos do solo;
- Compreender a participação de macrofungos na formação de matéria orgânica dos solos.

3.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar modificações espectroscópicas nas amostras de caulinita orientada após tratamento com agente redutor;
- Caracterizar, por espectroscopias de EPR, sítios de Fe^{3+} em minerais de idades decrescentes na escala geológica;
- Avaliar por espectroscopias de XPS e EPR amostras de caulinita submetidas a redução pelo método do DCB (ditionito-citrato-bicarbonato), e a oxidação pela reação com NaOCl;
- Caracterizar a matéria orgânica presente na caulinita por espectroscopia de XPS;
- Compreender, por espectroscopias de EPR, FTIR e XPS e por difração de raios-X, a interação de caulinita com herbicidas do tipo s-triazinas;
- Caracterizar a melanina extraída do fungo *Boletinelus rompelii* e os ácidos húmicos extraídos do mesmo solo, amostrado em dois locais distintos: onde ocorre o desenvolvimento deste fungo e onde não ocorre. Estudar a relação existente entre essas estruturas: semelhanças e diferenças.
- Caracterizar a melanina extraída do fungo *Agaricus brasiliensis*;
- Caracterizar os ácidos húmicos extraídos do composto utilizado como substrato para o desenvolvimento do fungo *Agaricus brasiliensis*, em quatro fases: zero dia (composto pasteurizado e semeado), 30 dias (composto completamente tomado pelo micélio), 90 dias (período intermediário e de máxima frutificação do fungo) e 150 dias (final de

frutificação do fungo), com a finalidade de avaliar o que torna o composto inadequado para cultivos consecutivos de cogumelos;

- Caracterizar por espectroscopia eletrônica (UV-Vis), de EPR e FTIR as frações da melanina extraída do fungo *Boletinelus rompelii* e dos ácidos húmicos extraídos do mesmo solo, obtidas por cromatografia de exclusão por tamanho molecular;
- Avaliar a participação dos macrofungos *Boletinelus rompelii* e *Agaricus brasiliensis* na formação da matéria orgânica dos solos.

4 – MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – CARACTERIZAÇÃO POR EPR DA CAULINITA PP-0559 ORIENTADA EM CÉLULA PLANA

A caulinita, denominada PP-0559, foi fornecida pelo Centro de Pesquisas da Petrobrás (CENPES - PETROBRÁS, Rio de Janeiro) e é originária de jazida localizada no Estado do Pará, na região da Bacia Amazônica Brasileira. Apresenta-se como um pó fino de cor branca, levemente amarelada.

Uma massa de 500 mg da caulinita PP-0559 foi suspensa em 30 mL de água destilada e deionizada, em agitador mecânico de mesa. Após agitação por 48 h, o material foi centrifugado e o precipitado, ainda úmido, foi depositado em célula plana de EPR utilizada para análise de tecidos biológicos. Após a secagem ao ar, foram registrados espectros em espectrômetro Bruker ESP 300E do Departamento de Química da UFPR (DQ/UFPR), em banda-X (~ 9,7 GHz), com o plano da célula orientado paralela e depois perpendicularmente em relação ao campo magnético do espectrômetro. Para o registro dos espectros utilizou-se potência de 2 mW, frequência de modulação de 100 kHz e amplitude de modulação de 5 G. Os espectros foram obtidos na faixa de campo magnético de 50 a 5000 Gauss (G), em primeira derivada, e dos centros de defeito induzidos por irradiação (DIR) (3300 a 3500 G), em segunda derivada e com 25 varreduras.

Para melhor comparação e avaliação dos resultados e eliminar o erro por diferença de espessura das diferentes amostras, os espectros assim obtidos foram normalizados, dividindo-se cada valor de intensidade do espectro pela soma total dos valores de todas as intensidades que compõem cada espectro. Como o espectro de EPR em primeira derivada apresenta valores de intensidades com sinais negativos e positivos, foram tomados somente os valores absolutos por elevação ao quadrado e extração da raiz de cada intensidade. Para a normalização dos espectros utilizou-se o programa Origin 5.0[®].

4.2 - QUANTIFICAÇÃO RELATIVA DE Fe^{3+} EM DOMÍNIOS DILUÍDOS NOS ESPECTROS DE EPR ORIENTADOS DE CAULINITA PP0559 APÓS REDUÇÃO

Uma parte da caulinita PP-0559 foi submetida ao tratamento com DCB (ditionito-citrato-bicarbonato) (SCHREINER *et al.*, 2002), que é um redutor químico.

Neste tratamento, adiciona-se 40 ml de citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) $0,3 \text{ Mol L}^{-1}$ e 5 ml de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) 1 Mol L^{-1} a 2 g de argila, que é levada à aquecimento ($70\text{-}75 \text{ }^\circ\text{C}$) por 1 h. Após, é acrescentado cerca de 1,0 g de ditionito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) com agitações periódicas. As adições de ditionito são repetidas 2 a 3 vezes, até que as amostras fiquem com coloração clara. Elimina-se o sobrenadante separado por centrifugação e o material é lavado 5 vezes com cloreto de sódio (NaCl) $0,5 \text{ Mol L}^{-1}$, para eliminação dos resíduos de Fe^{3+} retidos mecanicamente entre as partículas.

Massas de 500 mg das amostras, de caulinita PP-0559 e de caulinita tratada com DCB, foram suspensas em 30 mL de água destilada e deionizada, em agitador mecânico de mesa. Após agitação por 48 h, o material foi centrifugado e o precipitado, ainda úmido, foi depositado em célula plana de EPR utilizada para análise de tecidos biológicos. Após a secagem ao ar, foram registrados espectros em espectrômetro Bruker ESP 300E do DQ/UFPR, em banda-X ($\sim 9,7 \text{ GHz}$), com o plano da célula orientado paralela e depois perpendicularmente, em relação ao campo magnético do espectrômetro. Para o registro dos espectros utilizou-se potência de 2 mW, frequência de modulação de 100 kHz e amplitude de modulação de 5 G. Os espectros foram obtidos na faixa de campo dos domínios diluídos de ferro (1000 a 2500 G), em primeira derivada, e dos centros de defeito induzidos por irradiação (DIR) (3300 a 3500 G), em segunda derivada e com 25 varreduras.

Os espectros assim obtidos foram integrados utilizando-se o programa WINEPR[®] da Bruker. Por serem obtidos no modo de segunda derivada, os espectros referentes aos centros de DIR foram integrados 2 vezes. Após a normalização, realizada como descrito em 4.1, foi feita a correção de linha de base de cada espectro e a área sob a curva foi calculada (BALAN *et al.*, 2000) utilizando-se o programa Origin 5.0[®].

4.3 - ESTUDO DE DOIS MINERAIS PRIMÁRIOS BIOTITA E MUSCOVITA (2:1) EM COMPARAÇÃO COM A CAULINITA (1:1)

Neste trabalho foram comparadas duas micas originárias de jazida próxima ao município de Teófilo Otoni, em Minas Gerais, biotita ($K(MgFe^{2+})_3(Al,Fe^{3+})Si_3O_{10}(OH)_2$) e muscovita ($KAl_2(AlSi_3O_{10})(OH)_2$), minerais primários 2:1 com a caulinita PP-0559, descrita anteriormente. A muscovita apresenta diafanidade transparente e cor levemente esverdeada enquanto a biotita é escura de brilho lustroso submetálico. Esses minerais foram submetidos à análise de EPR, DRX e XPS.

Na análise de EPR, lascas das micas foram posicionadas, sem tratamento prévio, na célula plana utilizada para análise de tecidos biológicos. Os espectros foram registrados conforme descrição anterior, paralela e depois perpendicularmente ao campo magnético. Como as micas não apresentam os centros de DIR, os espectros foram obtidos em modo primeira derivada, somente na faixa de campo magnético de 50 a 5000 G. Os espectros das micas também foram normalizados, e os da caulinita foram utilizados para comparação.

Para a análise de DRX, uma lâmina de cada material foi colocado em porta-amostra de vidro. O equipamento utilizado foi um difratômetro Rigaku do Departamento de física, DF/UFPR, com radiação $CoK\alpha$ filtrada por Ni ($\lambda = 0.179$ nm), utilizando a geometria Bragg-Brentano em $\theta-2\theta$. Utilizou-se voltagem de 40 kV e corrente de emissão de 20 mA e monocromador de grafite para eliminação de radiação fluorescente indesejável.

Os espectros de XPS foram obtidos em equipamento VG Microtech ESCA 3000 do Departamento de Física da UFPR, com câmara de análise sob pressão interna de 2×10^{-10} mbar, usando radiação $MgK\alpha$ e resolução de 0,8 eV. A energia cinética foi corrigida usando a energia de Au4f. As energias de ligação obtidas em função do carregamento foram corrigidas usando o pico C1s em 284,5 eV (BRIGGS e SEAH, 1995) e o pico Si2p em 102,5 eV, energia de ligação média para Si2p em silicatos (MOULDER *et al.*, 1995). Os espectros foram normalizados pelo pico de maior intensidade.

4.4 – ESTUDO DE QUÍMICA DE SUPERFÍCIE DA CAULINITA POR XPS e EPR

Amostras da caulinita PP-0559, caulinita testada com DCB e caulinita testada com solução de hipoclorito de sódio foram submetidas à análise de EPR (pó) e de XPS. Utilizou-se a amostra testada com DCB conforme descrito em 4.2. No teste oxidativo uma suspensão de 2 g de caulinita em 4 mL de solução aquosa de NaOCl (4 %) ficou sob banho-maria, a 100 °C, por 15 minutos. Após lavagens com soluções aquosas de Na₂CO₃ e NaHCO₃ (0,05 mol L⁻¹) e com água destilada e deionizada a amostra foi centrifugada e seca a temperatura ambiente (GOMES, 1996).

As amostras em pó foram analisadas por EPR no DQ/UFPR a temperatura ambiente em tubos de quartzo. Para o registro dos espectros utilizou-se potência de 2 mW, frequência de modulação de 100 kHz e amplitude de modulação de 5 G. Os espectros foram obtidos na região de campo magnético de 50 a 5000 G e na região dos domínios diluídos de Fe³⁺, os quais foram integrados utilizando-se o programa WINEPR[®] da Bruker e normalizados utilizando-se o programa Origin 5.0[®] da Microsoft. A área sob a curva, após a correção da linha de base, foi calculada por integração, utilizando-se o programa Origin 5.0[®] da Microsoft. (SCHREINER *et al.*, 2002).

Os espectros de XPS foram obtidos em equipamento VG Microtech ESCA 3000 do DF/UFPR, com câmara de análise sob pressão interna de 3x10⁻¹⁰ mbar, usando radiação MgK α e resolução de 0,8 eV. A energia cinética foi corrigida usando a energia de Au4f. As energias de ligação obtidas em função do carregamento foram corrigidas usando o pico Si2p_{3/2} da estrutura da caulinita (102,7 eV) (BARR, 1983). As amostras foram submetidas ao ultra-som em água destilada e deionizada, gotejadas e homogeneizadas sobre placas de silício (1 cm²) e secas ao ar, a temperatura ambiente (298 K). Os picos de XPS para cada amostra foram deconvoluídos de acordo com o método de Leclercq e Pireaux (LECLERCQ e PIREAUX, 1995), usando curvas de funções 'Gaussianas-Lorentzianas'. A razão atômica das amostras foi calculada usando o fator de sensibilidade do instrumento (MOUDER *et al.*, 1995), baseada no modelo de Scofield (SCOFIELD, 1976).

4.5 – ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DE HERBICIDAS S-TRIAZINAS EM SUPERFÍCIES DE ARGILA

No estudo da degradação de herbicidas s-triazinas em superfícies de argila utilizou-se a caulinita PP-0559 e os herbicidas atrazina, simazina e ametrin cedidos por Milenia Agrociências SA. Soluções aquosas dos herbicidas em formulação técnica ($1,8 \text{ mmol.L}^{-1}$, valor estabelecido segundo a concentração e utilização do herbicida em formulação comercial) permaneceram em banho ultrassônico por 10 dias para melhor dissolução. A caulinita (125 mg) foi suspensa em água destilada e deionizada, como controle, e nas soluções dos herbicidas (12,5 mL), ficando no banho ultrassônico por 2 dias, protegidas da luz. As amostras protegidas em placas de Petry foram secas a temperatura ambiente e analisadas por EPR, FTIR, DRX e XPS.

Os espectros no infravermelho foram registrados em espectrômetro Bomem FTIR do DQ/UFPR, série MB, na região de $400 \text{ a } 4000 \text{ cm}^{-1}$ com 32 varreduras a cada registro; utilizando-se pastilhas de KBr preparadas por prensagem de misturas uniformes de 1 mg da amostra e 99 mg de KBr de grau espectroscópico.

As análises por difração de raios-X foram realizadas em difratômetro Shimadzu XRD-6000 do DQ/UFPR, com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), com tensão e corrente de 40 kV e 40 mA, respectivamente, varrendo 2θ de 10° a 80° .

Os espectros de EPR e XPS foram manipulados como descrito anteriormente, normalizando-se todos os espectros e difratogramas.

4.6 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESPECTROSCÓPICA DA MELANINA EXTRAÍDA DO FUNGO *Boletinelus rompelii* E DO ÁCIDO HÚMICO EXTRAÍDO DO SOLO CULTIVADO COM O FUNGO.

Boletinelus rompelii é um cogumelo de solos, que foi encontrado e coletado em São José dos Pinhais, no estado do Paraná, Brasil. Após coletados, os cogumelos foram acondicionados em congelador.

Amostras de solo também foram coletadas em vários pontos aleatoriamente, de 0 a 20 cm de profundidade, para formar uma amostra composta e representativa do solo onde ocorria o desenvolvimento do cogumelo. O mesmo procedimento foi

utilizado na amostragem do solo que apresentava as mesmas características morfológicas avaliadas no local, mas que não apresentava a presença do cogumelo, situado a uma distância de aproximadamente 30 m.

Após a secagem ao ar, uma parte das duas amostras de solos foi enviada à análise química de rotina realizada no Centro Nacional de Pesquisas de Florestas da EMBRAPA, onde foram realizadas as determinações de pH em água e CaCl_2 , potássio, cálcio, magnésio, alumínio, acidez potencial ($\text{H}^+ + \text{Al}^{3+}$), matéria orgânica, fósforo, sódio e a análise granulométrica.

Das duas amostras de solos foram feitas as extrações dos ácidos húmicos segundo o método de Isolamento e Caracterização de Substância Húmicas do Laboratório de Química Agrária da Universidade de Napoli, Itália, por Alessandro Piccolo (COZZOLINO *et al.*, 2001). Este procedimento é mais adequado para solos com baixos teores de carbono. Ao solo seco e peneirado (200 g) foram adicionados 500 mL de solução 1 mol L^{-1} de NaOH e 500 mL de solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, ficando durante 5 min sob fluxo de argônio e depois por 24 horas sob agitação em frasco fechado. Esse material foi centrifugado durante 30 min a 3500 rpm. O precipitado (humina) foi neutralizado com sucessivas lavagens e guardado em geladeira. O sobrenadante foi filtrado em lã de vidro, e acidificado até pH 1,0 com HCl concentrado, ficando em repouso por 24 horas. O ácido fúlvico, em solução, foi separado do ácido húmico precipitado por sifonamento e foi também reservado em geladeira. Ao ácido húmico precipitado foram adicionados 3 L de água destilada e deionizada e pastilhas de NaOH até pH 12, e novamente HCl concentrado até pH 1,0. Após decantação por mais 24 horas, o ácido húmico foi separado novamente por sifonamento. Este procedimento de purificação do ácido húmico foi realizado 3 vezes. Ao precipitado centrifugado por 15 min, a 3500 rpm, foi adicionado 1 L de água destilada e deionizada com 40 mL de HF (mín. 48 %, v/v) e 2,5 mL de HCl (37 %, v/v), que foi agitado por 48 h. O precipitado foi centrifugado novamente por 15 min, a 3500 rpm, e dializado em tubo de diálise de 14000 Da de tamanho de poro até teste negativo para cloreto com nitrato de prata, e liofilizado em liofilizador de bancada LP3 da marca Jouan.

A melanina foi extraída do cogumelo descongelado, a temperatura ambiente, seguindo a mesma metodologia de Piccolo, porém adaptou-se a forma do material

de partida, onde foram utilizados 200 g de cogumelo picado no lugar de 200 g de solo.

As amostras foram analisadas por espectroscopia de EPR e FTIR como descrito anteriormente e depois fracionadas por Cromatografia de exclusão em vidro de porosidade controlada (CE-VPC) com analisador de UV-VIS (270 nm) acoplado.

As análises de EPR foram realizadas em tubos de quartzo de 3 mm de diâmetro interno, com cerca de 0,1 g de amostra. Este procedimento foi realizado pesando-se o tubo vazio e adicionando-se, posteriormente, a quantidade da amostra em análise. A seguir, mediu-se a altura da amostra no tubo e pesou-se o tubo com a amostra novamente, e por diferença determinou-se a massa de amostra em cada tubo.

Calculou-se o nº de spins g^{-1} dos radicais livres orgânicos (RLO) formados nas amostras utilizando-se os espectros de EPR registrados em faixa de campo magnético de 50 G tendo uma amostra padrão de concentração de spins conhecida (Strong Pitch, SP, $3,667 \times 10^{15}$ spins cm^{-1}). Os espectros foram integrados e por deconvolução calculou-se a área (S) sob a curva de absorção. O número de spin por grama de amostra é calculado da seguinte forma:

$$S_{sp} \times n^{\circ} \text{ spin } cm^{-1}_{AH} = S_{AH} \times n^{\circ} \text{ spin } cm^{-1}_{SP} \quad (7)$$

$$N^{\circ} \text{ spin } g^{-1}_{AH} = n^{\circ} \text{ spin } cm^{-1}_{AH} \times H_{AH} \text{ (cm)} \times m^{-1}_{AH} \text{ (g)} \quad (8),$$

sendo H a altura (cm) e m a massa (g) da amostra dentro do tubo de EPR.

Para a análise no infravermelho, preparou-se pastilha da amostra em KBr, a cerca de 1% (~ 99 mg de KBr + 1 mg de amostra).

As análises de UV-VIS foram feitas em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV-2401PC, do DQ/UFPR, enquanto que as análises de cromatografia de exclusão foram realizadas em cromatógrafo montado no próprio laboratório (Figura 11) utilizando-se o espectrômetro UV-VIS como detector (medido a $\lambda = 270$ nm) e coluna de vidro Pharmacia Biotech, modelo XK 16, empacotada com vidro poroso de tamanho de poro controlado, CPG 00170B, ($\phi = 182$ Å). Nas análises, foi utilizado como eluente o $KHCO_3$ $0,05$ mol L^{-1} e vazão de $2,5$ mL por minuto. Para obtenção dos valores de K_d , a coluna foi calibrada com uma solução aquosa contendo “blue

dextran” e fenofaleína. O valor K_d é utilizado como uma medida de tamanho molecular e foi calculado utilizando a equação: $K_d = (V_e - V_0)(V_t - V_0)^{-1}$, onde V_e é o volume eluído, V_0 é o volume morto e V_t é volume total da coluna cromatográfica. Cada cromatograma foi registrado durante 24 minutos no UV-vis a 270 nm. As frações de cada AH e da melanina foram coletadas de 2 em 2 minutos. Cada fração foi analisada por UV-VIS, com varredura de 190 a 900 nm.

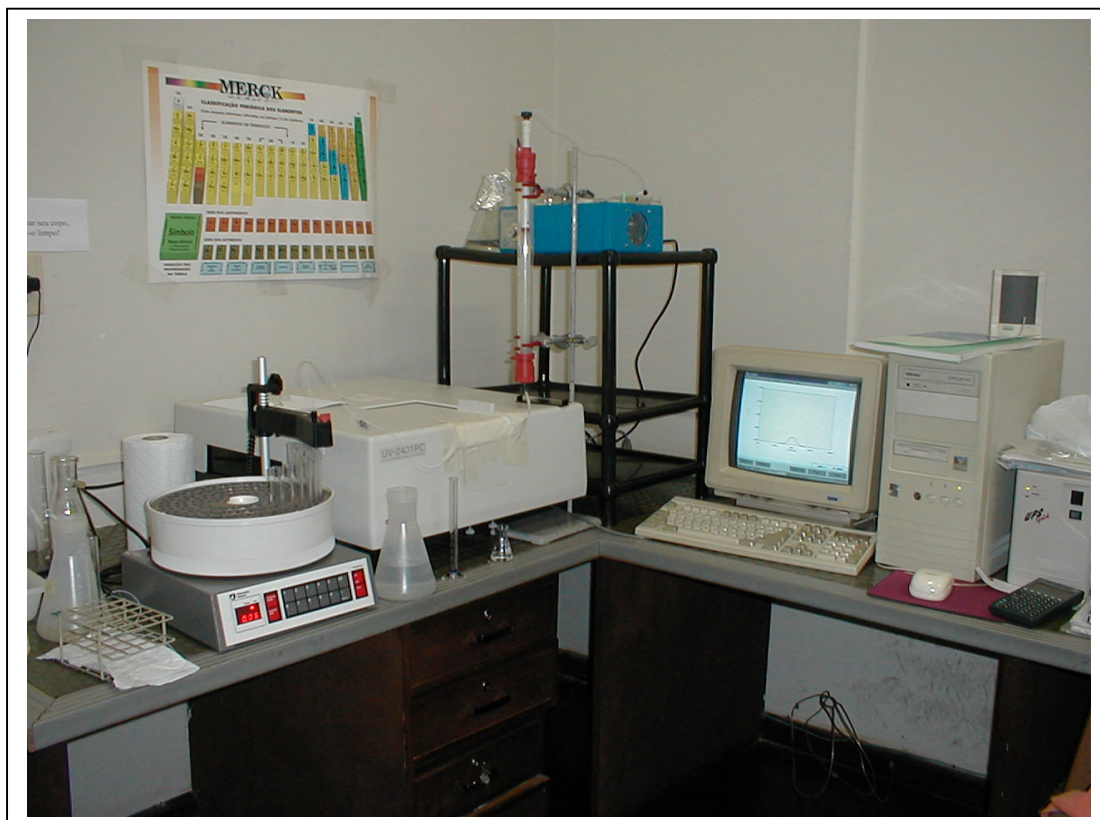


FIGURA 11 – SISTEMA DE CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO EM VIDRO DE TAMANHO DE PORO CONTROLADO (CE-VPC) COM DETECTOR UV-VIS ACOPLADO.

4.7 – ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA DOS ESPECTROS DE EPR E FTIR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS DA MELANINA DO MACROFUNGO *B. rompelii* E DOS ÁCIDOS HÚMICOS DE SOLO

Em continuidade aos trabalhos com o macrofungo *B. rompelii*, as separações cromatográficas foram repetidas até que se obtivesse material suficiente para as análises de EPR e FTIR de amostra sólida de cada fração de interesse. Normalmente a cromatografia líquida por exclusão de tamanho molecular de amostras de substâncias húmicas é feita com a amostra dissolvida em solução aquosa com tampão fosfato ou borato, em pH ~ 8. Com vistas a preparar as

amostras para análise por EPR e FTIR, no nosso laboratório, passamos a usar tampão de KHCO_3 a $\text{pH} = 8,5$ (NOVOTNY, 1997). Uma vez separadas, as soluções eluídas foram acidificadas a $\text{pH} 4,0$ com HCl (1 mol L^{-1}), ajustadas a $\text{pH} 6,0$ com KOH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e secas em liofilizador. Desse modo, as amostras das frações foram obtidas em misturas sólidas com KCl , resultante da reação do KHCO_3 com HCl , e foram analisadas, a seguir, por espectroscopias de EPR e FTIR.

Utilizou-se o método de Análise de Componentes Principais (PCA) para avaliar os espectros de EPR e FTIR obtidos, com o auxílio do programa Matlab[®].

4.8 – ESTRUTURAS QUÍMICAS DE ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDOS DE COMPOSTO DURANTE O CRESCIMENTO DE *Agaricus brasiliensis*

O cogumelo *Agaricus brasiliensis* se desenvolve sobre composto, que diferente do significado químico, é mistura de resíduos vegetais já compostada por microrganismos termófilos.

O composto é feito misturando-se bagaço de cana, feno (palha), cama de cavalo, farelo de soja e trigo, esterco de galinha, carbonato de cálcio, gesso, fosforita e água. Fermenta-se por 21 dias, virando-se a cada 3 dias. Então segue para a câmara de pasteurização onde fica por 10 dias com a temperatura em torno de $60 \text{ }^\circ\text{C}$, até cair para $25 \text{ }^\circ\text{C}$, quando se faz a semeadura (inoculação). Depois de 30 dias de incubação segue para o local de produção.

A empresa Gapi – Grupo Agaricus de Pilar Ltda, de Pilar do Sul, São Paulo, produtora do cogumelo *Agaricus brasiliensis*, cedeu amostras do composto utilizado na sua produção, coletadas em quatro fases diferentes de desenvolvimento do fungo: tempo 0, fase em que o composto pasteurizado foi inoculado e fechado em sacos plásticos sob condições anaeróbias; 30 dias, fase de completo desenvolvimento e colonização dos micélios, fase vegetativa do macrofungo, a partir da qual o saco plástico é aberto, propiciando condições aeróbias de desenvolvimento da fase reprodutiva do macrofungo, ou seja, emissão do corpo de frutificação que é o cogumelo; 90 dias, fase de produção do cogumelo, e 150 dias, fase em que o composto encontra-se exaurido. Estas amostras foram secas a $45 \text{ }^\circ\text{C}$ por 12 horas. A Tabela 2 apresenta as representações para as amostras do

composto em cada fase de desenvolvimento e para os ácidos húmicos (AH) extraídos dos mesmos.

TABELA 2 – REPRESENTAÇÃO DAS AMOSTRAS DO COMPOSTO ONDE SE DESENVOLVE O COGUMELO E DOS RESPECTIVOS AH, FASE DE COLETA (DIAS) E CONDIÇÕES DO COMPOSTO.

Amostras do composto	Tempo de coleta (dias)	Condições do composto (fase de desenvolvimento do cogumelo)	Ácido húmico
MC 1	0	Composto pasteurizado e inoculado	AH1
MC 2	30	Composto colonizado (crescimento micelial)	AH2
MC 3	90	Composto em produção (fase de frutificação)	AH3
MC 4	150	Composto exaurido (após colheita)	AH4

Amostras de cogumelos congelados também foram cedidas pela mesma empresa.

A metodologia de extração dos AH do composto e da melanina do cogumelo está descrita no item 4.6 (pág. 38). Para a caracterização dos AH foram utilizadas as técnicas de EPR e FTIR, conforme descrição em 4.5, e UV-VIS de sólidos, em espectrofotômetro Shimadzu UV-2401PC do DQ/UFPR, com varredura de 190 a 900 nm, em modo reflectância com as amostras prensadas no porta-amostra do aparelho.

O conteúdo de metais, Al (tóxico para vegetais) e Cu, Fe e Mn (nutrientes vegetais), dos AH foi determinado no Tecpar, e obtido através da digestão de aproximadamente 0,5 g de amostra de composto seco a 60° C, moído em gral e peneirado. À amostra pesada em Becker de 250 ml adicionou-se 10 mL de solução aquosa de HNO₃ 1:1 (v/v). Em seguida aqueceu-se a mistura a aproximadamente 200 °C em bomba para digestão por cerca de 15 minutos. Esfriou-se e adicionou-se 5 mL de HNO₃ concentrado e aqueceu-se por 40 minutos. Novamente, aguardou-se alcançar a temperatura ambiente para a adição de 5 mL de H₂O₂ (30 %) e aqueceu-se até a redução de volume (±5 ml). Após esfriar, filtrou-se a amostra em balão volumétrico de 100 mL utilizando-se papel de filtro faixa branca, lavando-se cerca de 4 vezes o Becker com água ultrapura (Milli-Q) e completando-se o volume do balão. As amostras digeridas foram analisadas por espectroscopia de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP-AES, Varian Vista Pro 2000).

Análises de CHN foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química da USP/SP (CA/IQ/USP).

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 – CARACTERIZAÇÃO POR EPR DA CAULINITA PP-0559 ORIENTADA EM CÉLULA PLANA

A figura 12 mostra os espectros de EPR, em primeira derivada, na faixa de campo magnético de 5000 gauss (G), da amostra orientada segundo as linhas de força do campo magnético do espectrômetro. No espectro perpendicular (\perp), o campo magnético está direcionado de forma normal às faces da amostra, estando, portanto, perpendicular às lamelas da caulinita, mas não coincidindo com o eixo cristalográfico c , que como se viu acima, não coincide com a normal ao plano $a \times b$. No espectro paralelo (II), o campo magnético está direcionado paralelamente às faces das lamelas, que foram se acamando ao acaso sobre a célula de EPR com cavidade plana (usada para lâminas de tecido fisiológico) durante o preparo da amostra, na medida em que a caulinita foi sedimentando, não definindo assim as orientações a e b do cristal.

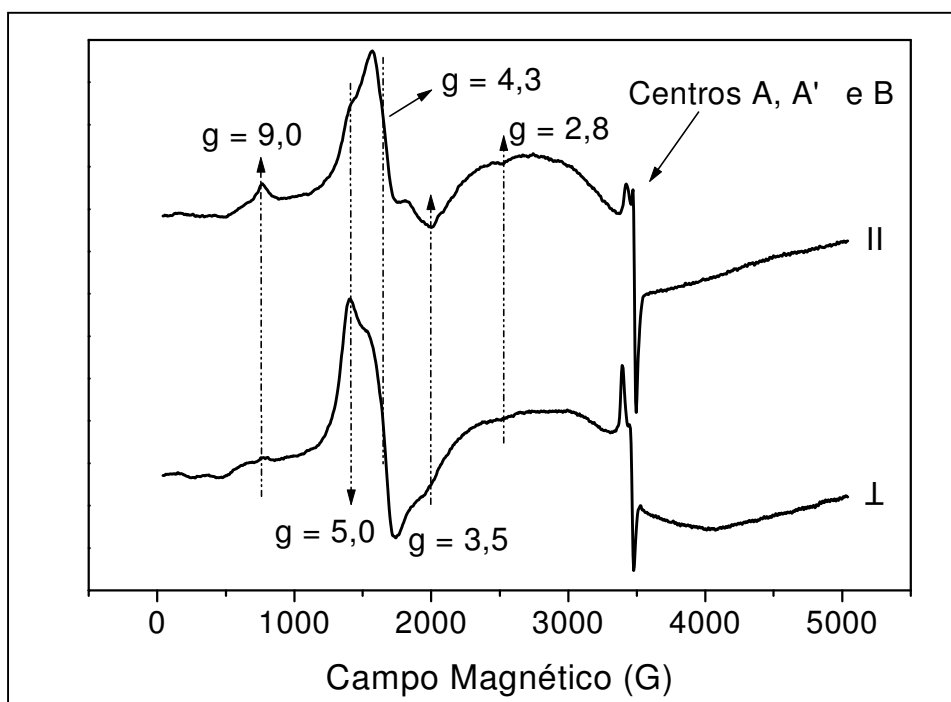


FIGURA 12 – ESPECTROS DE EPR DA CAULINITA PP-0559, ORIENTADA PARALELA (II) E PERPENDICULARMENTE (\perp) AO CAMPO MAGNÉTICO, EM MODO DE PRIMEIRA DERIVADA.

Existem cinco linhas importantes nos espectros, marcadas com linhas interrompidas na fig. 12, com valores de g iguais a 9,0, 5,0, 4,3, 3,5 e 2,8, características de caulinitas de alta cristalinidade, na região de campo magnético de 500 a 2500 G, conhecida como de domínios diluídos de íons Fe^{3+} (BALAN *et al.*, 2000). Resultam das transições eletrônicas surgidas a partir dos três dubletos de Kramer, cujas energias são separadas pelo campo magnético do espectrômetro de EPR e por campo cristalino de simetria rômica. Usaremos aqui as convenções adotadas por AASA (1970). Os níveis de energia dos dubletos de Kramer são numerados de 1 a 6, conforme o aumento de energia. A linha de ressonância com $g = 9,0$ é denominada de 12Y e resulta da transição 1-2, entre os níveis de energia 1, $m_s = -5/2$, e 2, $m_s = -3/2$, na direção do eixo de magnetização y . Outras três linhas, g iguais a 5,0, 3,5 e 2,8, resultam da transição 3-4, entre o dubleto central, $m_s = -1/2$ (nível 3) para $m_s = +1/2$ (nível 4), nas direções dos três eixos de magnetização z , x e y . Por isso são designadas como 34Z, 34X e 34Y, respectivamente. Este grupo de cinco linhas pertence a dois centros de simetria de íons Fe^{3+} , dentro da estrutura da caulinita. O centro I, ou, centro $\text{Fe}^{3+}_{(I)}$, com linhas em $g = 4,3$ (34XYZ) e $g = 9,0$ (12Y), é atribuído a íons Fe^{3+} em sítio onde a relação entre os parâmetros de campo cristalino E (distorção rômica) e D (distorção axial), definida por $\lambda = 0,33$ (AASA, 1970; GOODMAN e HALL, 1994). Este centro de Fe^{3+} , com máxima distorção rômica, está associado a defeitos na estrutura das caulinitas, ou a abaixamentos de simetria causados pela ruptura de pontes de hidrogênio entre camadas, comuns a caulinitas Fe-substituídas, pobremente ordenadas, típicas de Oxissolos (MOLINARI *et al.*, 1992). O outro conjunto de linhas de EPR, com $g = 2,8$, $g = 3,5$ e $g = 5,0$, está associado ao centro paramagnético II, ou $\text{Fe}^{3+}_{(II)}$, e é atribuído a complexos de íons Fe^{3+} em estruturas mais simétricas, com $\lambda = 0,22$, portanto com menor valor de E (AASA, 1970).

Do espectro perpendicular para o paralelo, as intensidades das linhas com $g = 2,8$, $g = 3,5$ e $g = 9,0$ aumentam, a linha com $g = 4,3$ praticamente mantém sua intensidade, e a intensidade da linha com $g = 5,0$ diminui. Considerando um sistema de eixos coordenados, com o eixo z perpendicular aos planos da caulinita, pode-se ter indicação mais precisa para as linhas obtidas. Assim, confirma-se que a linha com $g = 9,0$, transição 12Y, a linha com $g = 5,0$, transição 34Z, a linha com $g = 4,3$, transição isotrópica 34XYZ e as linhas com $g = 2,8$, transição 34Y e $g = 3,5$,

transição 34X (MEADS e MALDEN, 1975). Por outro lado, estes dados corroboram que os íons de Fe^{3+} , em domínios diluídos, ocupam sítios octaédricos distorcidos substituindo íons de Al^{3+} da camada de gibsitita (ver figura 5).

Os espectros em 5000 G também apresentam uma linha larga ($g \sim 2$, $\Delta H_{pp} > 500$ G) característica de interações dipolo-dipolo entre íons Fe^{3+} . Esta região é denominada de domínios concentrados de ferro (BALAN *et al.*, 2000). Dentro desta região encontram-se as linhas dos defeitos induzidos por radiação (DIR), os centros A, A' e B, que são correspondentes a centros paramagnéticos devidos a vacâncias, em ligações Si-O e Al-O da estrutura da caulinita produzidas por fótons de fissão nuclear no solo, principalmente traços de U e Th (CLOZEL *et al.*, 1994). A figura 13 apresenta os espectros em segunda derivada em faixa de campo de 200 G, também da amostra orientada, mostrando, agora, preferências de orientação dos centros A, A' e B.

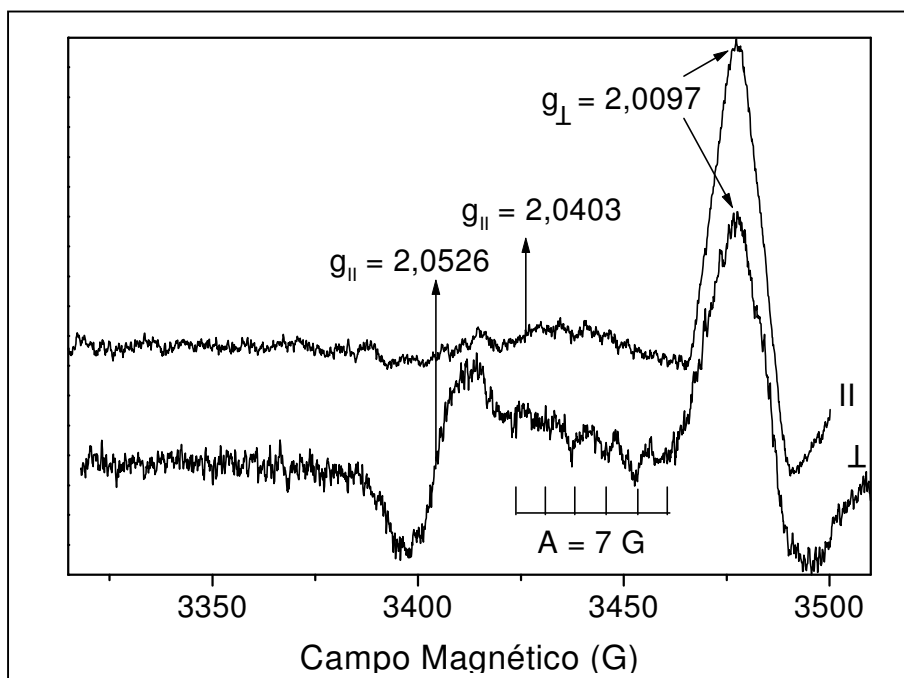


FIGURA 13 – ESPECTROS DE EPR DA CAULINITA PP-0559, ORIENTADA PARALELA (||) E PERPENDICULARMENTE (⊥) AO CAMPO MAGNÉTICO, EM SEGUNDA DERIVADA.

O centro A' ($g_{||} = 2,0403$; $g_{\perp} = 2,0097$) tem a absorção correspondente ao $g_{||}$ intensificada no espectro paralelo, indicando que as ligações Si-O $^{\ominus}$, correspondentes a este centro, estão localizadas mais paralelamente aos planos das lamelas da caulinita. No espectro perpendicular é intensificada a linha correspondente ao g_{\perp} do

centro A ($g_{\parallel} = 2,0526$; $g_{\perp} = 2,0097$), indicando que as ligações Si–O⁻ deste centro estão localizadas perpendicularmente ao plano das lamelas da caulinita. As linhas perpendiculares (g_{\perp}) dos dois centros A e A' estão superpostas e, por isso, não há como verificar suas mudanças de intensidade, visto que o somatório delas permanece praticamente constante. No espectro perpendicular são também intensificadas seis linhas do centro B, que exibem estrutura hiperfina, devido à ligação ²⁷Al–O com vacância (²⁷Al, $I = 5/2$), identificada mais facilmente a 77 K, com constante de acoplamento hiperfina, $A = 7$ G. A observação destas linhas sugere que, pelo menos, um dos eixos de magnetização da estrutura Al–O⁻ está localizado perpendicularmente aos mesmos planos. A figura 14 representa a estrutura da caulinita detalhando esquematicamente as localizações dos centros paramagnéticos A, A' e B.

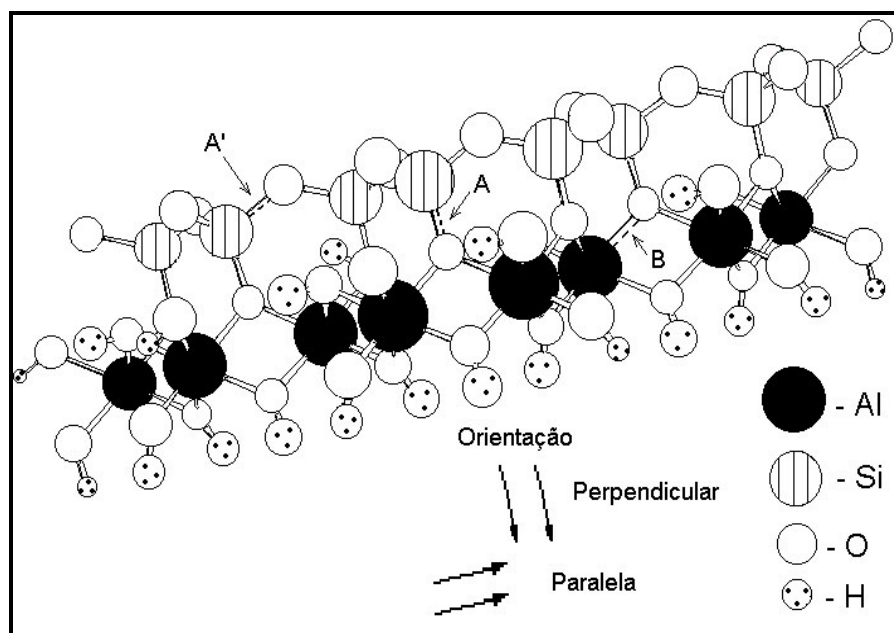


FIGURA 14 - ESQUEMA DETALHADO DA ESTRUTURA DA CAULINITA COM A LOCALIZAÇÃO DOS CENTROS PARAMAGNÉTICOS A, A' E B.

5.1.1 – Considerações relevantes

A localização dos sítios de Fe³⁺ e dos centros de DIR dentro da estrutura da caulinita poderá tornar possível o entendimento das prováveis reações resultantes de processos oxidativos nos solos.

As seis linhas do centro B, que exibem estrutura hiperfina, devido à ligação $^{27}\text{Al}-\text{O}$ com vacância no átomo de O (^{27}Al , $I = 5/2$), com constante de acoplamento hiperfina, $A = 7$ G, identificada mais facilmente a 77 K, pode ser identificada a temperatura ambiente, indicando que o empilhamento das lamelas propicia a diluição destes centros no espectro paralelo, talvez pela menor quantidade de amostra interpelada neste sentido pelo feixe das microondas.

5.2 – QUANTIFICAÇÃO RELATIVA DE Fe^{3+} EM DOMÍNIOS DILUÍDOS NOS ESPECTROS DE EPR ORIENTADOS DE CAULINITA PP0559 APÓS REDUÇÃO

O método aqui utilizado foi proposto por BALAN *et al.*, 2000, para determinação da concentração de íons Fe^{3+} em caulinitas de vários ambientes geoquímicos utilizando espectros de EPR de amostra em pó, ou seja, não orientadas. A região do espectro de campo magnético entre 1000 e 2500 G foi selecionada porque apresenta as absorções referentes às transições 34 das linhas dos sítios $\text{Fe}_{(\text{I})}$ e $\text{Fe}_{(\text{II})}$, que representam a concentração de Fe nos domínios diluídos. A concentração de Fe^{3+} estrutural em domínios diluídos varia de 200-3000 ppm e representa menos da metade do conteúdo total de ferro da estrutura da caulinita, pois este pode estar presente em outras fases concentradas como nanofases de óxidos ou oxi-hidróxidos de ferro, resistentes ao tratamento com DCB (BALAN *et al.*, 2000).

O tratamento com DCB adiciona ditionito de sódio sólido a argila dispersa em solução aquosa de tampão de citrato-bicarbonato. O citrato tem também a função de complexar e manter em solução íons de Fe^{3+} extraídos. Este procedimento é utilizado na preparação de amostras de solos para análise de DRX, pois a remoção dos óxidos de Fe facilita a dispersão da fração argila e assim concentra os silicatos, favorecendo sua orientação preferencial e, em consequência, a intensificação dos seus reflexos no raio-X, pois os óxidos prejudicam sua orientação.

A figura 15 apresenta os espectros integrados de EPR registrados na região de Fe^{3+} em domínios diluídos e os valores de área destes. A diminuição das áreas de Fe^{3+} sugere que houve redução de Fe^{3+} com o tratamento da amostra com DCB.

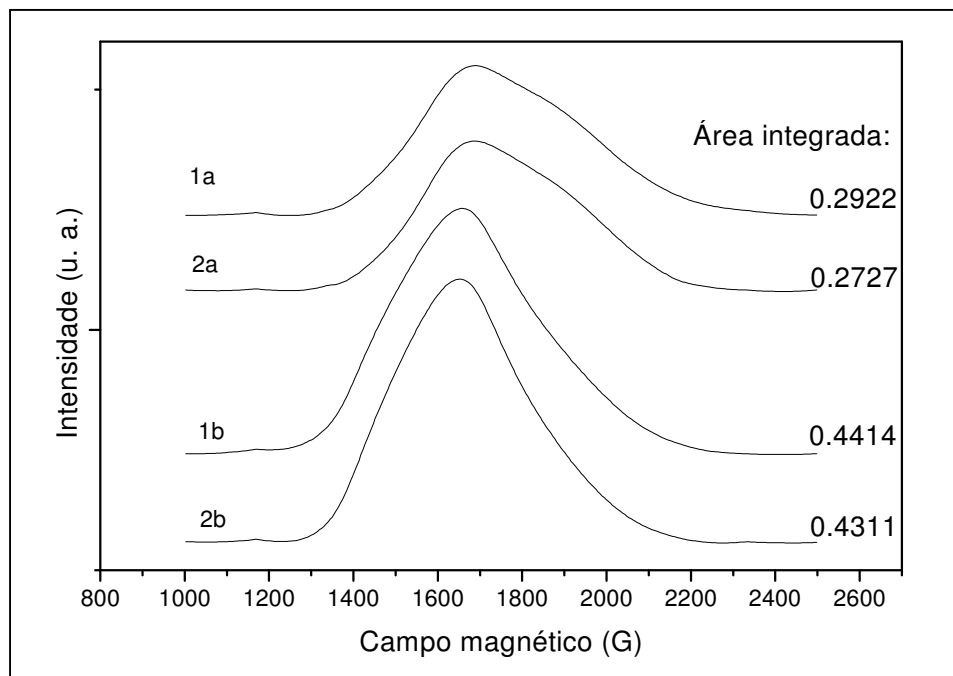


FIGURA 15 – ESPECTROS DE EPR DA CAULINITA PURA (1) E TRATADA COM DCB (2), NA REGIÃO DE Fe^{3+} , EM DOMÍNIOS DILUÍDOS, PARA OS ESPECTROS PARALELO (a) E PERPENDICULAR (b) AO CAMPO MAGNÉTICO.

MULLER e CALAS (1989) dizem que o tratamento com DCB não tem qualquer efeito aparente na estrutura da caulinita, ou na largura e intensidade das linhas de Fe^{3+} . Por isso, as medidas e os cálculos de integração foram repetidos e foi constatado que essa diminuição não se repete. Como nesta região de domínios diluídos são identificadas as linhas dos centros de Fe^{3+} localizados dentro da estrutura da caulinita, a diminuição entre as áreas calculadas pode não ser significativa.

BALAN *et al.*, 2000, aplicou esta metodologia para relacionar o valor de área dos domínios diluídos, calculado por integração, com a concentração de ferro existente em caulinitas de diferentes ambientes geoquímicos. Porém, não utilizou a amostra orientada em placa de tecido, assim, um fator relacionado ao erro desta medida pode ser a pequena quantidade de material acomodada na placa de tecido.

O ferro é considerado a maior impureza nas caulinitas e sua concentração está relacionada com diversas propriedades do argilomineral. KOSTKA *et al.*, 1999, sugeriram que os processos de redução de íons Fe^{3+} em estruturas de argilominerais desempenham um importante papel na oxidação de contaminantes orgânicos no ambiente. Observou-se por EPR a ação redox da fração argila em

solos tropicais, sendo a caulinita o maior componente na degradação de herbicidas s-triazínicos, onde os centros de Fe^{3+} foram modificados (MANGRICH *et al.*, 2005).

A figura 16 apresenta os espectros de EPR registrados na região dos centros A, A' e B. Os sinais relativos aos centros de defeitos induzidos por radiação (DIR) também diminuem com o tratamento, mostrando que as propriedades de oxidação da caulinita podem não ser somente uma consequência da redução de Fe^{3+} a Fe^{2+} , mas também do consumo dos DIR por acomodação de elétrons nos buracos de elétrons, ou vacâncias, previamente existentes. Mesmo essa diferença não sendo significativa, pode-se observar modificações no aspecto das linhas, principalmente da caulinita orientada perpendicularmente ao campo magnético.

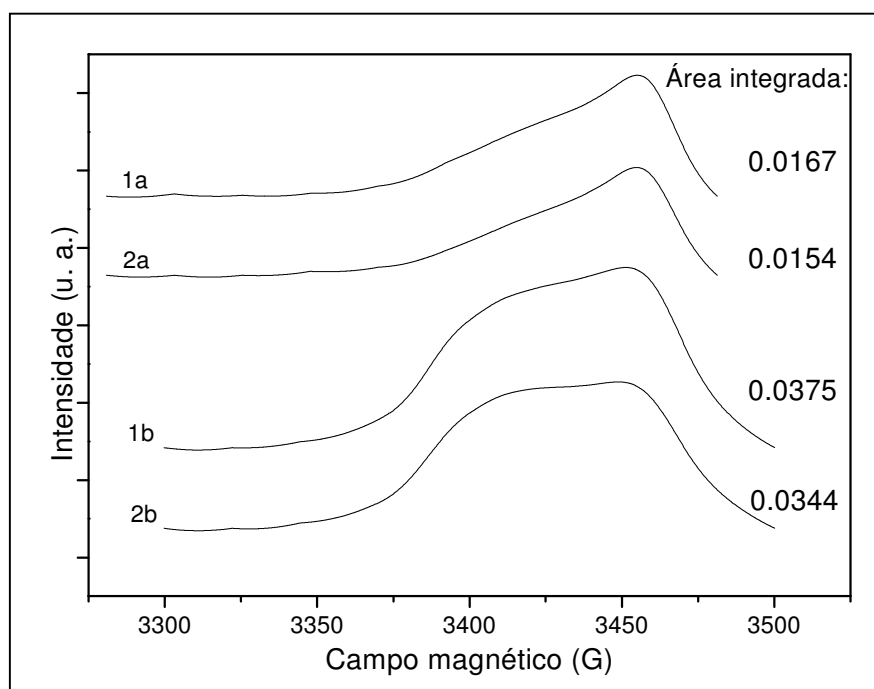


FIGURA 16 – ESPECTROS DE EPR DA CAULINITA PURA (1) E TRATADA COM DCB (2), NA REGIÃO DOS CENTROS DE DIR, PARALELO (a) E PERPENDICULAR (b) AO CAMPO MAGNÉTICO.

5.2.1 – Considerações relevantes

O método utilizado por BALAN *et al.*, 2000, aplicado neste estudo não ofereceu resultados significativos. Como as variações nos valores de áreas não podem ser consideradas significativas, a informação de que o tratamento com DCB não tem efeito aparente na estrutura da caulinita, ou na largura e intensidade das linhas de Fe^{3+} (MULLER e CALAS, 1989), pode ser confirmada. Outra questão é que

o método pode não ser indicado para análises de EPR em células planas de tecido biológico.

Porém, o consumo dos DIR por acomodação de elétrons nos buracos de elétrons, ou vacâncias, previamente existentes, mesmo não significativo, e as modificações no aspecto destas linhas, principalmente da caulinita orientada perpendicularmente ao campo magnético, sugere a participação destes centros em processos oxidativos da caulinita.

5.3 - ESTUDO DE DOIS MINERAIS PRIMÁRIOS BIOTITA E MUSCOVITA (2:1) EM COMPARAÇÃO COM A CAULINITA (1:1)

Na escala geológica, a caulinita é o mineral mais intemperizado dos três aqui citados. Como se viu a caulinita é um aluminossilicato tipo 1:1 de composição $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$. A muscovita, por outro lado, é classificada como um filosilicato tipo 2:1 dentro do grupo das micas. Ela é um mineral largamente distribuído, encontrado em rochas ígneas, quando é considerado mineral primário, e em solos de clima temperado como produto da decomposição de feldspatos por intemperismo, considerado então mineral secundário. É um mineral orientado perfeitamente em camadas com a composição: $\text{KAl}_2(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{OH})_2$, que pode ser considerada como uma lamela de aluminatos octaédricos ensanduichada entre duas lamelas de silicatos tetraédricos. Como um de três sítios octaédricos está vago, este filosilicato é dito ser dioctaedral. Durante milênios Fe incorporou-se a muscovita como impureza estrutural de Fe^{2+} restrito aos sítios octaédricos.

A biotita, também do grupo das micas, é um filosilicato tipo 2:1 de cor escura, rica em ferro com a composição geral $\text{K}(\text{MgFe}^{2+})_3(\text{Al,Fe}^{3+})\text{Si}_3\text{O}_{10}(\text{OH})_2$, cuja estrutura monoclinica cristalina da camada lembra muito a da muscovita. Neste mineral os três sítios octaedrais são ocupados, assim ela é classificada como um filosilicato trioctaedral. Diferenças polimórficas de biotita são conhecidas por apresentarem variações no número de unidades sílica-alumina-sílica por célula unitária e na maneira de empilhamento das células unitárias (GRIM, 1953). Os difratogramas de raios-x (figura 17) mostram plano basal com distâncias $d = 0,995$ nm para muscovita, 1,004 nm para a biotita e 0,716 nm para caulinita.

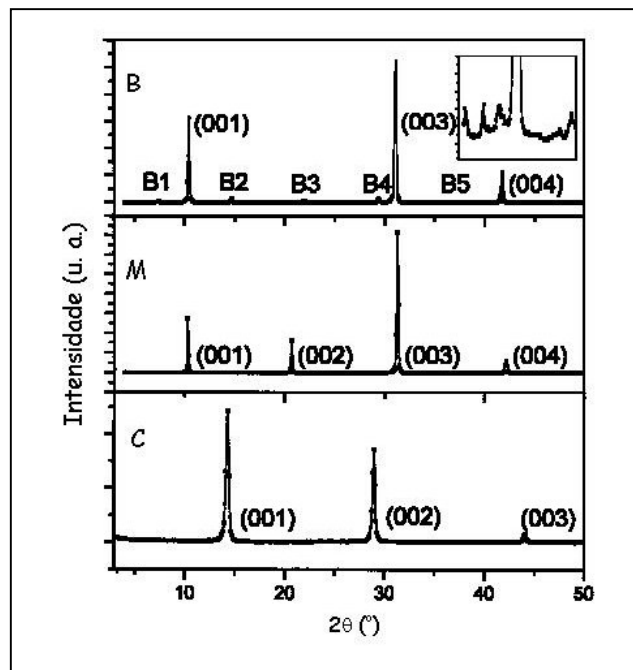


FIGURA 17 – DIFRATOGRAMAS DE RAIOS-X DE PÓ DA BIOTITA (B), MUSCOVITA (M) E CAULINITA (C).

As medidas de XPS mostram os principais elementos químicos das superfícies dos três filosilicatos (Figura 18).

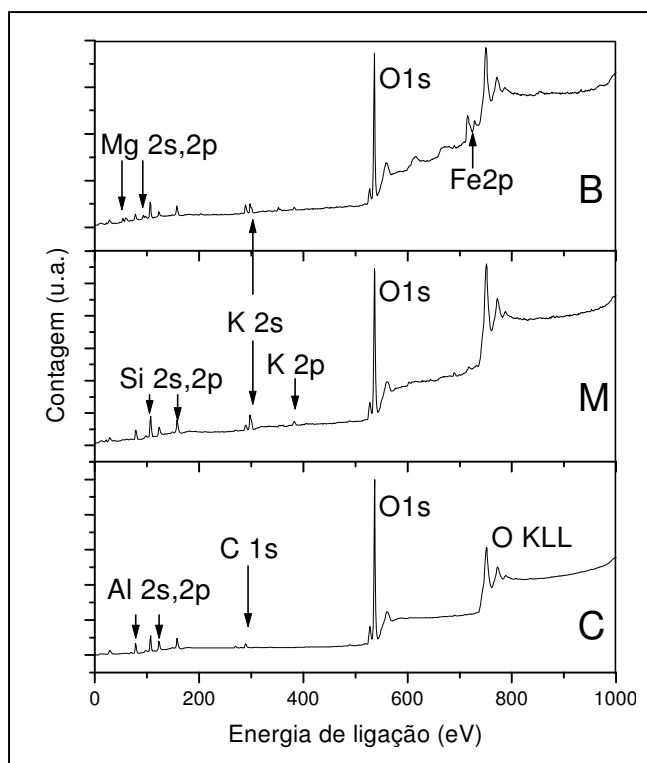


FIGURA 18 - ESPECTRO 'SURVEY' DO XPS PARA BIOTITA (B), MUSCOVITA (M) E CAULINITA (C).

Como o teor de ferro da biotita é alto, um espectro detalhado do duplete Fe2p e do duplete Fe3p foram obtidos (Figura 19).

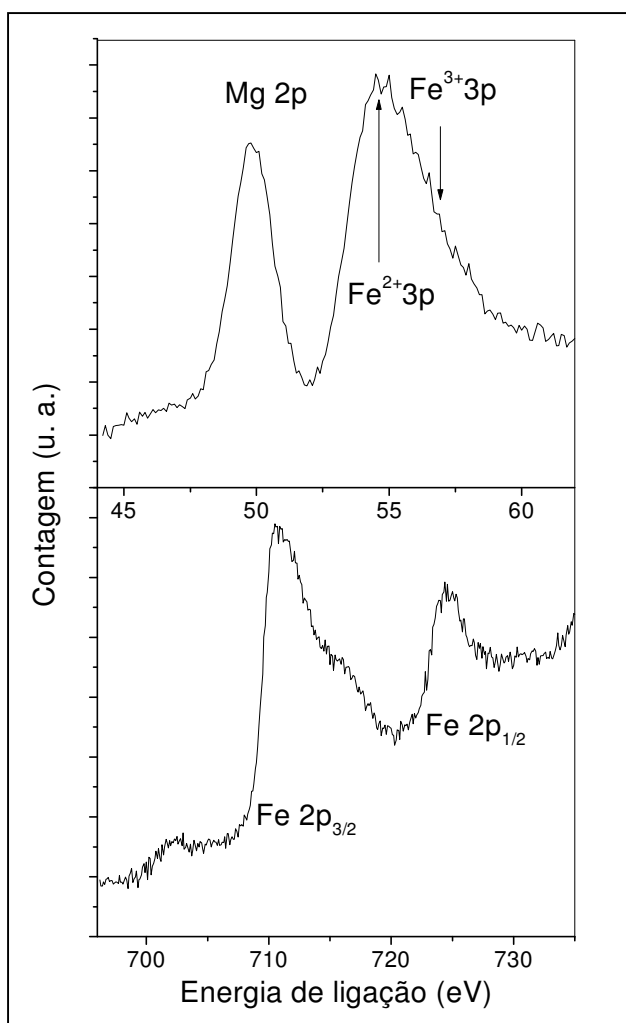


FIGURA 19 - ESPECTRO DETALHADO DE XPS DAS REGIÕES DE Fe3p E Fe2p PARA A BIOTITA.

Utilizou-se a informação do duplete Fe 3p, em vez de a do mais intenso duplete Fe2p para a quantificação de Fe²⁺ e Fe³⁺, porque os picos de Fe2p encontram-se em linha de base crescente e alargada devido a múltiplas pequenas linhas. A assimetria do pico Fe3p resulta de dois componentes, Fe²⁺ em 54,9 eV, separado por 2,2 eV de Fe³⁺ em 57,1 eV. A simulação do espectro Fe3p mostrou razão $[\text{Fe}^{3+} / \Sigma (\text{Fe}^{2+} + \text{Fe}^{3+})]$ de 0,3. Este valor, bem como a razão $[\text{Fe} / \Sigma (\text{Fe} + \text{Mg})] = 0,44$, obtida do ajuste da curva do espectro concorda com outras amostras de biotita encontradas na literatura. A partir destes dados foi possível calcular as razões $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+} = 2,3$ e $\text{Mg}/\text{Fe} = 1,23$.

Os espectros paralelo (II) e perpendicular (\perp) de EPR para os três minerais são mostrados na figura 20. As linhas de EPR são atribuídas a centros DIR (caulinita) e a íons de Fe^{3+} em domínios concentrados (campo magnético (H) de 2500 a 4000 G) e em domínios diluídos (H de 500 a 2500 G).

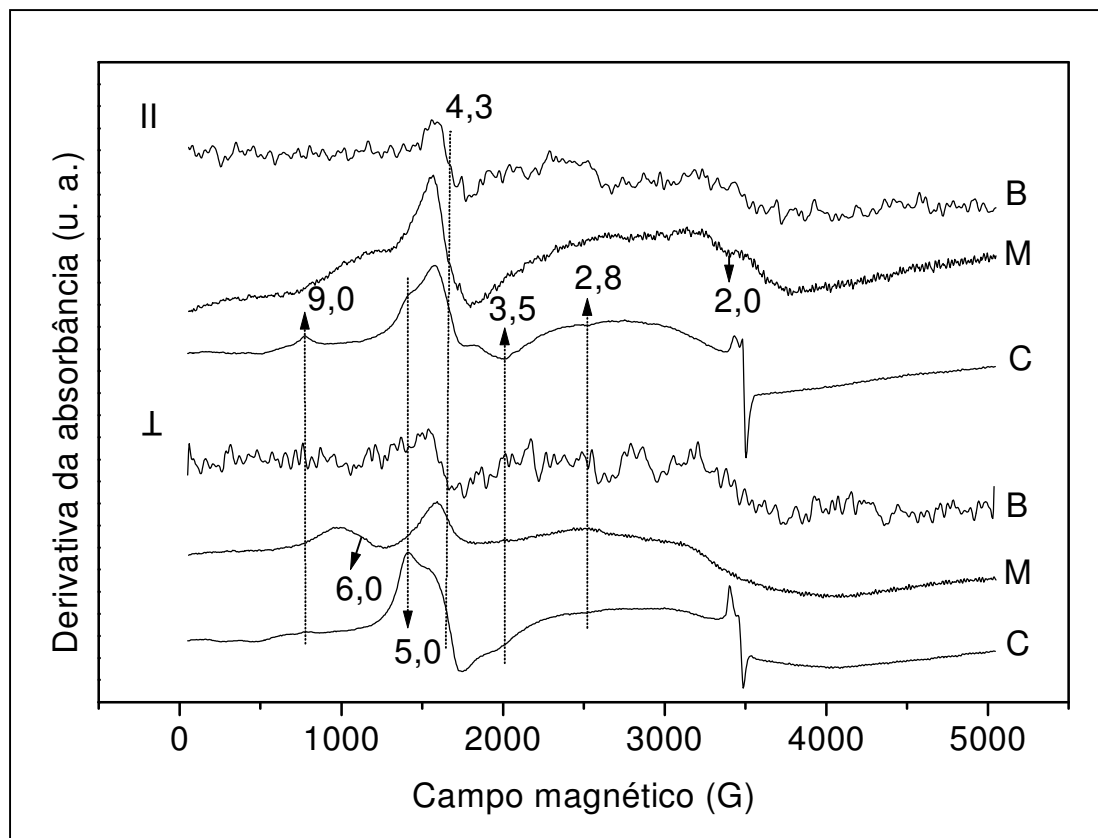


FIGURA 20 - ESPECTROS DE EPR PARALELOS (II) E PERPENDICULARES (\perp) DE BIOTITA (B), MUSCOVITA (M) E CAULINITA (C).

Para a biotita rica em ferro, os espectros apresentaram somente uma linha isotrópica fraca em $g \sim 4,3$ (34XYZ), sugerindo a presença de Fe^{3+} em pequenas quantidades em sítios distorcidos rombicamente. Íons Fe^{2+} são silenciosos às medidas de EPR em temperatura ambiente. Além disso, interações magnéticas entre Fe^{2+} e Fe^{3+} de amostras muito concentradas conduzem ao alargamento da linha de EPR. Para a muscovita, além do sítio de Fe^{3+} com linha em $g \sim 4,3$ ($\text{Fe}_{(I)}$), o espectro \perp apresentou linha larga em $g_{\perp} \cong 6,0$ e o espectro II linha pouco intensa em $g_{\parallel} \cong 2,0$, sugerindo a presença de íons Fe^{3+} em sítios com simetria quase axial ($D \neq 0$ e $E \cong 0$) (GOODMAN e HALL, 1994), com o sítio de Fe^{3+} distorcido tetragonalmente ao longo do eixo z, este orientado paralela e o plano xy perpendicularmente às lamelas

do mineral. As ilustrações de GOODMAN e HALL, 1994, das posições das várias linhas de ressonância para Fe^{3+} calculadas por AASA (1970), mostram que a linha com $g_{\perp} \cong 6,0$ pode resultar da transição 12XY (transições de spin de $-5/2$ para $-3/2$ nos eixos X e Y de magnetização) e a com $g_{\parallel} \cong 2,0$ da transição 12Z (transições de spin de $-5/2$ para $-3/2$ no eixo Z de magnetização). Esta simetria concordaria com a menor distância basal para a muscovita em relação à biotita, e seria favorecida pela falta de íon metálico numa das posições octaédricas, visto que a muscovita é dioctaedral.

A caulinita mostra íons Fe^{3+} em domínios diluídos, em dois sítios de simetria: $\text{Fe}_{(I)}$ e $\text{Fe}_{(II)}$, e este último apresenta uma linha em $g = 5,0$, resultante da transição 34Z, mais intensa no espectro \perp , e linhas com $g = 9,0$ (12Y), 3,5 (34X) e 2,8 (34Y) intensificadas no espectro \parallel , sugerindo a presença de Fe^{3+} em sítio octaédrico distorcido rombicamente, mas tendendo à axialidade, onde o eixo z está orientado mais perpendicularmente e os eixos x e y mais paralelos aos planos do mineral. Os minerais 2:1 apresentam maior área de superfície específica (ASE) e maior capacidade de troca catiônica (CTC), porém o íon Fe^{3+} observado como ‘impureza’, ocupa posições octaédricas na camada de alumínio localizada dentro de duas camadas tetraédricas de silicato. Poderia ser indicado que o poder oxidante das caulinitas (mineral 1:1) e óxidos de ferro é favorecido naturalmente porque ocorrem via redução de $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ localizados na superfície do mineral, e ainda, que a possibilidade dos DIR, nas caulinitas, estarem próximos de Fe^{3+} , favoreceria o aumento do déficit eletrônico nestas. Outra importante informação inédita deste trabalho diz respeito à diminuição da simetria dos sítios de impurezas de Fe^{3+} na escala geológica. Enquanto a muscovita apresenta sítios de complexação com simetrias axiais, $D \neq 0$, $E = 0$, dentro da camada de sítios octaédricos protegida por duas camadas tetraédricas, a caulinita apresenta esses sítios bem menos simétricos, $D \neq 0$, $E \neq 0$.

5.3.1 – Considerações relevantes

Apesar dos minerais 2:1 apresentarem maior área de superfície específica (ASE) e maior capacidade de troca catiônica (CTC), os resultados sugerem que o

poder oxidante das caulinitas (mineral 1:1) é favorecido porque ocorrem via redução, $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$, localizados na superfície do mineral. E ainda, que a possibilidade dos DIR, nas caulinitas, estarem próximos de sítios Fe^{3+} , favoreceria o aumento do déficit eletrônico nestas, tornando-as maiores oxidantes que argilas 2:1.

Outra importante informação inédita deste trabalho diz respeito à diminuição da simetria dos sítios de impurezas de Fe^{3+} na escala geológica. Enquanto a muscovita apresenta sítios de complexação com simetrias axiais, $D \neq 0$, $E = 0$, dentro da camada de sítios octaédricos protegida por duas camadas tetraédricas, a caulinita apresenta esses sítios bem menos simétricos, $D \neq 0$, $E \neq 0$.

5.4 – ESTUDO DE QUÍMICA DE SUPERFÍCIE DA CAULINITA POR XPS e EPR

A figura 21 mostra os espectros de EPR das amostras de caulinita em campo magnético de 5000 G.

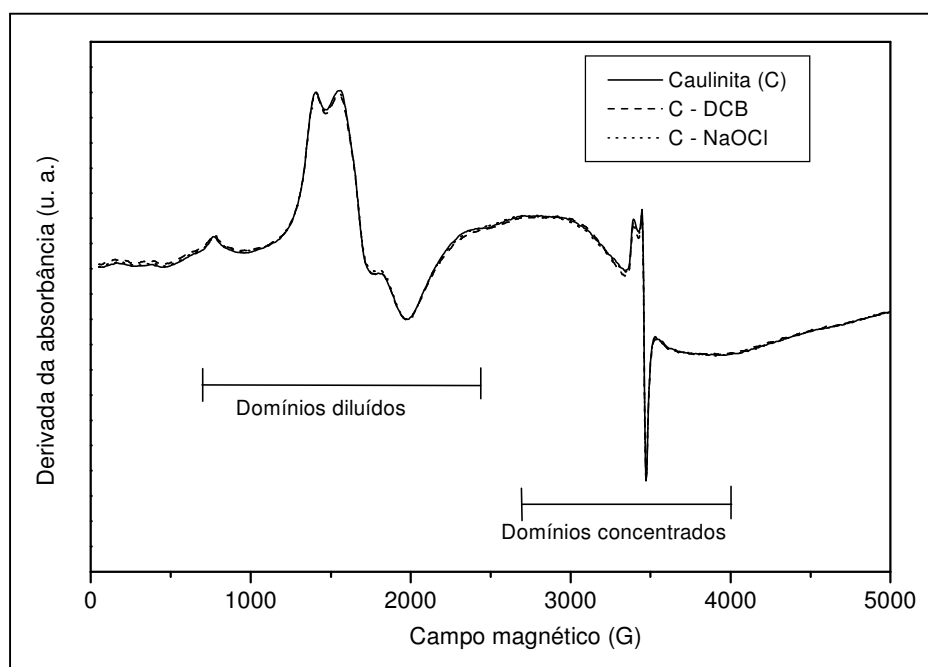


FIGURA 21 – ESPECTROS DE EPR EM 5000 G DAS AMOSTRAS DE CAULINITA.

As interações entre os centros de Fe^{3+} em domínios concentrados, dando origem à linha larga entre aproximadamente 2800 e 4000 G, podem ser atribuídas a interações entre oxi-hidróxidos de ferro adsorvidos ao mineral, cujos íons de Fe^{3+} podem ser reduzidos, quelados e eliminados pelo tratamento com DCB. Nenhuma

diferença significativa pode ser observada nos espectros da caulinita (C), caulinita tratada com DCB (C – DCB) e caulinita tratada com NaOCl (C – NaOCl) nos espectros inteiros a 5000G, sugerindo que a linha larga de domínios concentrados resulta da presença em maior quantidade de íons Fe^{3+} em formações como ‘clusters’ ou nanofases de óxidos ou oxi-hidróxidos de ferro, resistentes ao tratamento com DCB (BALAN *et al.*, 2000).

Espectros foram obtidos na região dos domínios diluídos, 1200 a 2300 G, e as áreas foram calculadas após integração dos mesmos (Figura 22). A área sob a curva do espectro da caulinita tratada com DCB apresentou-se maior (48,01 u. a.) em relação a caulinita pura (44,15 u. a.). Esta diferença não pode ser considerada significativa porque está dentro da faixa do erro relacionado aos procedimentos experimentais e de correção de linha de base no tratamento do espectro, que, segundo BALAN *et al.* (2000), é menor que 10 %. Este valor também é mostrado por ALLARD *et al.* (1994), após repetições de experimentos.

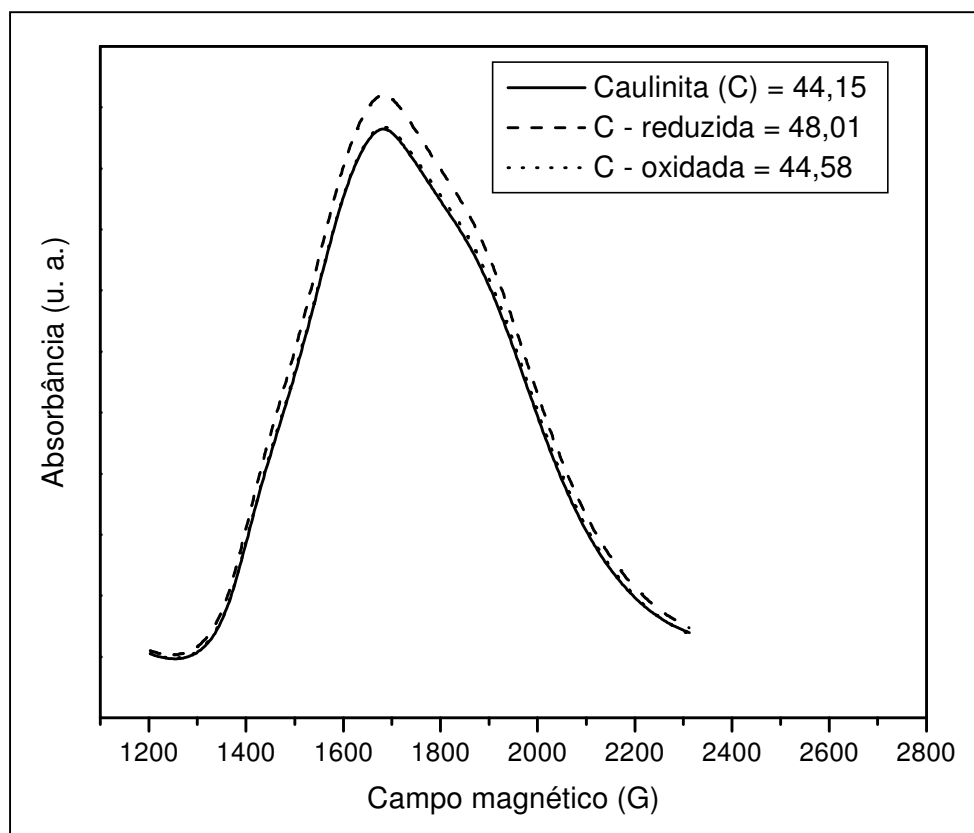


FIGURA 22 – ESPECTROS DE EPR REGISTRADOS NOS DOMÍNIOS DILUÍDOS DE FERRO E INTEGRADOS.

No entanto, essa diminuição poderia indicar a redução de Fe^{3+} em domínios concentrados com conseqüente aumento do sinal de Fe^{3+} em domínios diluídos. Comportamento análogo ocorre quando são obtidos os espectros em temperaturas mais baixas (BALAN *et al.*, 2000), como 77 K, por exemplo, onde as interações dipolares entre os íons Fe^{3+} em domínios concentrados diminuem, devido a diminuição de intensidade de vibração, e esses íons passam a se comportar como estando em domínios diluídos. Este estudo sugere que alguns íons Fe^{3+} em domínios concentrados são reduzidos e os remanescentes apresentam sinal em domínios diluídos.

Novamente, MULLER e CALAS, 1989, dizem que o tratamento com DCB não tem qualquer efeito aparente na estrutura da caulinita, ou na largura e intensidade das linhas de Fe^{3+} . Assim, este resultado indica que o tratamento com DCB reduz apenas íons Fe^{3+} de oxi-hidróxidos adsorvidos ao mineral mostrando que domínios concentrados podem resultar também da interação entre íons de Fe^{3+} de oxi-hidróxidos de ferro adsorvidos na caulinita e íons Fe^{3+} estruturais da mesma. Um esquema desta indicação é apresentado na figura 23.

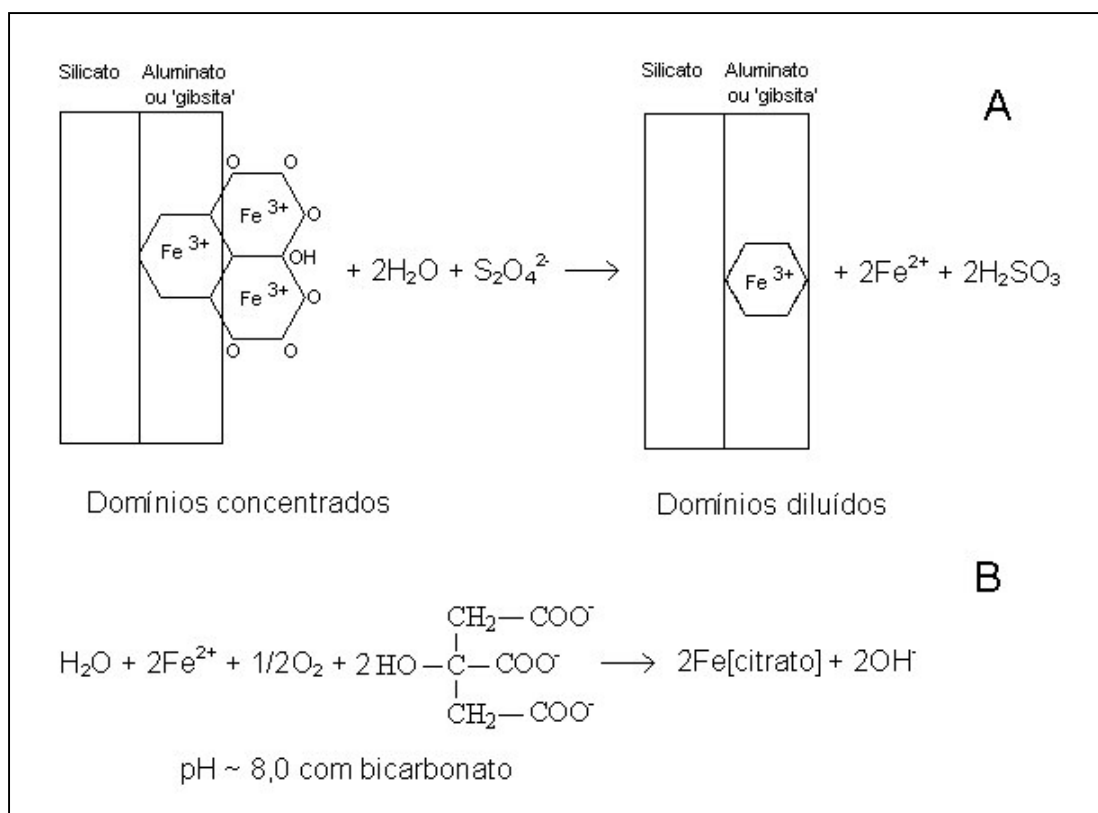


FIGURA 23 – ESQUEMA PROPOSTO PARA AS REAÇÕES DE REDUÇÃO (A) E COMPLEXAÇÃO (B) DE Fe^{3+} DOS DOMÍNIOS CONCENTRADOS DA CAULINITA APÓS TRATAMENTO COM DCB.

Este esquema seguiu o modelo apresentado por DRITS e MANCEAU (2000) para o mecanismo de redução de Fe^{3+} a Fe^{2+} em esmectitas dioctaedrais com ferro estrutural.

Observando os espectros obtidos na região dos DIR, em pó (Figura 24), alterações ocorrem também com estes centros. Os centros A' são menos estáveis, e a possível proximidade com íons Fe^{2+} poderia provocar a re-oxidação a Fe^{3+} e conseqüente redução e extinção de DIR. O centro A' tem um tensor-g levemente menos anisotrópico e estabilidade térmica pouco menor que o centro A (GOODMAN e HALL, 1994).

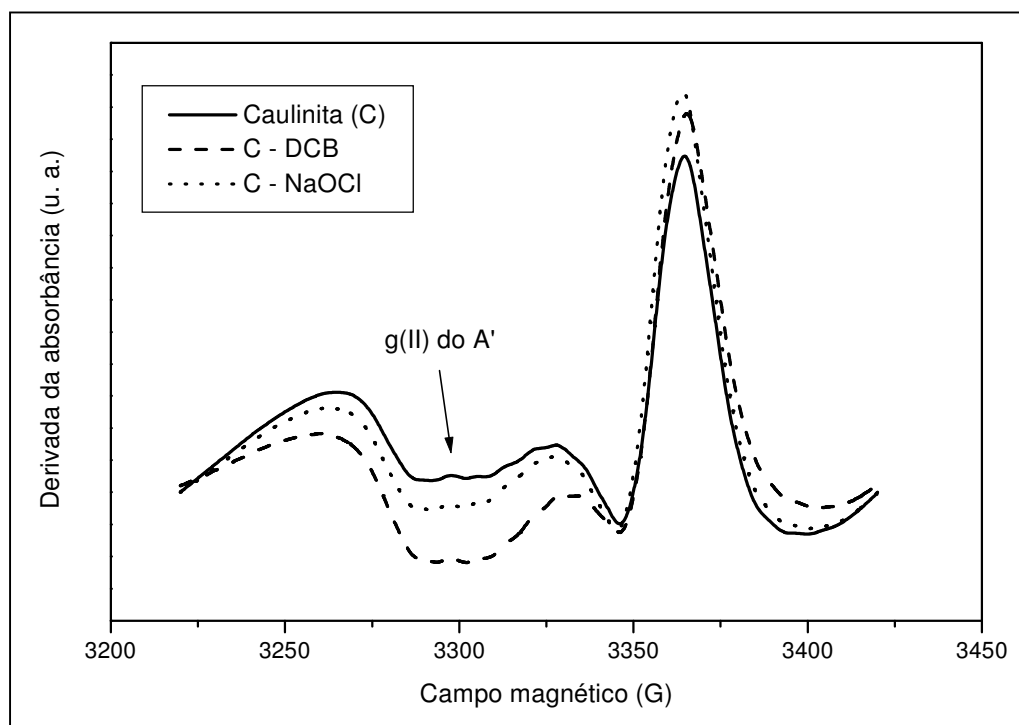
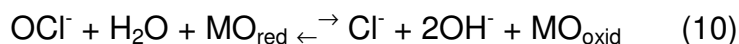
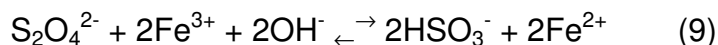


FIGURA 24 – ESPECTROS DE EPR NA REGIÃO DOS DIR.

Para a caulinita tratada com NaOCl a área sob a curva no espectro de EPR (44,58 u.a.) praticamente não apresentou diferença em relação a não tratada (44,15 u.a.), indicando nenhuma ou mínima modificação da concentração de Fe^{3+} por este tratamento. OSEI e SINGH, 1999, quando utilizaram o tratamento com NaOCl para oxidar matéria orgânica de frações de argila, demonstraram que não houve extração de ferro da fração mineral.

As reações de redução do Fe^{3+} pelo DCB e de oxidação da matéria orgânica pelo OCl^- podem ser resumidas pelas seguintes equações químicas:



A Figura 25 apresenta o espectro de XPS de alta resolução para C1s da amostra de caulinita natural, sem tratamento, no qual o pico assimétrico foi deconvoluído em três componentes 'Gaussianos-Lorentzianos'. Aqui tem lugar outra importante contribuição desta tese: a caracterização de estruturas orgânicas recalcitrantes em minerais de argila típicos de solos tropicais.

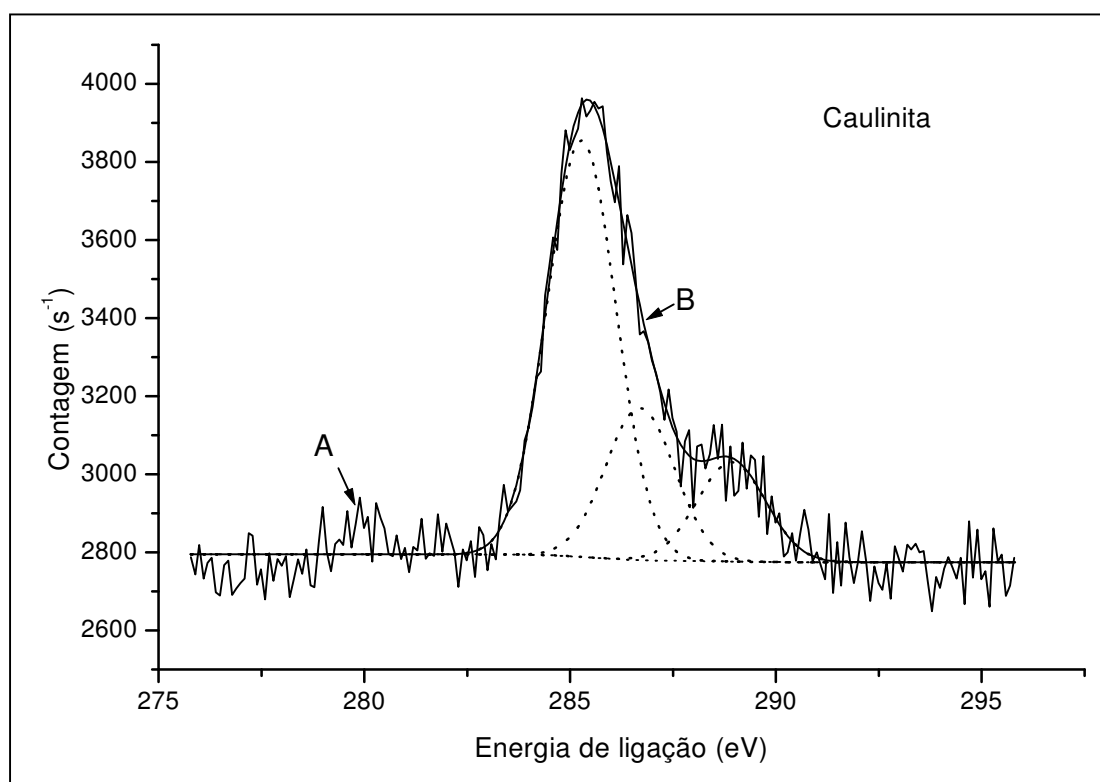


FIGURA 25 – ESPECTRO DE XPS, DE ALTA RESOLUÇÃO PARA, C1S: (A) EXPERIMENTAL, (B) CURVA AJUSTADA EM COMPONENTES 'GAUSSIANOS-LORENTZIANOS' EM LINHAS PONTILHADAS.

As energias de ligação obtidas para os três componentes, C(1) em 285,3 eV, C(2) em 286,7 eV, e C(3) em 288,9 eV, foram atribuídos a: C(1) carbonos aromáticos e alifáticos presentes também em estruturas de substâncias húmicas, C(2) carbonos alcoólicos e fenólicos, e C(3) carbonos de carbonilas (C=O) de amidas ou grupos carboxílicos. O espectro de XPS de N1s da caulinita não tratada

também mostrou um pico assimétrico que foi ajustado com dois componentes ‘Gaussianos-Lorentzianos’ atribuídos a amidas, N(1) em 399,7 eV, e aminas protonadas, N(2) em 401,0 eV (BRIGGS e BEAMSON, 1992). Utilizando os dados de XPS deste trabalho calculou-se a percentagem de carbono e nitrogênio existente na caulinita “pura”, como sendo de 2,91 e 0,73 % (m/m), respectivamente. As informações obtidas a partir destes resultados são importantes no estudo da afinidade entre componentes orgânicos e inorgânicos dos solos, assunto muito discutido em ciência do solo. Importância se dá a estas interações também quando o foco de estudo é o mecanismo de seqüestro de carbono (SWIFT, 2001). O carbono é seqüestrado nos solos quando se torna resistente à decomposição e adquire estabilidade. A capacidade dos solos de serem fonte de CO₂ atmosférico está estreitamente relacionada à velocidade de degradação da matéria orgânica durante processos do uso da terra. Todas as funções orgânicas identificadas por XPS são comumente encontradas em substâncias húmicas como a humina, por exemplo, que se acredita ser a fração mais recalcitrante e, portanto, a mais responsável pelo seqüestro de carbono nos solos (RICE, 2001). Humina é a fração húmica insolúvel em meio aquoso por apresentar menor número de estruturas orgânicas hidrofílicas e estar mais intimamente ligada a estruturas inorgânicas do solo.

A Tabela 3 apresenta as energias de ligação dos picos Si2p_{3/2}, C1s, N1s, O1s, Al2p_{3/2} e Na1s para as amostras caulinita não tratada (pura), tratada com DCB e com NaOCl.

TABELA 3 - ENERGIA DE LIGAÇÃO (EV) DOS PICOS DE XPS DE CAULINITA DECONVOLUÍDOS.

Picos / amostras	Caulinita pura	Caulinita - DCB	Caulinita - NaOCl
Al2p _{3/2}	74,3	74,3	74,2
Si2p _{3/2}	102,7	102,7	102,7
C1s (1)	285,3	285,3	285,3
C1s (2)	286,7	286,9	286,8
C1s (3)	288,9	289,1	289,4
N1s (1)	399,7	399,4	399,5
N1s (2)	401,0	400,8	401,0
O1s (1)	532,3	531,5	532,2
O1s (2)	532,9	532,4	532,6
O1s (3)	---	533,0	533,1
Na1s		1073,6	1073,7

O espectro do O1s mostrou um pico assimétrico que foi ajustado com dois componentes 'Gaussianos-Lorentzianos' com energias de ligação de 532,3 e 532,9 eV, atribuídos aos oxigênios da caulinita (BARR, 1983) e oxigênios de álcoois e fenóis.

O espectro do Al2p_{3/2} apresentou um pico simétrico em 74,3 eV que está de acordo com a presença de Al na estrutura da caulinita. A relação entre as áreas dos picos de Al, Si e O foi correlacionada com a relação entre o número de átomos da fórmula mínima da caulinita, considerando o fator de sensibilidade do equipamento para cada elemento. Por exemplo, a relação entre as áreas Si/Al deverá ser de 1 (4Si:4Al), enquanto que Si/O(1) deverá ser de 0,5 (4Si:8OH) e Si/O(2) deverá ser 0,4 (4Si:10O). Assim, as áreas dos picos foram divididas pelo fator de sensibilidade dos respectivos elementos e foram obtidas as relações entre as áreas do Si2p_{3/2} e dos demais picos ou razões atômicas (Tabela 4).

TABELA 4 – RAZÕES ATÔMICAS PARA OS PICOS AJUSTADOS NOS ESPECTROS DE XPS.

Razões atômicas	Caulinita (C)	C - DCB	C – NaOCl
Si/O(1)	0,46	2,35	0,53
Si/O(2)	0,40	0,52	0,76
Si/O(3)	---	0,46	0,62
Si/Al	1,09	1,03	1,04
Si/C(1)	4,93	5,16	4,57
Si/C(2)	13,51	21,28	20,74
Si/C(3)	20,67	32,27	51,38
Si/N(1)	29,71	48,18	171,82
Si/N(2)	25,82	39,67	1173,92

As razões atômicas Al/Si obtidas a partir das áreas dos picos ajustados nos espectros da caulinita concordam com a fórmula mínima da mesma, mostrando que não há presença de sílica na superfície desta argila (BARR, 1983). As relações entre as áreas Si/O (1 e 2) e Si/Al para a caulinita pura estão de acordo com o esperado, 0,46, 0,40 e 1,09, respectivamente. Desta forma, seria possível a quantificação da matéria orgânica (MO) presente como contaminante na superfície da caulinita: 0,8 átomos de C alifáticos/aromáticos (C1s (1)); 0,3 átomos de C de carbonos alcoólicos e fenólicos (C1s (2)); 0,2 átomos de carbonos de carbonilas (C=O) de amidas ou grupos carboxílicos (C1s (3)); 0,13 átomos de N de amidas (N1s (1)) e 0,15 átomos de N de aminas protonadas (N1s (2)), por fórmula mínima. Essa matéria orgânica

teria origem no passado geológico, quando da formação do depósito caulinítico, e teria persistido no ambiente pela interação com o mineral.

Os valores de energias de ligação para as amostras tratadas com DCB e NaOCl são quase os mesmos da caulinita não tratada, entretanto, o componente C(3) mostra uma tendência a mudar para energia de ligação maior em ambos os tratamentos. Apesar de essa mudança ser pequena, somente +0,2 e +0,5 eV para caulinita tratada com DCB e NaOCl, respectivamente, seria possível sugerir que a matéria orgânica remanescente na superfície da caulinita após os tratamentos tem mais carboxilatos que amidas, uma vez que ácidos carboxílicos apresentam pico de C1s em energia de ligação maior. Isto poderia ocorrer pela hidrólise de amidas, ou ruptura de camadas mais fracamente unidas, ou até pela oxidação de grupos alcoólicos pelo tratamento, hipótese mais provável no caso do tratamento com NaOCl. Esta mudança para maior energia de ligação é acompanhada pela maior razão atômica do Si/C(3) e Si/O (Tabela 3) das amostras tratadas, e especialmente para o tratamento com NaOCl. Isto concordaria com o maior potencial de oxidação da solução de hipoclorito ($E^0 = 0,89$ V, COTTON e WILKINSON, 1988) quando comparada a solução de DCB ($E^0 = -1,12$ V, COTTON e WILKINSON, 1988). Na verdade, o DCB é uma mistura redutora. O pH básico das duas soluções, hipoclorito (pH = 11) e DCB (pH = 8), também corroboram para a hidrólise da amida a carboxilatos. A solução de DCB ainda favoreceria a reação por aumentar o caráter de base de Lewis da superfície que poderia funcionar como ativador da superfície para a catálise básica da hidrólise da amida. O aumento de grupos carboxilatos mudaria o potencial de superfície, resultando numa superfície mais carregada negativamente, assim uma adsorção de cátions da solução seria necessária. Isto pode ser evidenciado pelo enriquecimento da superfície da caulinita por Na^+ nas amostras tratadas. Este aumento poderia ser devido a cristalização de NaCl ou outro sal inorgânico proveniente da solução, contudo, o espectro 'survey' não mostrou linhas para Cl ou S. A diminuição nas razões atômicas favorece a hipótese da ruptura ou limpeza da superfície, desde que somente a oxidação resultaria num aumento da concentração de C(3) e O na superfície do mineral. O conteúdo de N na superfície é drasticamente diminuído, provavelmente por mecanismos de hidrólise e ruptura. A estrutura da superfície da caulinita parece permanecer preservada em ambos os tratamentos, uma vez que mudanças importantes na razão Si/Al não

foram detectadas. A figura 26 apresenta os espectros de XPS de alta resolução para C1s, N1s e O1s das amostras de caulinita não tratada e tratadas com DCB e NaOCl.

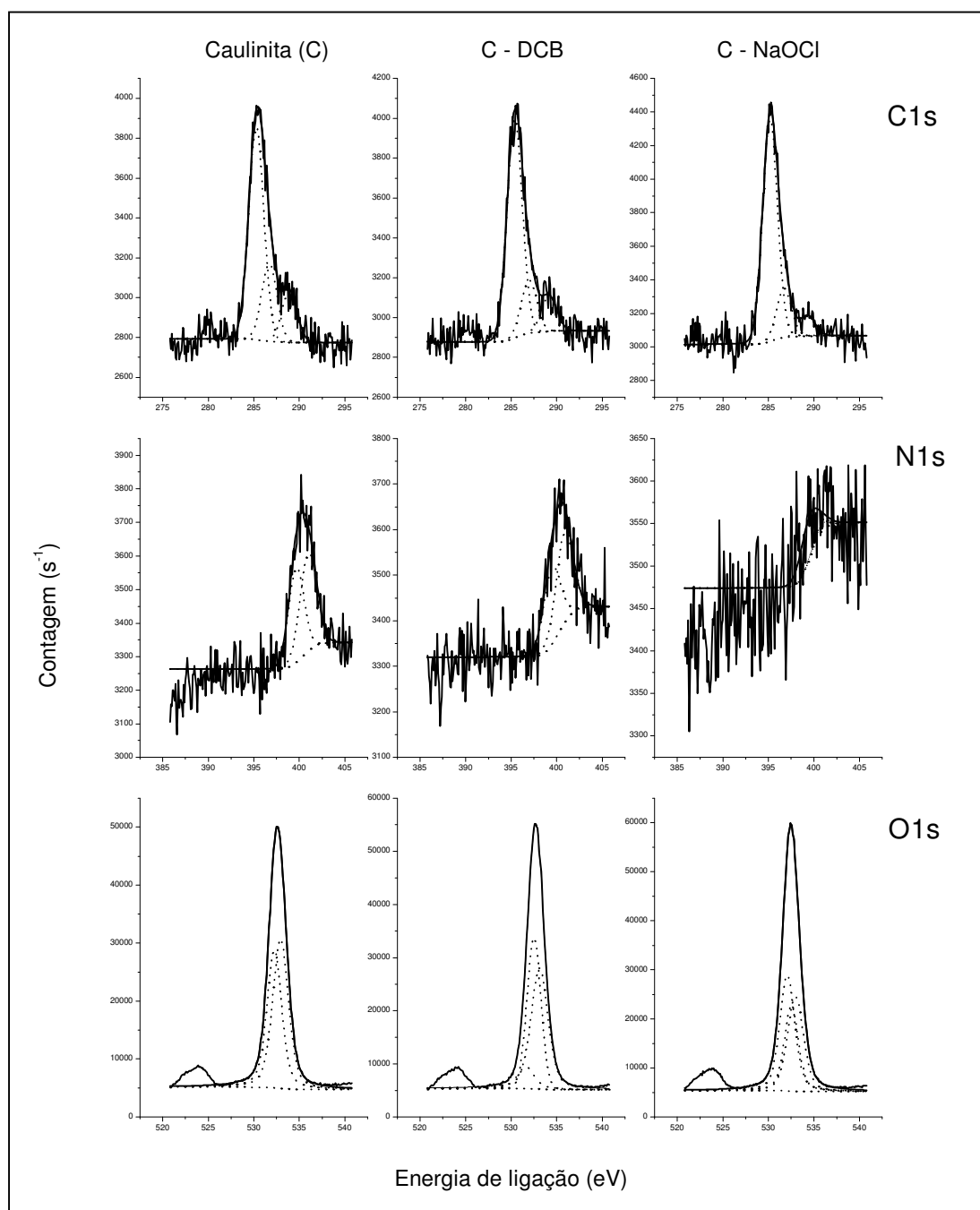


FIGURA 26 - ESPECTROS DE XPS DE ALTA RESOLUÇÃO PARA C1s, N1s E O1s DAS AMOSTRAS DE CAULINITA NÃO TRATADA E TRATADAS COM DCB E NaOCl.

Outros autores relatam o uso da solução de DCB para eliminação de impurezas de ferro nos minerais de argila. Contudo, o mecanismo desta reação permanece incerto, pois não existem dados espectroscópicos que permitam avaliar

as reações de superfície no mineral. Este estudo tenta demonstrar a presença de interações bastante estáveis entre a caulinita e a matéria orgânica, húmica, e que o tratamento com o DCB é efetivo na redução e remoção de ferro da superfície do mineral. O possível mecanismo de remoção de ferro está relacionado à “limpeza” da matéria orgânica sobre as camadas e aumento de grupos funcionais oxigenados na superfície. A redução de Fe^{3+} a Fe^{2+} pelo tratamento com DCB, evidenciada por EPR, resultaria na perda de MO ligada por grupos carboxilatos, e/ou fenolatos, visto que Fe^{2+} é ácido de Pearson mais mole e não coordena tão bem com estes grupos ligantes duros.

5.4.1 – Considerações relevantes

A espectroscopia de XPS mostra que a matéria orgânica adsorvida à caulinita é constituída de funções amida, aminas protonadas, ou provavelmente ligadas às hidroxilas das estruturas de gibisita via ligações de hidrogênio, funções fenólicas e arcabouços alifáticos/aromáticos, provavelmente constituindo o que chamamos de huminas.

O potencial da caulinita de interagir com estruturas orgânicas, importante na formação de agregados resistentes à degradação e conseqüente acúmulo de matéria orgânica recalcitrante favorecendo o seqüestro de carbono nos solos tropicais, fica evidenciado.

Os centros de Fe^{3+} e de DIR da caulinita podem ser importantes na atividade de catálise na formação de substâncias húmicas nos solos, por oxidação da matéria orgânica.

A técnica de XPS é adequada para qualificação e quantificação de compostos orgânicos em superfície de minerais, principalmente filosilicatos, pois razões atômicas podem ser obtidas a partir das áreas dos picos ajustados. Assim, interações orgânico-inorgânicas de estruturas de solos, principalmente mais resistentes, o que tem importância quando se trata de seqüestro de C, podem ser estudadas contornando-se os artefatos envolvidos na extração de MO dos solos.

5.5 - ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DE HERBICIDAS S-TRIAZINAS EM SUPERFÍCIES DE ARGILAS

As propriedades físico-químicas dos minerais de argila são fundamentalmente influenciadas por sua composição e reatividade de superfície. Esses minerais têm propriedades redox e catalíticas ácidas importantes na degradação e humificação de substratos orgânicos no ambiente. A caulinita, estudada até o momento apresenta poder oxidante via redução de íons Fe^{3+} e de centros DIR. Contudo, para se estudar a degradação de herbicidas do tipo s-triazina, por exemplo, as estruturas orgânicas previamente presentes na caulinita devem ser consideradas.

Os herbicidas s-triazina aqui estudados foram: a) atrazina (2,cloro-4-etilamina-6-isopropilamina-1,3,5-triazina) (AT), b) ametrin (2,etilamina-4-isopropilamina-6-metiltio-1,3,5-triazina) (AM), e c) simazina (2,cloro-4,6-bis-etilamina-1,3,5-triazina) (SI). A atrazina é um dos herbicidas mais utilizados na agricultura e um preocupante contaminante de sistemas aquáticos (SHIN *et al.*, 2000).

Os difratogramas de raios-X (Figura 27) e os espectros no FTIR (Figura 28) mostram que a estrutura cristalina da caulinita não foi alterada pelos tratamentos com os herbicidas. Uma banda larga na região de 3440 cm^{-1} , observada nos espectros de FTIR para as amostras reagidas com os herbicidas, sugere a presença de água ou grupos-amina adsorvidos. O espectro da amostra tratada com atrazina apresentou, ainda, bandas características de vibrações C-H de grupos alifáticos, indicando a adsorção do herbicida.

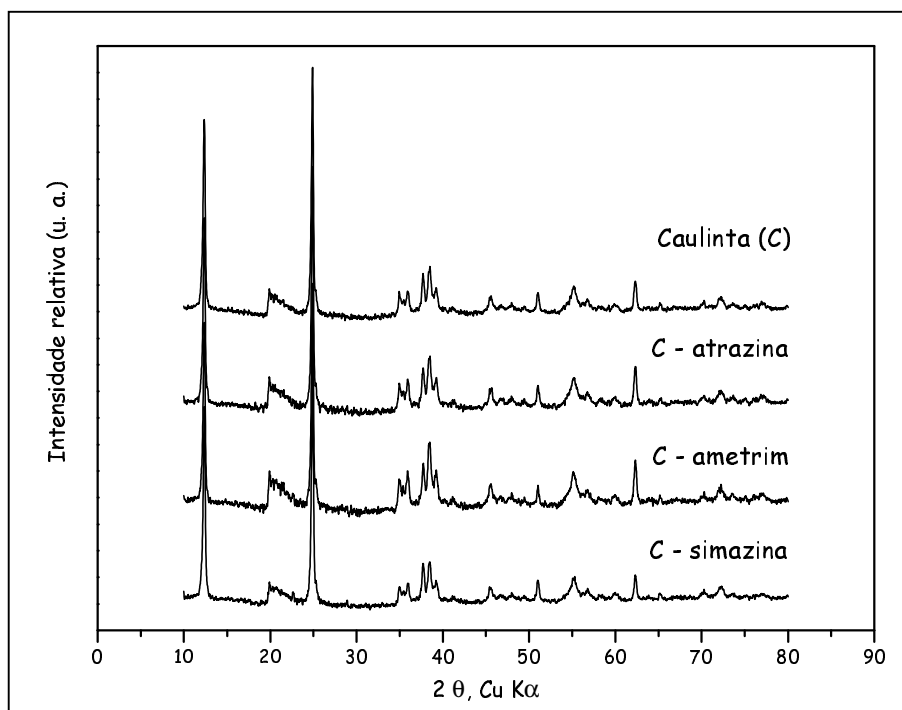


FIGURA 27 - DIFRATOGRAMAS DE RAIOS-X DA CAULINITA ANTES E APÓS AS REAÇÕES COM SOLUÇÕES AQUOSAS DE ATRAZINA, AMETRIN E SIMAZINA.

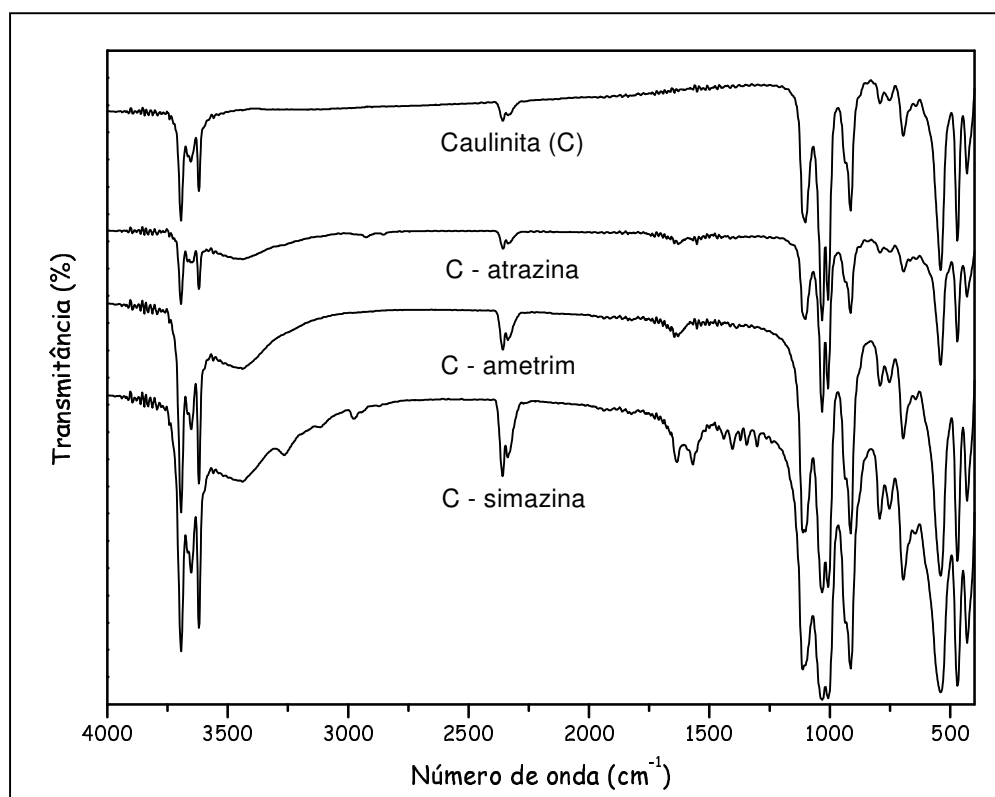


FIGURA 28 - ESPECTROS NO FTIR DAS AMOSTRAS DE CAULINITA ANTES E APÓS AS REAÇÕES COM SOLUÇÕES AQUOSAS DE ATRAZINA, AMETRIN E SIMAZINA.

As áreas sob a curva de adsorção de íons Fe^{3+} , em sítios de domínios diluídos nos espectros de EPR (Tabela 5), são menores para as amostras tratadas com ametrin e simazina, indicando que as interações devam estar ocorrendo via Fe^{3+} estrutural da caulinita. Neste caso as diferenças estão além da faixa de erro, 10 % (BALAN *et al.*, 2000) e, portanto, podem ser consideradas significativas.

TABELA 5 - ÁREAS SOB A CURVA DE ADSORÇÃO DE ÍONS Fe^{3+} EM SÍTIOS DE DOMÍNIOS DILUÍDOS NOS ESPECTROS DE EPR.

Amostras	Área (u. a.)
Caulinita	10,332
Caulinita + Atrazina	10,271
Caulinita + Ametrin	8,289
Caulinita + Simazina	8,205

SHIN *et al.*, 2000, relataram a formação de estruturas N-dealquiladas da atrazina após 48 h de reação em superfície de $\delta\text{-MnO}_2$ (ver figura 2, pág. 6). Esta N-dealquilação não fotoquímica e abiótica do herbicida, catalisada na superfície do mineral, difere das reações microbiológicas dos solos pela alta velocidade de reação e diferente distribuição dos produtos N-dealquilados formados.

Os espectros de XPS para os átomos de C1s e de N1s das amostras de caulinita tratada com os herbicidas atrazina, ametrin e simazina são mostrados na Figura 29.

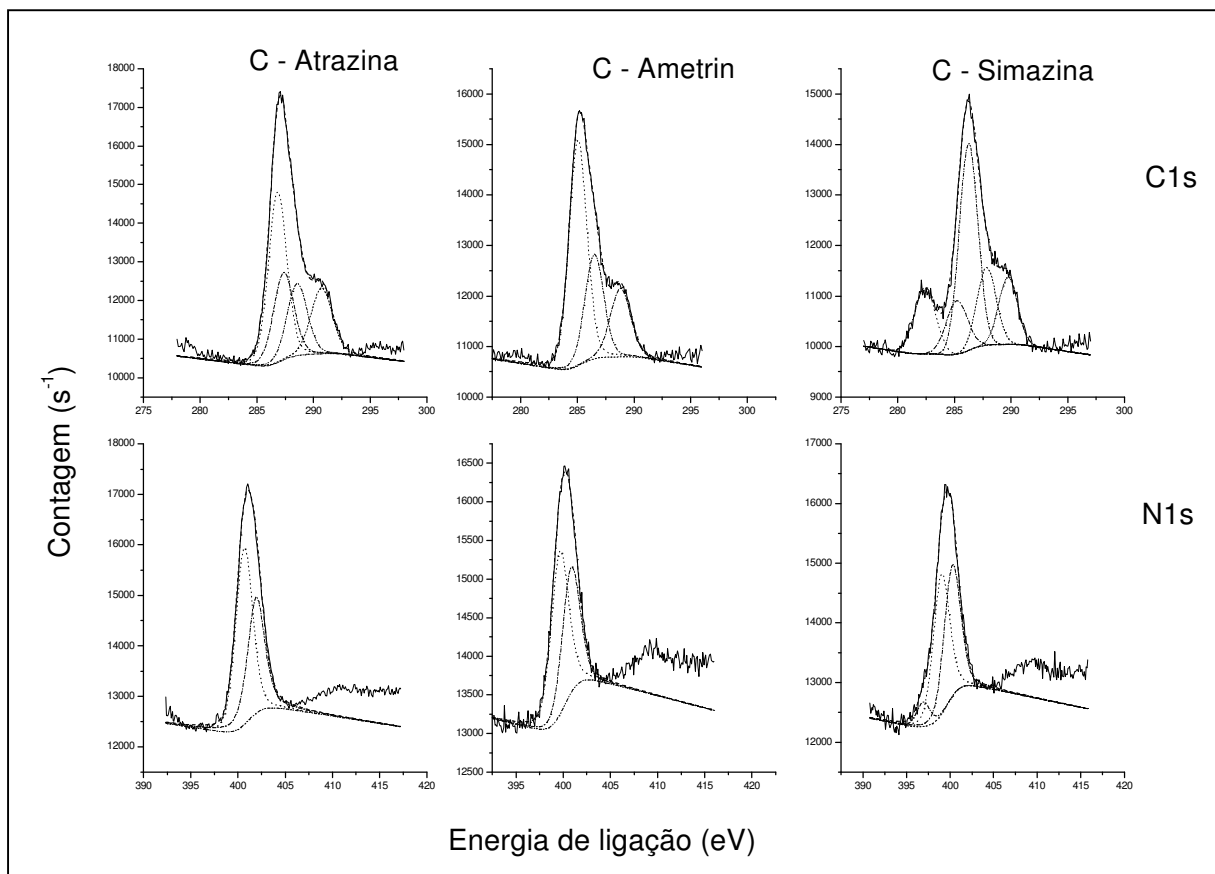


FIGURA 29 - ESPECTROS DE XPS PARA OS ÁTOMOS DE C1s E DE N1s, RESPECTIVAMENTE.

Razões atômicas entre as áreas dos picos de XPS não foram determinadas, porém observa-se o deslocamento dos picos, ajustados para C1s, para valores de energias maiores quando a amostra foi tratada com atrazina e simazina. Os espectros de XPS para os herbicidas puros em solução de CH_2Cl_2 apresentam 4 picos para o C1s: 285,72 eV para C dos grupos (CH_3), 286,49 eV para C dos grupos (NCH_2), 287,43 eV para C aromáticos ligados às aminas e 289,76 eV para C aromático ligado ao Cl. Para o N1s os espectros apresentam 2 picos com energias de ligação de 399,96 eV para os N alifáticos e de 401,33 eV para os N aromáticos. Os deslocamentos observados nas amostras de caulinita tratados com atrazina e simazina poderiam ser atribuídos a adsorção ou a produtos de degradação dos mesmos na superfície do mineral. Os valores das áreas de Fe^{3+} , em domínios diluídos, calculados para a caulinita, indicam que o herbicida atrazina não interagiu com os sítios de Fe^{3+} da estrutura do mineral, podendo ter ficado adsorvido,

enquanto que para a simazina houve redução da área, de 10,332 u.a. para 8,205 u. a., podendo indicar a interação com estes sítios estruturais de Fe^{3+} . A reação da caulinita com ametrin não mostrou produtos de degradação nem deslocamento das energias de ligação (Tabela 6), porém no espectro de EPR houve redução da área para os sítios de Fe^{3+} em domínios diluídos de 10,332 a 8,289 u. a.

A tabela 6 apresenta as energias de ligação dos picos ajustados para C1s e N1s das amostras de caulinita tratada com soluções aquosas dos herbicidas atrazina, ametrin e simazina.

TABELA 6 - ENERGIAS DE LIGAÇÃO DOS PICOS AJUSTADOS PARA C1s E N1s DAS AMOSTRAS DE CAULINITA TRATADA COM SOLUÇÕES AQUOSAS DOS HERBICIDAS ATRAZINA, AMETRIN E SIMAZINA.

	Caulinita	Caulinita/ atrazina	Caulinita/ ametrin	Caulinita/ simazina
Si2p _{3/2}	102,7	---	---	---
				282,4
C1s (1)	285,3		285,1	285,2
C1s (2)	286,7	286,8	286,5	286,3
		287,3		287,8
C1s (3)	288,9	288,6	288,8	
				289,7
		290,7		
N1s (1)	---	---	---	396,9
N1s (2)	399,7	400,7	399,6	399,0
N1s (3)	401,0	401,9	400,8	400,3

Espectros de EPR registrados em segunda derivada na região de campo magnético alto (3100 a 3600 G), a temperatura de 77 K, (Figura 30), apresentam, além dos centros de DIR, um sexteto de linhas, no caso da interação com ametrin, com g em torno de 2 e interação hiperfina, A igual 92,5 G, característico de íons Mn^{2+} formando complexos de esfera externa, sugerindo a redução de óxidos de Mn(IV) existentes como impureza na estrutura da caulinita pelo ametrin. Sabe-se que a caulinita pode conter pequenas quantidades de elementos de transição como ferro, vanádio e manganês (BALAN *et al.*, 2000) e que os estados de valência do íon e a posição atômica na estrutura dependem das condições de formação do mineral (MULLER e CALAS, 1993).

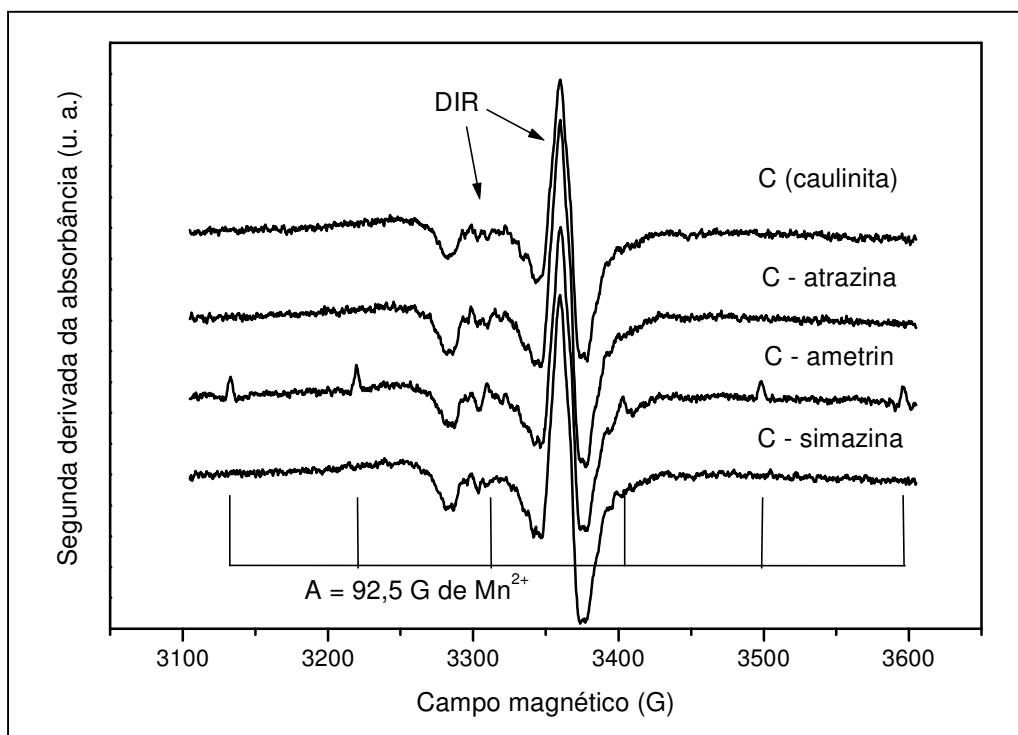


FIGURA 30 – ESPECTROS DE EPR, A 77K, EM SEGUNDA DERIVADA DAS AMOSTRAS CAULINITA ANTES E APÓS O TRATAMENTO COM SOLUÇÕES AQUOSAS DOS HERBICIDAS.

Sabe-se que a densidade eletrônica do anel triazínico é aumentada pelos radicais isopropil e etil, e que o átomo de Cl na posição 2 reduz esta densidade mais efetivamente que o $-SCH_3$, podendo tornar mais fácil a redução do Fe^{3+} pelos herbicidas na seguinte ordem: ametrin > simazina > atrazina, na superfície da caulinita.

O mecanismo de degradação dos herbicidas *s*-triazinas poderia seguir a proposta de SHIN *et al*, 2000, com as reações de oxidação das alquilas ligadas aos N de aminas e redução de Mn(IV), como no caso do ametrin. Neste trabalho está se propondo que, para que a degradação ocorra, em solos tropicais, ocorram também as reduções de Fe^{3+} e de centros DIR das caulinitas (Figura 31).

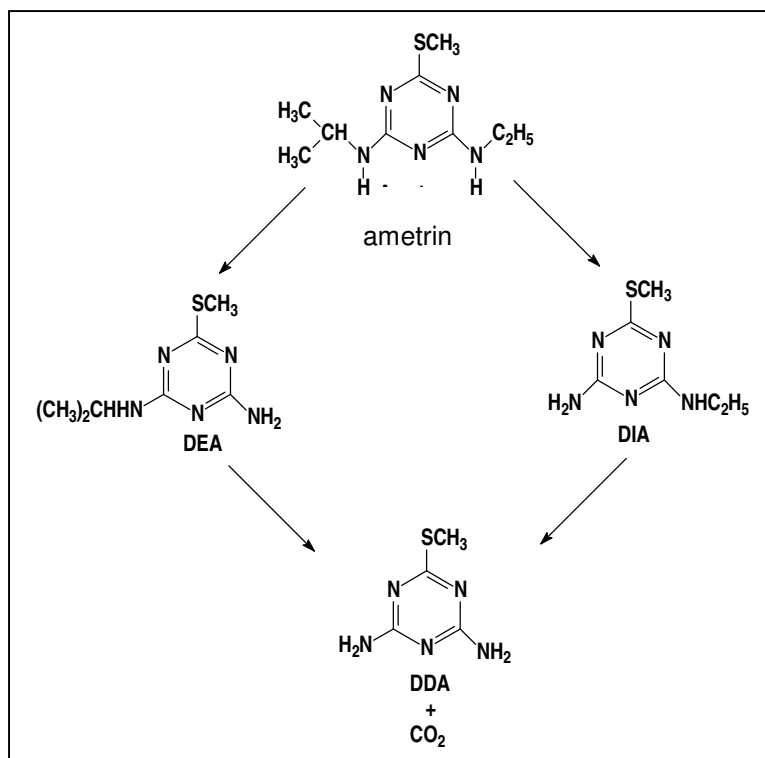


FIGURA 31 - PROPOSTA DE DEALQUILAÇÃO E MINERALIZAÇÃO DO AMETRIM, SEGUNDO PROPOSTA DE SHIN *et al.*, 2000, PARA A ÁTRAZINA.

5.5.1 – Considerações relevantes

O mecanismo de degradação dos herbicidas s-triazinas poderia seguir a proposta de SHIN *et al.*, 2000, com as reações de oxidação das alquilas ligadas aos N de aminas e redução de Mn(IV) da estrutura da caulinita, como no caso do ametrin. Neste trabalho, está se propondo que, para que a degradação ocorra, em solos tropicais, ocorram também as reduções de Fe^{3+} e de centros DIR das caulinitas.

5.6 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESPECTROSCÓPICA DA MELANINA EXTRAÍDA DO FUNGO *Boletinelus rompelii* E DO ÁCIDO HÚMICO EXTRAÍDO DO SOLO CULTIVADO COM O FUNGO

Os resultados da análise química de rotina das duas amostras de solos são mostrados na Tabela 7.

TABELA 7 – CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS SOLOS COM (SOLO 1) E SEM (SOLO 2) O CULTIVO DO FUNGO *B. rompelii* (camada de 0-20 cm).

Amostras	Ph		cmol _c /dm ³						g/dm ³	mg/dm ³	
	CaCl ₂	H ₂ O	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺ + Mg ²⁺	Al ³⁺	H ⁺ + Al ³⁺	MO.	P	Na
Solo 1	4,13	4,71	0,22	3,45	0,68	4,13	2,56	12,59	99,03	18,0	17
Solo 2	4,27	4,90	0,51	3,68	2,02	5,70	2,05	11,03	103,14	8,0	26

A amostra de solo onde ocorre o desenvolvimento do fungo apresenta menor teor de K⁺ (0,22 cmol_c/dm³) e Mg²⁺ (0,68 cmol_c/dm³), e maior teor de P (18 mg/dm³). Este solo é utilizado com culturas anuais, portanto, maiores quantidades de P neste solo podem ser atribuídas a adubações freqüentes com NPK. O fósforo é um nutriente que pode ficar retido irreversivelmente nos óxidos dos solos.

Ao término da liofilização do ácido húmico (AH) extraído do solo coletado onde havia o crescimento do fungo, foi observada a formação de duas fases sólidas, uma com aspectos visuais semelhantes aos de ácidos húmicos, e outra com aspecto visual mais cristalino que, com o auxílio de uma espátula, foram separadas em duas amostras, denominadas de AH1 e AH2, respectivamente (Figura 32).

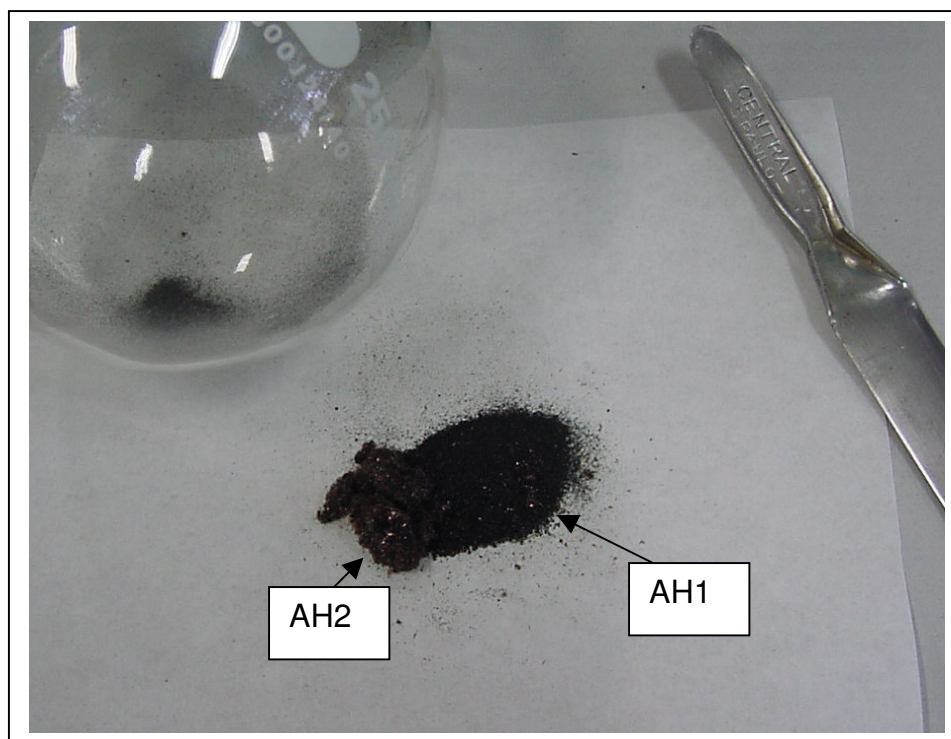


FIGURA 32 – FOTO DO ÁCIDO HÚMICO, APÓS A LIOFILIZAÇÃO, EXTRAÍDO DA AMOSTRA DE SOLO ONDE CRESCE O FUNGO *B. rompelii*: AH1, COM ASPECTOS VISUAIS SEMELHANTES AOS DE ÁCIDOS HÚMICOS E AH2, COM ASPECTO VISUAL MAIS CRISTALINO.

Essa curiosidade pode evidenciar as características hidrofílicas e hidrofóbicas das substâncias húmicas (SH), que podem ser consideradas como associações supramoleculares de moléculas relativamente pequenas e heterogêneas derivadas da degradação e decomposição de resíduos biológicos (PICCOLO, 2001). Estas moléculas são estabilizadas por forças ligantes fracas ao invés de ligações covalentes. Ligações hidrofóbicas (van der Waals, $\pi-\pi$, CH- π) e de hidrogênio são responsáveis pelo maior tamanho molecular das SH.

A liofilização é um processo de secagem do material congelado sob vácuo. Depois que a amostra de ácido húmico extraída do solo onde cresce o fungo foi colocada no liofilizador, durante a estabilização da pressão (10^{-3} mbar), ocorreu a formação de espuma sobre o material congelado. Esta espuma poderia ter separado moléculas hidrófobas e menores da amostra inteira, fragmentando-a nas duas fases que denominou-se de AH1 e AH2.

A figura 33 apresenta os espectros de EPR em campo magnético de 5000 G do AH1 (AH do solo com desenvolvimento do fungo), AH2 (cristal separado do AH com desenvolvimento do fungo), AH3 (AH do solo sem desenvolvimento do fungo) e

ME4 (melanina extraída do fungo). Entende-se aqui por melanina o produto da extração ácido-base, aplicada para ácidos húmicos de solos, utilizada na extração de compostos do cogumelo.

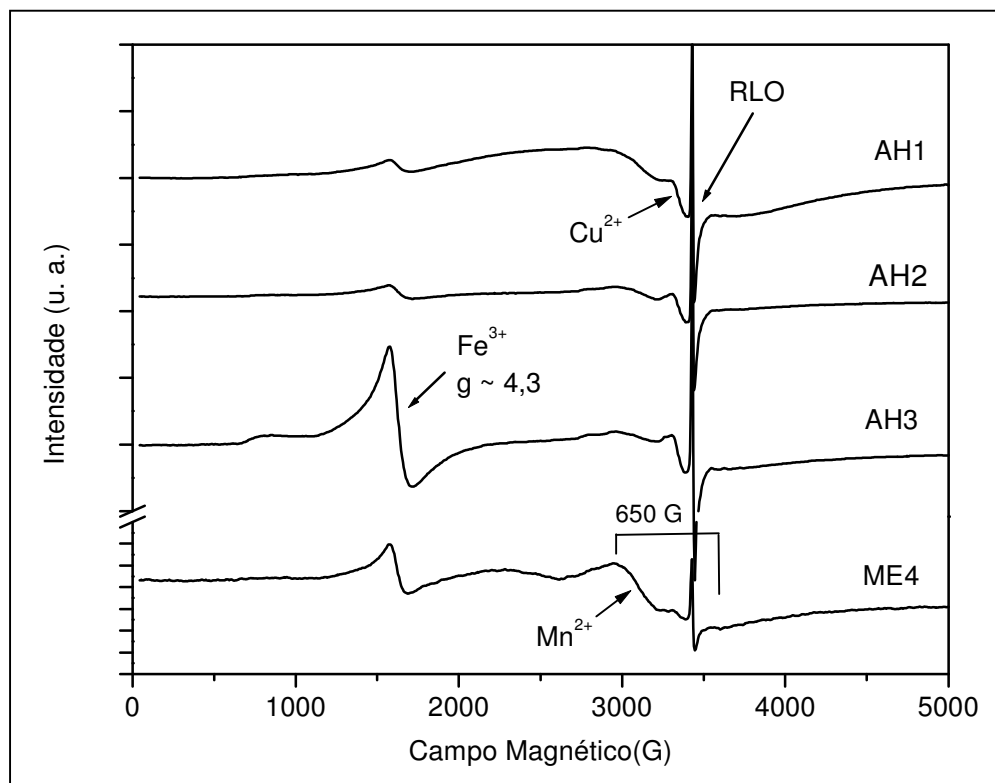


FIGURA 33 - ESPECTRO DE EPR NA REGIÃO DE 5000 G PARA O AH1, AH2, AH3 e ME4.

As moléculas de AH dos solos formam estruturas amorfas, diferentemente dos minerais dos solos. Por isso, os espectros de EPR de AH também são diferentes dos de minerais. Enquanto que nos espectros de minerais se observam linhas de íons Fe^{3+} em diferentes simetrias dadas a substituições isomórficas deste dentro da organização cristalina dos minerais, nos espectros de substâncias húmicas se observa apenas as linhas do centro I de ferro, com $g = 4,3$, nos domínios diluídos, que consiste da interação de íons Fe^{3+} com a matéria orgânica, ligados aos grupos funcionais dos ácidos húmicos em sítios tetraédricos ou octaédricos com alta simetria rômica. ALLARD *et al.* (2004) evidenciaram que esta linha é intensificada, sem sinal de Fe^{3+} estrutural típico de argilas, em espectro de amostra rica em material orgânico. Como SENESI (1990) atribuiu esta linha à matéria orgânica em complexos de esfera interna, esta espécie de ferro foi denominada de Fe^{3+} -MO por ALLARD *et al.* (2004). A linha larga de domínios concentrados de ferro pode

aparecer nos espectros de algumas amostras. Outra linha característica de substâncias húmicas é a de radical livre orgânico (RLO) típico de estruturas do tipo *orto/para*-semiquinonas, com g em torno de 2,0034 e largura de linha em torno de 3,5 G. O espectro obtido na região do RLO, em faixa de campo magnético de 50 G, após tratamento matemático, permite a obtenção do número de spins por grama (spin g^{-1}) de RLO presentes no ácido húmico. O número de spin g^{-1} é um parâmetro importante na caracterização de substâncias húmicas, visto que estes estão envolvidos em diversas reações importantes nos solos e água. Linhas de íons como Cu^{2+} e Mn^{2+} também podem estar presentes nos espectros de AH.

Observou-se (Figura 33) uma diferença na intensidade do sinal do Fe^{3+} em domínio diluído ($g = 4,3$), que está maior para o AH3 (AH do solo sem o desenvolvimento do fungo). O sinal de radical livre orgânico (RLO) é observado nas quatro amostras, sendo mais intenso no AH3, fato também demonstrado com a determinação quantitativa do número de spin.g^{-1} (Tabela 8). Estes fatos podem indicar a atividade dos fungos na degradação de MO do solo para consumo de carbono e provimento de nutrientes ao seu desenvolvimento, refletindo na alteração das características originais do ácido húmico do solo onde não ocorre o desenvolvimento do fungo.

TABELA 8 - NÚMERO DE SPINS/GRAMA DAS AMOSTRAS AH1, AH1, AH3 E ME4.

Amostra	g Fator	Spin g^{-1}
AH1	2,0029	$1,9168 \times 10^{17}$
AH2	2,0030	$1,2551 \times 10^{17}$
AH3	2,0030	$4,7866 \times 10^{17}$
ME4	2,0039	$2,1780 \times 10^{16}$

O número de spin.g^{-1} da melanina, amostra ME4, apresentou sinal bem menor de RLO ($2,1780 \times 10^{16}$), que poderia ser atribuído a estruturas radicalares orgânicas, do mesmo tipo *orto/para*-semiquinonas, formadas no desenvolvimento do fungo ou durante a extração dos compostos dos mesmos. Nos organismos, processos enzimáticos e a ação de oxidantes químicos, como radicais livres e cátions metálicos, podem desencadear processos de melanização (STAINSACK, 1998).

Observa-se também no espectro da amostra de melanina (ME4) uma linha larga (650 G) com g próximo de 2,2166, que pode ser atribuído a estrutura hiperfina de íons Mn^{2+} associados a MO em complexos de esfera externa (ALLARD *et al.*,

2002). O dubleto central das transições eletromagnéticas do Mn^{2+} (spin nuclear, $I = 5/2$), quando em menor quantidade, apresenta um conjunto de 6 linhas finas e intensas com interação hiperfina (A) de aproximadamente 90 G, em complexos de esfera externa. Porém, quando em maiores quantidades na amostra as seis linhas não ficam definidas no espectro, mostrando apenas uma linha com largura em trono de 700 G.

Os espectros das quatro amostras apresentaram, antes da linha de RLO, linha centrada em $g \sim 2,05$ indicando a presença de Cu^{2+} nas amostras. ALLARD *et al.* (2004) atribuem esta linha a Cu^{2+} ligado a colóides.

Nos espectros de EPR obtidos na região do RLO (de 3200 a 3550 G) as amostras AH1 e AH2 apresentaram 9 linhas com $g_{\perp} = 2,06$ e interação super-hiperfina, $A_{N\perp} = 17G$, sinal de Cu^{2+} ligado a quatro átomos de N, típico de Cu^{2+} em estruturas do tipo porfirina (Figura 34).

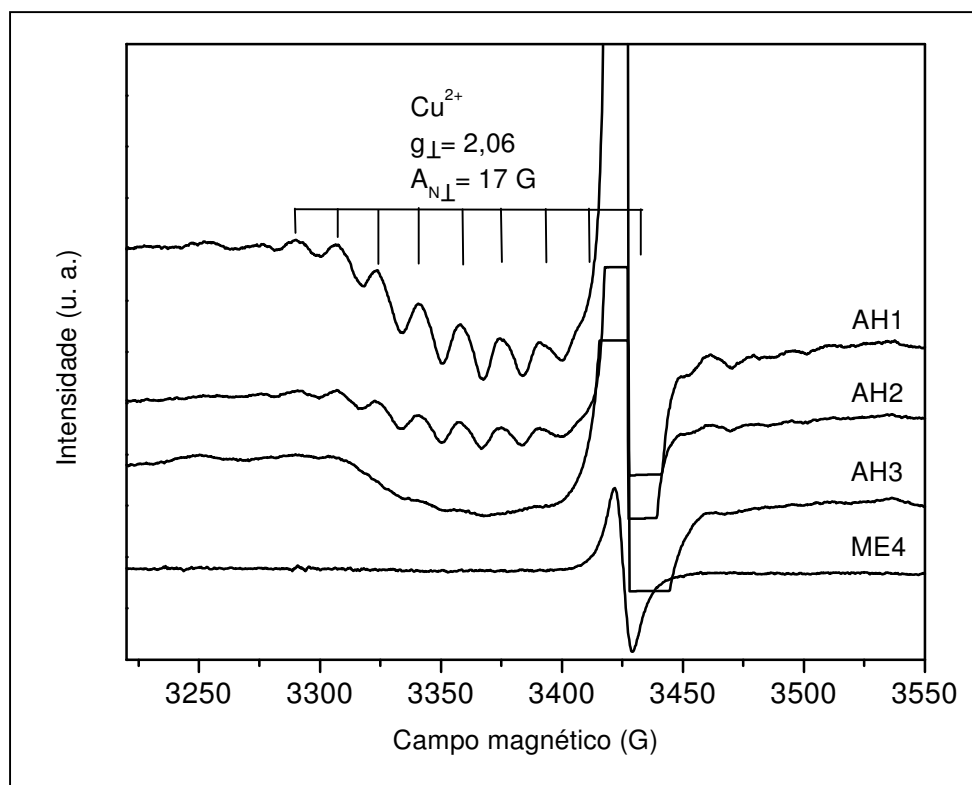


FIGURA 34 - ESPECTRO DE EPR NA REGIÃO DO RLO PARA O AH1, AH2, AH3 e ME4.

As estruturas de porfirinas em ácidos húmicos são resultantes do decaimento de clorofila de plantas, formadas durante o processo de decomposição e humificação da MO. Em estudo com melaninas de actinomicetos foi verificado que também podem ser fruto da síntese por parte desses microrganismos (MANGRICH

et al., 1998). Neste estudo, a presença destas estruturas nas amostras de ácido húmico do solo onde cresce o fungo pode indicar a exigência pelo fungo da estrutura para seu desenvolvimento, ou que o próprio fungo a metaboliza incorporando-a no solo nas estruturas da MO.

Os espectros no FTIR das amostras mostrados na Figura 35 apresentaram-se semelhantes com algumas exceções: (1) Bandas de C=O de CO₂H (1740 - 1710 cm⁻¹) presentes nos espectros AH1, AH2 e AH3; (2) A ME4 apresenta uma banda intensa em 1650 cm⁻¹ de estiramento de C=O de amida, C=C de aromáticos e COO⁻ e outra em 1530 cm⁻¹ de deformação angular de H ligado a NH de amida, indicando alto teor de proteínas; (3) Banda em 1230-1220 cm⁻¹ (estiramento C-O e deformação de COO⁻, COOH, R-COH) mais intensa para os AH1, AH2 e AH3; (4) A ME4, além das bandas características de C-H alifático (2940-2870 cm⁻¹), apresenta banda em 3070 cm⁻¹ (C-H de aromáticos) e em 1390 cm⁻¹ (C-O fenólico) sugerindo maior concentração de estruturas de caráter aromático.

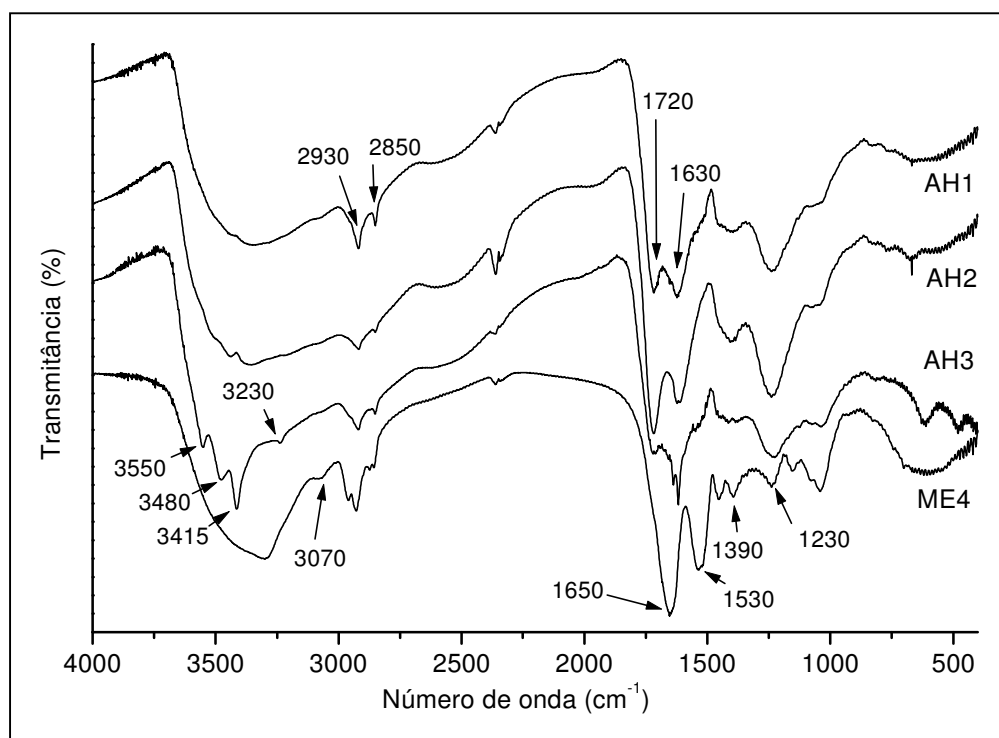


FIGURA 35 - ESPECTROS NO INFRAVERMELHO PARA OS AH1, AH2, AH3 E ME4.

A relação entre as intensidades das bandas de 1720 cm⁻¹ e 1630 cm⁻¹, maior para o AH2, indica que maiores quantidades de grupos ácidos carboxílicos foram separadas durante a liofilização na fase sólida mais cristalina. Banda em 2500 cm⁻¹,

atribuída a sobre-tom da vibração em 1250 cm^{-1} corrobora com esta indicação. E ainda, o AH1 apresenta bandas características de C-H alifático ($2940\text{-}2870\text{ cm}^{-1}$) mais intensas que o AH2, enquanto que o AH2 apresenta bandas em 1390 cm^{-1} (C-O fenólico) indicando que o AH1 tem maior concentração de estruturas de caráter alifático enquanto que o AH2 tem maior concentração de estruturas de caráter aromático, este último corroborando com a hidrofobicidade sugerida pelo fracionamento físico.

O ácido húmico AH3 apresenta as bandas em 1630 cm^{-1} mais intensa em relação ao AH1 e AH2, indicando maior presença de carboxilatos. Estes podem estar complexados a Fe^{3+} ou Al^{3+} de estruturas de minerais do solo, como óxidos, por exemplo. As bandas em 3550 , 3480 , 3415 e 3234 cm^{-1} poderiam confirmar esta hipótese. Em minerais, bandas de estiramento O-H bem resolvidas na região de $3660 - 3400$ podem indicar a presença de todas as combinações de cátions divalentes possíveis que ocupam posições octaédricas (Al^{3+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} e Fe^{3+}). E a banda em 614 cm^{-1} poderia ser possivelmente a da deformação angular M-OH respectiva.

No estudo da cromatografia de exclusão em vidro de tamanho de poro controlado, os cromatogramas registrados, durante 24 minutos cada, no UV-VIS a 270 nm , com as frações de cada amostra coletadas de 2 em 2 minutos, apresentaram apenas quatro frações de interesse, com absorção no UV-VIS: fração 5, coletada no tempo de 8 a 10 minutos; fração 6, 10 a 12 min.; fração 7, 12 a 14 min. e fração 8, 14 a 16 min. A figura 36 apresenta os cromatogramas das amostras dos AH1, AH2, AH3 e ME4, mostrando as frações de interesse.

Observamos que as maiores moléculas saíram na fração 5 (coletada entre 8 e 10 minutos), com $K_d = -0,011$ para a melanina e $K_d \sim 0,05$ para os AH. Já as menores, saíram na fração 7 (coletada entre 12 e 14 minutos), somente para os AH, com $K_d = 0,43$. O valor K_d é utilizado como uma medida de tamanho molecular e foi calculado utilizando a equação: $K_d = (V_e - V_0)(V_t - V_0)^{-1}$, onde V_e é o volume eluído, V_0 é volume morto e V_t é volume total da coluna cromatográfica. Para obtenção desses valores a coluna foi calibrada com uma solução aquosa contendo “Blue dextran” e fenoftaleína.

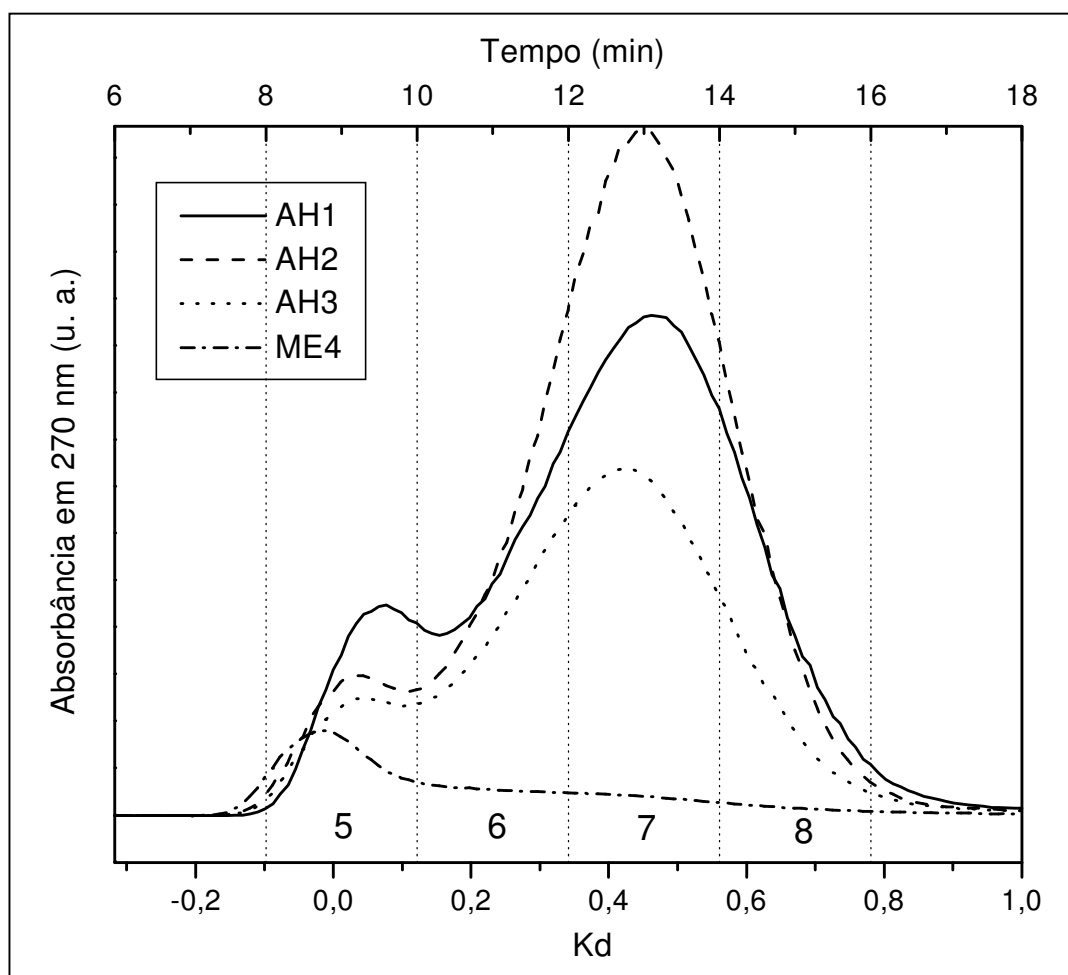


FIGURA 36 - CROMATOGRAMAS DOS AH1, AH2, AH3 E ME4, MOSTRANDO AS FRAÇÕES OBTIDAS A CADA 2 MINUTOS.

A relação entre as intensidades das frações indica a relação quantitativa entre as diferentes massas molares existentes em cada amostra. Para o AH1 a separação de moléculas maiores na fração 5 e menores na fração 7 foi mais pronunciada. Em relação a esta, o AH2 separou maior quantidade de moléculas menores, confirmando a hipótese do fracionamento físico pela espuma durante a liofilização. O AH3 foi separado também, porém com menores diferenças entre as massas molares observadas pela menor diferença entre a largura a meia altura e a intensidade da curva nas frações 6-7-8, e pelo ponto máximo da curva obtidos em valor de Kd menor, quando comparado às amostras AH1 e AH2. O cromatograma da amostra ME4 apresentou apenas moléculas de tamanho maior, obtidas na fração 5, indicando que as proteínas observadas pelo espectro de FTIR são de tamanho maior ou igual às maiores moléculas dos AH do solo.

Nos espectros de UV-VIS das frações não foi possível detectar a banda “Soret” típica de transições $\pi-\pi^*$ do anel porfirínico. Como a banda Soret é observada em amostras de MO de solos somente com maiores quantidades de metalporfirina (MANGRICH *et al.*, 1998), pode indicar que não houve absorção nos UV-vis das frações porque foram utilizados 1mL da solução de cada amostra (5mg mL⁻¹) em cada cromatograma, sendo diluída no eluente utilizado durante a cromatografia. Após as repetições para a obtenção de maiores quantidades de amostras para análises de EPR e FTIR não foi feito UV-VIS.

As frações dos AH apresentaram absorções em 224, 270 e 293 nm de estruturas alifáticas e aromáticas não condensadas, enquanto que a fração da ME4 apresentou absorções mais intensas em 203 nm e em 282 nm, esta última sugerindo a presença de grupos carboxílicos ligados a cadeias orgânicas insaturadas e estruturas de carboidratos.

5.6.1 – Considerações relevantes

Os espectros estudados da melanina extraída do macrofungo *Boletinelus rompelii* e dos AH do solo são semelhantes, indicando que os cogumelos podem ter uma significativa contribuição na formação das estruturas orgânicas do solo. Porém, fica mais evidenciada a alteração da matéria orgânica do solo pelo desenvolvimento do fungo, mostrada pela diferença de intensidades das linhas de Fe³⁺-MO e de RLO nos espectros de EPR, maior para o AH do solo sem o fungo (AH3) em relação ao AH do solo com fungo (AH1 e AH2), pela ruptura de grupos carboxilatos do AH3 e formação de grupos carboxílicos nos AH1 e AH2 observada pelo FTIR, e pela maior relação entre frações de massas molares diferentes, vistas pela cromatografia.

5.7 – ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA DOS ESPECTROS DE EPR E FTIR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS DA MELANINA DO MACROFUNGO *B. rompelii* E DOS ÁCIDOS HÚMICOS DE SOLO

As frações cromatográficas 5, 6, 7 e 8 das amostras da melanina do macrofungo *B. rompelii* e dos ácidos húmicos de solo foram denominadas conforme a identificação da amostra mais o número da fração, por exemplo, a fração AH15 é a fração 5 do AH1.

Os espectros de EPR registrados em campo magnético de 3100 a 3900 G das quatro frações de interesse (5, 6, 7, e 8) de cada amostra estudada no capítulo 5.6 são apresentados na Figura 37.

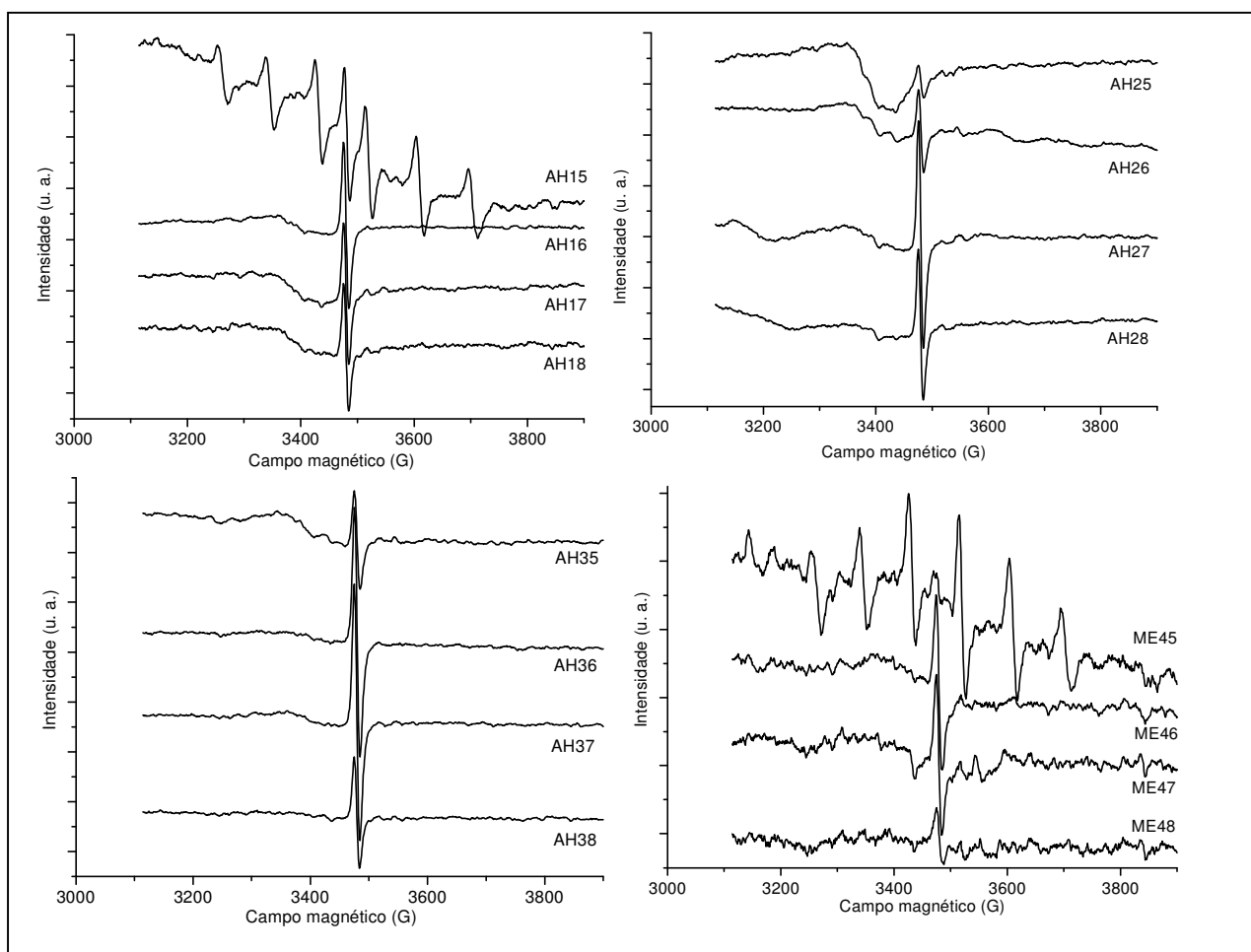


FIGURA 37 - ESPECTROS DE EPR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS 5, 6, 7 E 8 PARA AH1, AH2, AH3 E ME4.

Os espectros de EPR das frações AH15 e ME45 foram os únicos que apresentaram o sexteto de linhas típico de Mn^{2+} em complexo de esfera externa com

$g \sim 2,0$ e $A = 86$ G. O manganês é micronutriente de plantas e nos solos pode estar na forma de Mn(VI) em óxidos de manganês ou de Mn^{2+} complexado na MO. Na forma de óxido não daria sinal no EPR. A presença do sinal de Mn^{2+} nos espectros de AH15 e ME45 pode sugerir a necessidade desse micronutriente também para o desenvolvimento do fungo, o que justificaria a não ocorrência do mesmo na outra amostra de solo. Ou então que o fungo tem a capacidade de reduzir Mn(VI) de óxidos, utilizá-lo no próprio metabolismo e incorporá-lo à MO do solo.

Foi observada linha de radical livre orgânico (RLO, $g = 2,0045$), típica de semiquinonas, em todas as frações, sendo mais intensa nas frações menores (6, 7 e 8). Os espectros das frações AH25, AH26, e AH35 apresentaram linha de Cu^{2+} ($g_{\perp} = 2,05$), sugerindo que a amostra AH2, separada pelo fracionamento físico, tem características mais semelhantes ao ácido húmico original do solo (AH3).

Os espectros no FTIR (figura 38) das frações de massas molares maiores, AH15, AH25, AH35 e ME45 apresentaram banda larga intensa em torno de 1100 cm^{-1} , típica de carboidratos, enquanto que as frações menores apresentaram bandas entre $1650\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$ e 1400 cm^{-1} , ν_{as} e ν_s de carboxilatos (COO^{-}), respectivamente. A fração AH25 foi a única das frações de maior peso molecular a apresentar também bandas de carboxilatos.

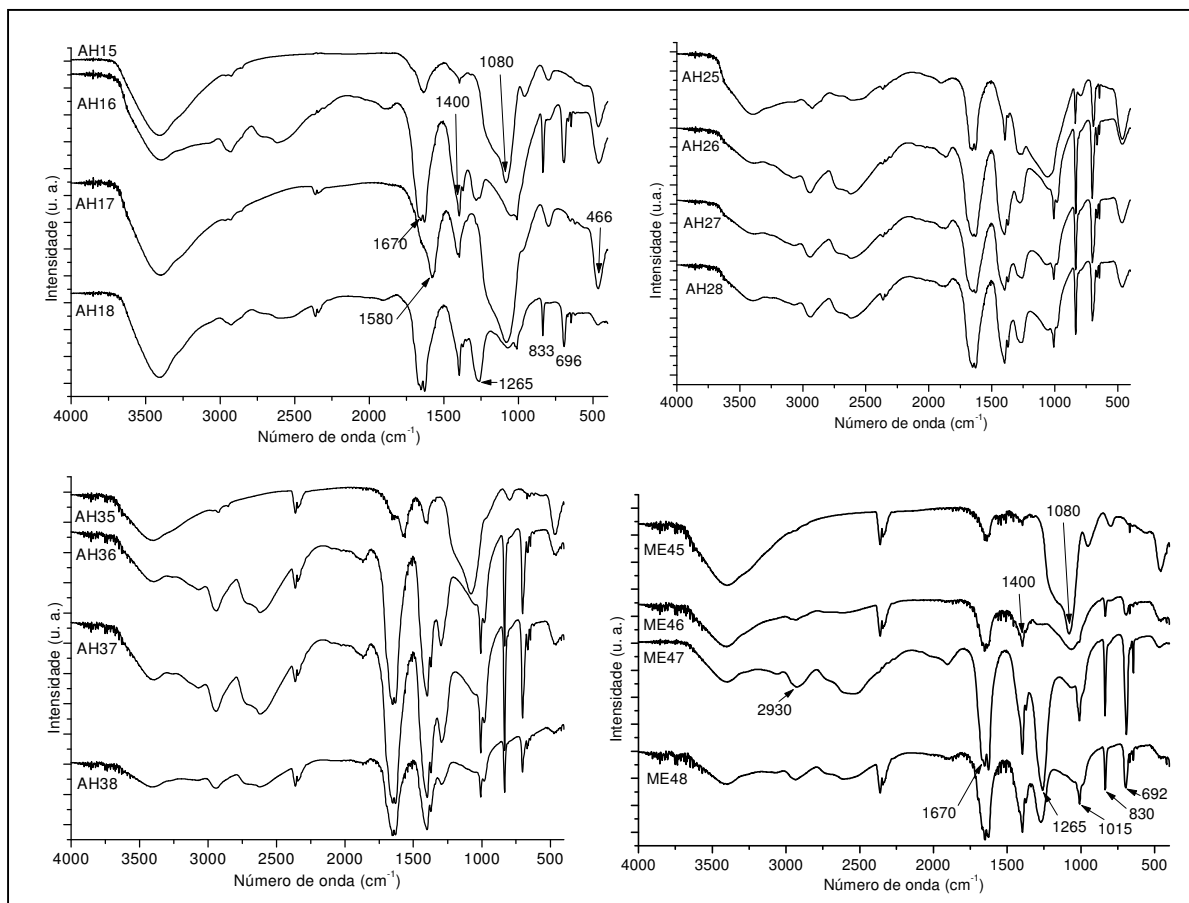


FIGURA 38 - ESPECTROS DE FTIR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS 5, 6, 7 E 8 PARA AH1, AH2, AH3 E ME4.

Na maioria dos espectros é possível identificar as bandas e suas possíveis atribuições (SILVERSTEIN *et al.*, 1979):

- a) 3700-3600, ν AlO-H, ν FeO-H e SiO-H (argilas);
- b) 3400-3300, ν AlO-H, ν FeO-H (argilas) e/ou ν OH (fenol, H₂O), ν NH;
- c) 3100-3070, ν CH (aromáticos, olefinas);
- d) 2950-2850, ν CH (CH₂ e CH₃ de alifáticos);
- e) 2630-2500, ν OH (COOH) e/ou 2 ν OH (COOH);
- f) 1660-1620, ν C=O (COO⁻, amida I), δ O-H-O (H₂O), ν C=C (anel aromático ou de alifático insaturado), ν C=N;
- g) 1600-1500, ν C=C (anel aromático), amida II, δ H-C-H (CH₃);
- h) 1400-1300, δ H-C-H (CH₃), ν C=O (COO⁻);
- i) 1260, ν C=O (COOH), ν C-OH (aromático);

- j) 1200-1100, C-C alifático, v C-O de carboidrato, álcoois e ésteres, Si-O-C de substâncias poliméricas, Si-O (matéria inorgânica);
- k) 1040-1020, Si-O e Al-O;
- l) 938 e 912, Al-OH (caulinita);
- m) 800-750, Si-O-Al, Si-O-Fe;
- n) 640 e 550, Si-O-Al; e
- o) 462, Si-O-Fe.

A banda de 1080 cm^{-1} na fração AH17 sugere que no AH1 moléculas de carboidratos de diferentes tamanhos foram separadas fisicamente do AH2.

Os espectros do AH2 e do AH3, com exceção da fração AH35, apresentaram bandas de carboxilatos e de estruturas inorgânicas indicando a relação orgânico-inorgânico do ácido húmico do solo (C-O-Fe, C-O-Al, ou ainda C-O-Cu, pelo sinal de Cu visto no EPR) e banda de C-H de aromáticos ($3100\text{-}3070\text{ cm}^{-1}$), indicando a presença de estruturas mais aromáticas. Estas últimas corroborariam com a hipótese da separação de moléculas de caráter mais hidrofóbico no AH2.

Os espectros da melanina, com a presença das bandas de carboidratos nas duas primeiras frações de tamanho maior, que foram as que concentraram quase que o total das moléculas como verificado no cromatograma (figura 36), mostram que essas estruturas do cogumelo contribuem para a formação de AH dos solos. E a presença, mesmo em menor quantidade (figura 36), de estruturas carboxílicas e inorgânicas (ME47 e ME48) sugere que o cogumelo absorve e incorpora no seu metabolismo moléculas de AH.

5.7.1 – Análise de Componentes Principais

A Análise de Componentes Principais (CP), aplicada ao conjunto de espectros de EPR, separou as amostras por semelhanças e diferenças conforme pode ser observado na figura 39, gráficos dos escores das CP1 versus CP2 (A), CP2 versus CP3 (B) e CP1 versus CP4 (C).

Os 'loadings' da componente principal são formados pelo conjunto de variáveis determinantes da separação ou agrupamento das amostras, e a variância acumulada é relativa à porcentagem de informações utilizadas em cada

componente. Os 'loadings' das componentes principais e a sua variância capturada são apresentados na figura 40.

Assim, a primeira componente principal (CP1) separou a amostra AH15 das demais (fig. 39A) pela presença de Mn^{2+} no espectro de EPR (fig. 40). As amostras AH26, AH35 e ME45 ficaram ainda no mesmo quadrante da CP1, porém, mais próximas das outras amostras, sugerindo que o Mn^{2+} está presente nas frações de tamanho molecular maior (fig. 39A). A fração AH25 não foi reconhecida e separada pela CP1 talvez pela interferência do sinal de Cu.

A segunda componente principal (CP2) separou as amostras da melanina (ME4) das AH27, AH36 e AH37 (fig 39A e B), pela intensidade de RLO (fig 40). O que é verificado pela maior presença de RLO típico de *orto/para*-semiquinonas nestes espectros de AH, que foram concentrados nas frações intermediárias 6 e 7 no AH3, e na fração 7 no AH2, que foi separado fisicamente.

A terceira componente principal (CP3) separou as amostras da ME4 da AH25 (fig. 39B), pela presença da linha do Cu^{2+} (fig. 40), indicando que este metal não compõe as estruturas da melanina do cogumelo. Cabe aqui lembrar que o cobre é elemento tóxico para fungos, sendo utilizado como base em fungicidas (cúpricos).

A quarta componente principal (CP4), com menor porcentagem de informações (2,0 %) separou as amostras AH26 da AH28 (fig. 39C), pelo sinal de Mn^{2+} também, sugerindo a presença deste no AH2 em molécula diferente, talvez pelo menor tamanho, que no AH15. Ou esta separação possa ter ocorrido por interferência de outros sinais, como a linha de cobre por exemplo.

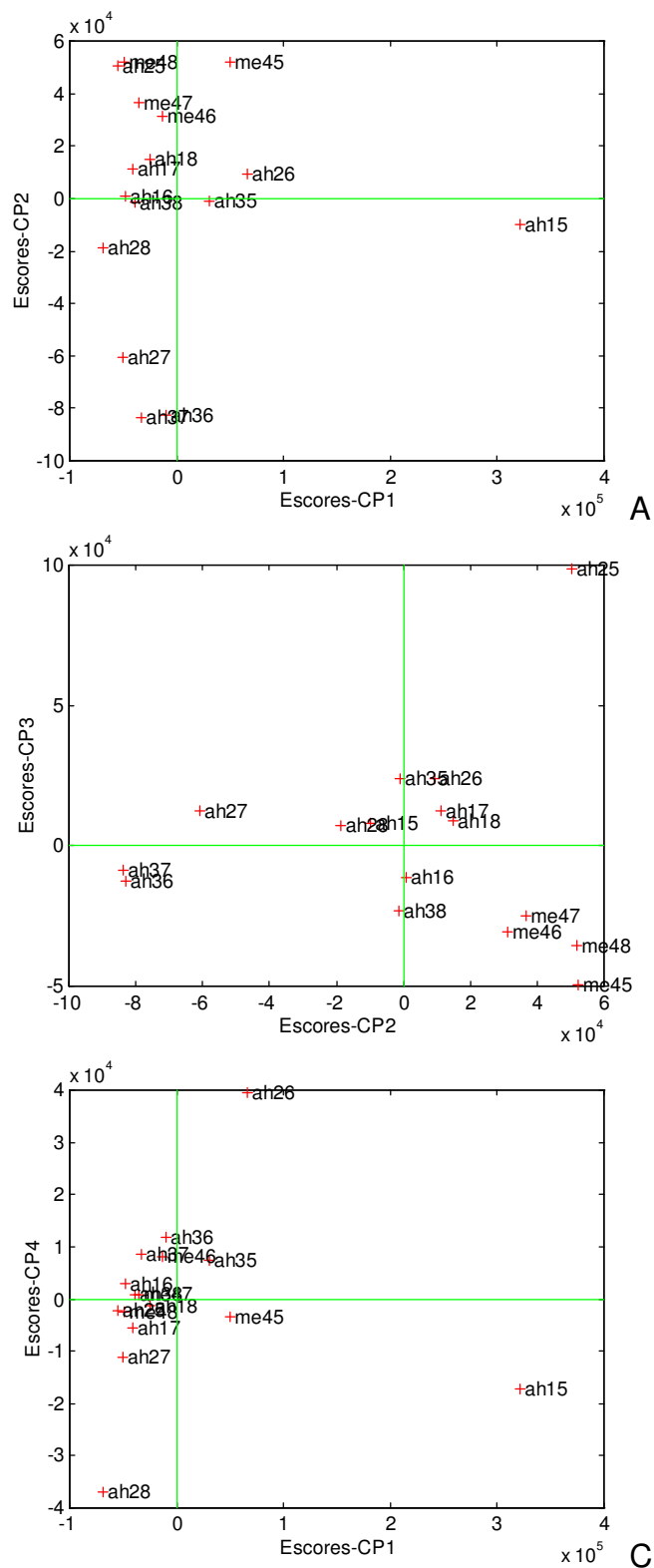


FIGURA 39 – ESCORES DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS DOS ESPECTROS DE EPR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS 5, 6, 7 E 8 PARA AH1, AH2, AH3 E MEL4: CP1 VERSUS CP2 (A), CP2 VERSUS CP3 (B) E CP1 VERSUS CP4 (C).

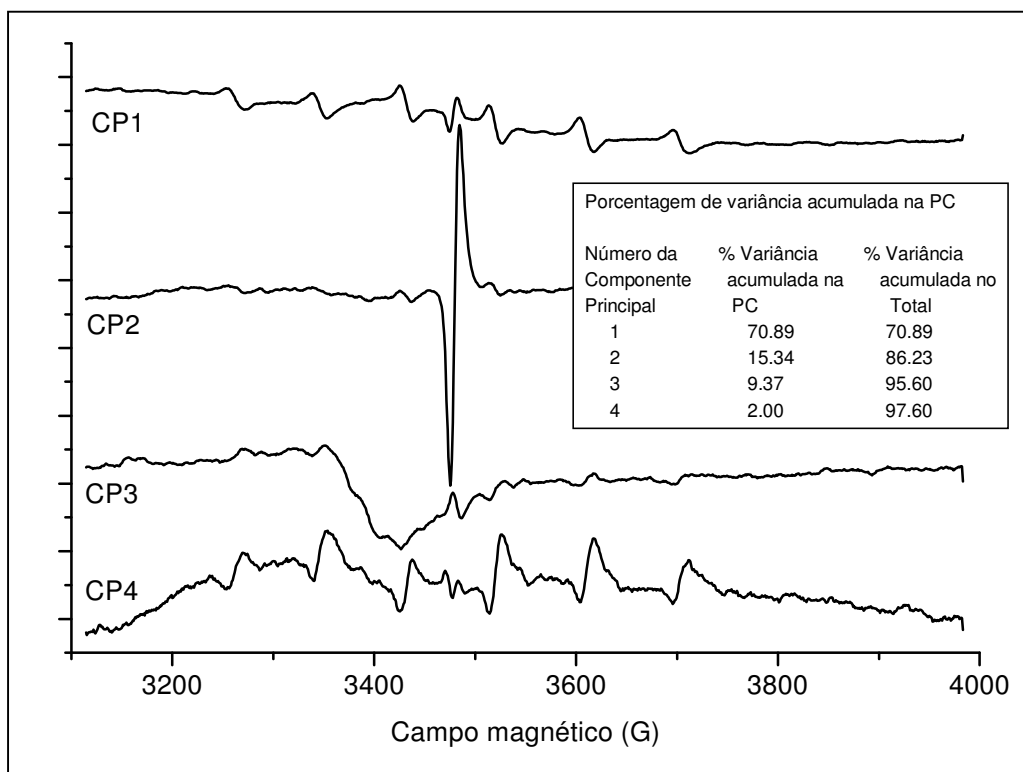


FIGURA 40 – ‘LOADINGS’ DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS DOS ESPECTROS DE EPR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS 5, 6, 7 E 8 PARA AH1, AH2, AH3 E MEL4.

A Análise de Componentes Principais, aplicada ao conjunto de espectros de FTIR, separou as amostras por semelhanças e diferenças conforme pode ser observado na figura 41 dos gráficos dos escores das CP1 versus CP2 (A), CP2 versus CP3 (B) e CP1 versus CP4 (C). Os ‘loadings’ das componentes principais e a sua variância capturada são apresentados na figura 42.

A CP1 (figura 41A) separou as frações da melanina (ME) e os AH18 e AH15 dos AH26, AH27, AH28 e AH38. Nos gráficos de loadings (figura 42) observa-se que esta separação é devido à presença da banda de carboidratos na melanina e nos AH18 e AH15, e bandas de grupos carboxilatos e de estruturas inorgânicas nos AH26, AH27, AH28 e AH38.

A CP2 (figura 41A e B) separou as frações 5 das demais, com exceção da AH17, principalmente devido a banda larga e intensa na região de 1080 cm^{-1} de carboidratos.

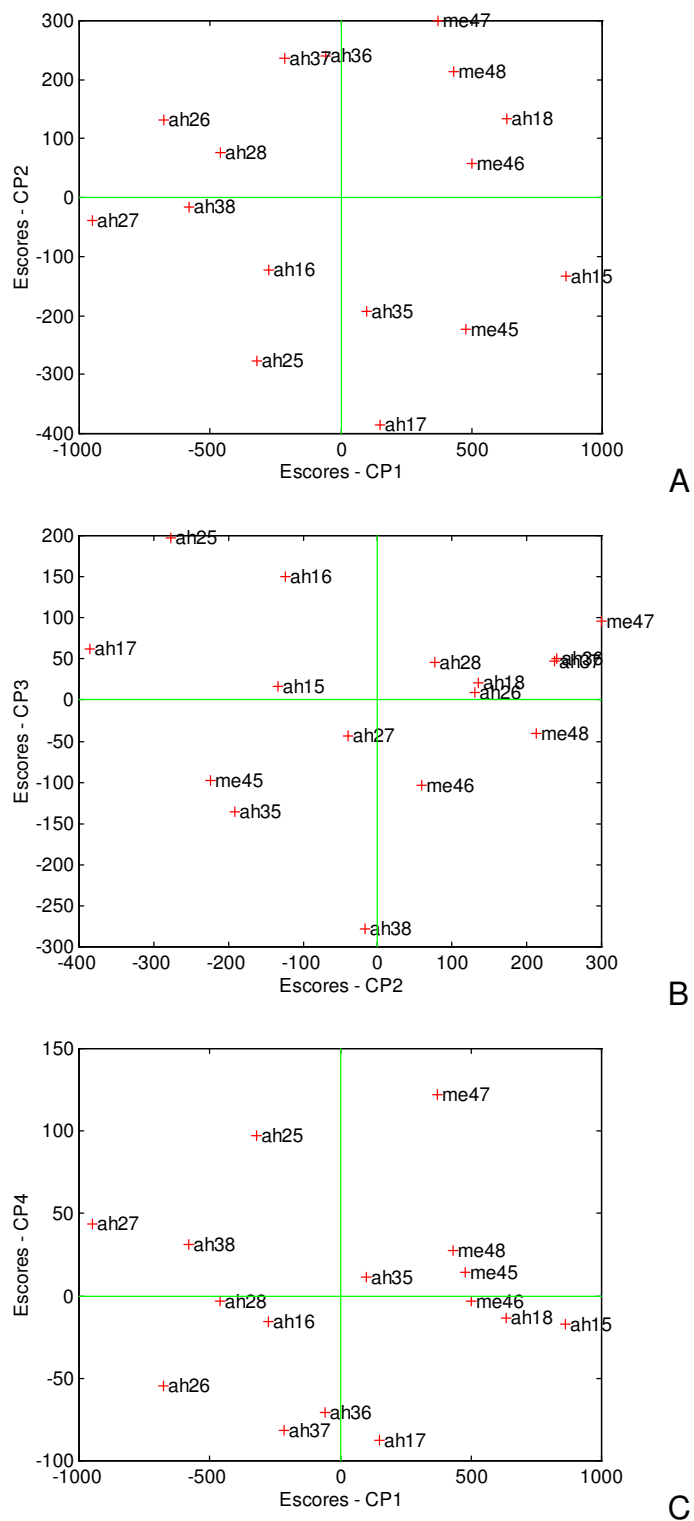


FIGURA 41 – ESCORES DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS DOS ESPECTROS DE FTIR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS 5, 6, 7 E 8 PARA AH1, AH2, AH3 E MEL4: CP1 VERSUS CP2 (A), CP2 VERSUS CP3 (B) E CP1 VERSUS CP4 (C).

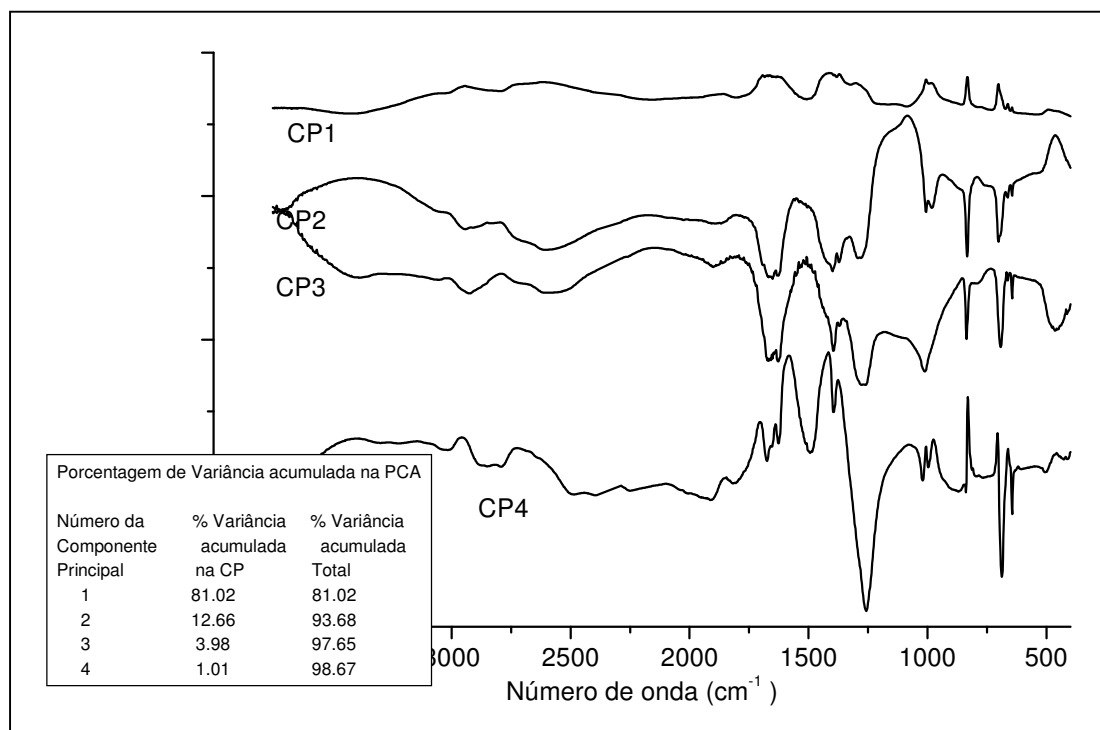


FIGURA 42 – ‘LOADINGS’ DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS DOS ESPECTROS DE FTIR DAS FRAÇÕES CROMATOGRÁFICAS 5, 6, 7 E 8 PARA AH1, AH2, AH3 E MEL4.

A CP3 (figura 41B) separou as frações AH25 e AH16 da AH38 também relacionando as presenças de orgânico-inorgânicos inversamente com carboidratos (figura 42). Observando os espectros originais (figura 38) essa diferença pode ser dada ao tamanho molecular da fração. As frações AH25 e AH16 são semelhantes à AH38, porém têm a presença de carboidratos, o que as fez saírem nas primeiras frações do cromatograma.

A CP4 (figura 41A) separou AH25 e ME47 de AH17, AH26, AH36 e AH37. Pelo gráfico de loadings há separação de ácidos carboxílicos em estruturas aromáticas. Porém, cabe observar que esta CP apresentou uma variância acumulada de 1,01 % (figura 42).

5.7.2 – Considerações relevantes

As frações cromatográficas 5, correspondentes as maiores massas molares possuem altas proporções de estruturas de carboidratos. As frações correspondentes as menores massas molares, 6, 7 e 8, têm grandes teores de

grupos carboxilatos. O íon Mn^{2+} preferencialmente presente nas frações maiores, AH15 e MEL5, sugere sua importância como micronutriente para os fungos.

A separação cromatográfica das amostras auxiliou na elucidação das estruturas separadas por fracionamento físico no processo da liofilização.

5.8 – ESTRUTURAS QUÍMICAS DE ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDOS DE COMPOSTO DURANTE O CRESCIMENTO DE *Agaricus brasiliensis*

O composto utilizado para o crescimento do cogumelo é um subproduto da indústria que tem expandido rapidamente no Brasil. A produção anual de cogumelo desidratado da empresa GAPI gira em torno de 10 a 12 toneladas e a produção nacional de cogumelos é aproximadamente de 80 a 100 ton/ano. Assim, torna-se importante acompanhar as transformações que ocorrem no ácido húmico do composto durante o desenvolvimento do fungo, uma vez que este composto exaurido não poderá mais ser utilizado para outros cultivos de cogumelo mas ainda serve como composto agrícola, no suprimento de nutrientes para o desenvolvimento de hortaliças. Segundo experiências realizadas em horta pela empresa GAPI, aplicando-se em torno de 30 ton ha⁻¹ do composto, não há necessidade de suplementação com N.

Relembrando que amostras do composto utilizado na produção do cogumelo foram coletadas em quatro fases diferentes de desenvolvimento do fungo: tempo 0, fase em que o composto pasteurizado foi inoculado e fechado em sacos plásticos sob condições anaeróbias; 30 dias, fase de completo desenvolvimento e colonização do micélio, fase vegetativa do macrofungo, a partir da qual o saco plástico é aberto, propiciando condições aeróbias de desenvolvimento da fase reprodutiva do macrofungo, ou seja, emissão do corpo de frutificação que é o cogumelo; 90 dias, fase de produção do cogumelo, e 150 dias, fase em que o composto encontra-se exaurido. Os ácidos húmicos extraídos de cada amostra receberam as seguintes denominações: AH1, AH2, AH3 e AH4, respectivamente.

A figura 43 mostra os espectros de FTIR das quatro amostras estudadas. As maiores bandas de absorção nos espectros podem ser observadas em 3200 - 3400 cm⁻¹ (O-H carboxílico/fenólico e estiramento N-H), 1720 cm⁻¹ (estiramento C=O de COOH), 1640 cm⁻¹ (estiramento C=C de aromáticos e estiramento assimétrico de COO⁻), 1410 cm⁻¹ (deformação angular de C-O-H fenólico), 1220 cm⁻¹ (estiramento simétrico e assimétrico de C-O de COOH) e 1040 cm⁻¹ (estiramento C-O de carboidratos), bandas essas características de ácidos húmicos. Comparando os espectros dos AH observa-se que as bandas de absorção aumentam para grupos ácidos carboxílicos (1720 cm⁻¹) e diminuem para carboidratos (1040 cm⁻¹) da

amostra AH1 a AH4, quando relacionadas à banda de 1640 cm^{-1} . A banda em 1220 cm^{-1} , e principalmente seu sobre-tom em 2500 cm^{-1} , corroboram com esta indicação. Esta diminuição está de acordo com CHEN *et al*, 2000, onde polissacarídeos são a principal fração degradada ou utilizada pelo cogumelo *Agaricus bisporus* (do mesmo gênero do *A. brasiliensis*) durante o período de crescimento.

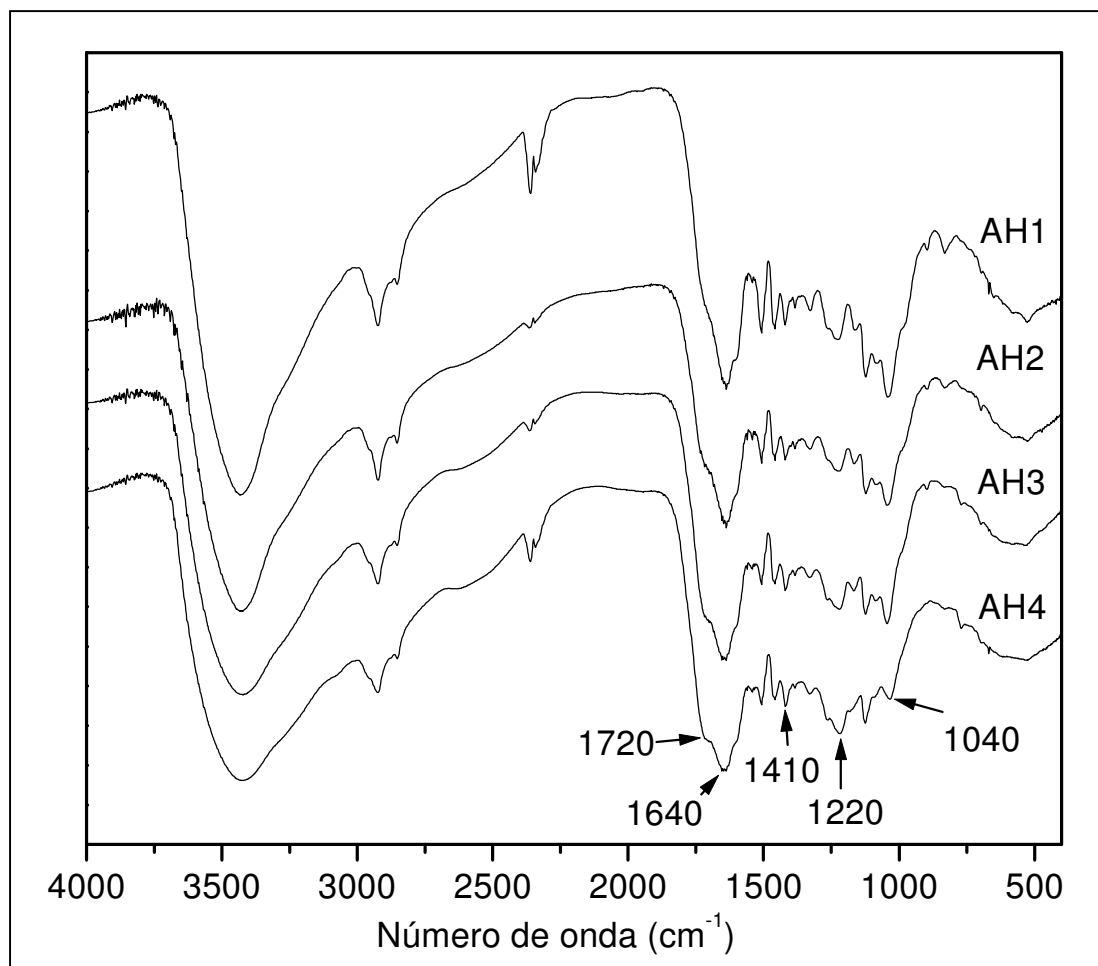


FIGURA 43 – ESPECTROS NO FTIR PARA OS ÁCIDOS HÚMICOS AH1, AH2, AH3 E AH4 EXTRAÍDOS DAS QUATRO FASES DO COMPOSTO DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO *Agaricus brasiliensis*.

Todos os espectros de UV-VIS de amostra sólida mostraram uma reflectância crescente de 200 a 850 nm (Figura 44), a partir aproximadamente de 500 nm, sendo de maior intensidade observado no AH2. Isto poderia ser explicado pela ação do fungo durante a colonização pelo micélio do composto. Pode ser sugerido que ocorra a quebra de moléculas com conjugações aromáticas polinucleares pela cultura do micélio. A partir da frutificação do cogumelo (AH3 e AH4) a intensidade da inclinação da reflectância diminui novamente, sugerindo que íons metálicos possam

estar se comportando como 'pontes', ligando novamente as moléculas e formando novas conjugações (STAINSACK *et al*, 2003). A coloração mais clara, marron, e a razão E4/E6 (absorções em 465 nm and 665 nm, respectivamente) do AH2 confirmam esta observação.

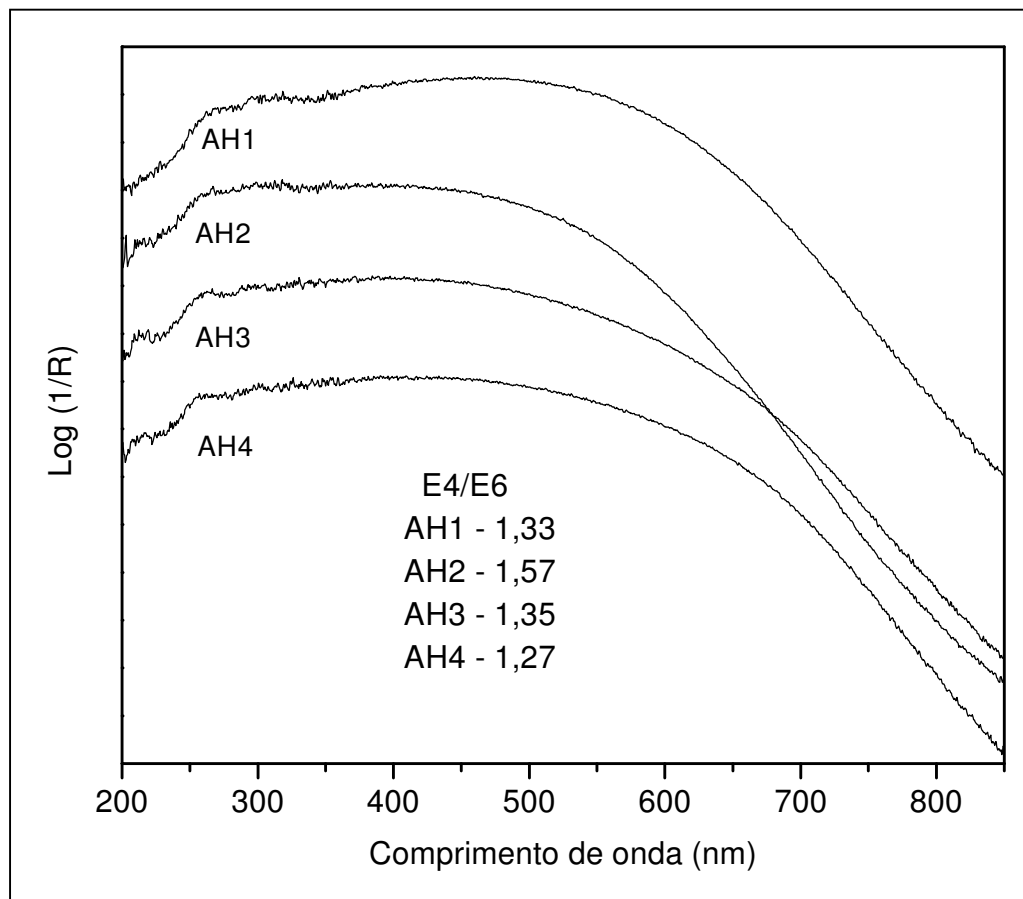


FIGURA 44 – ESPECTROS DE UV-VIS PARA OS ÁCIDOS HÚMICOS AH1, AH2, AH3 E AH4 EXTRAÍDOS DAS QUATRO FASES DO COMPOSTO DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO *Agaricus brasiliensis*.

Os espectros de EPR a 77 K (Figura 45) mostram linha atribuída a Fe^{3+} em estruturas porfirínicas somente na amostra AH1 ($g_{||} = 6,0$). A linha em $g = 4,3$, referente a íons Fe^{3+} em domínios diluídos, diminui do AH1 ao AH4.

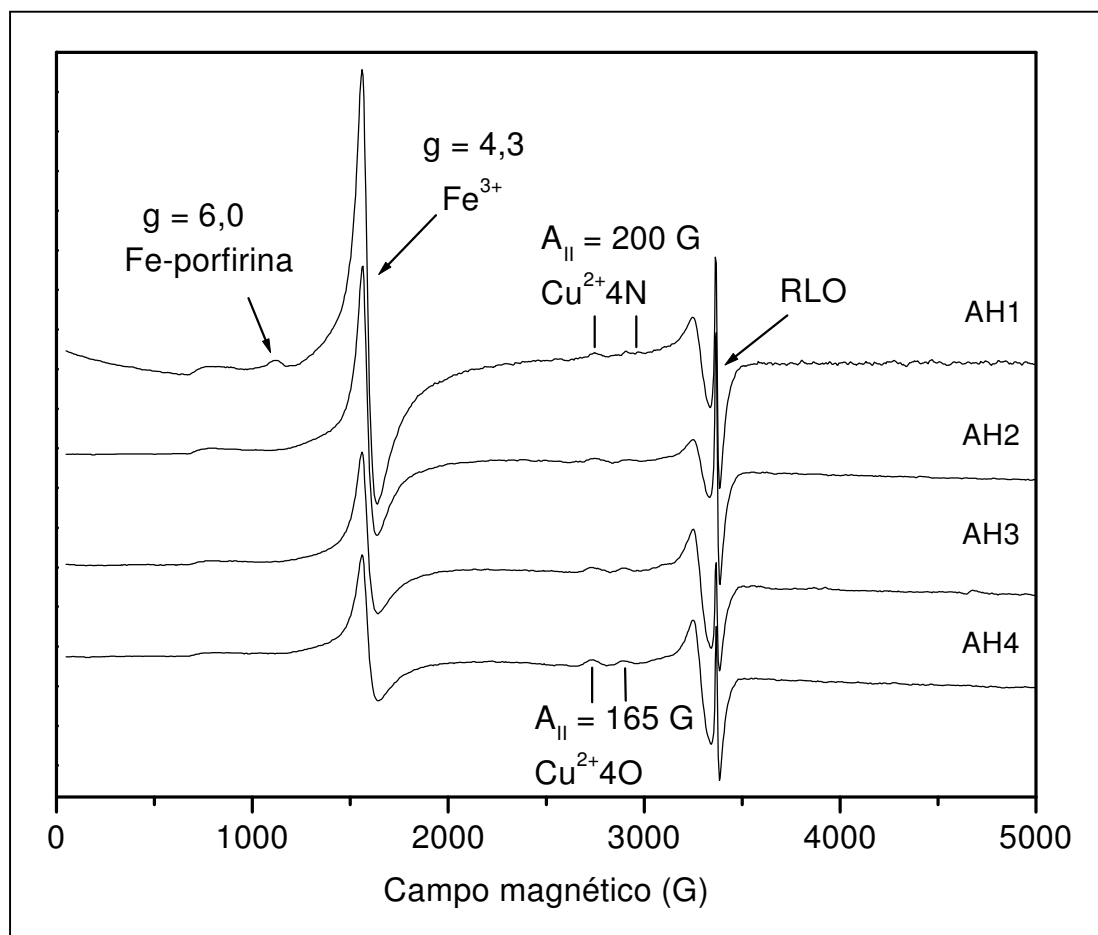


FIGURA 45 – ESPECTROS DE EPR A 77 K PARA OS ÁCIDOS HÚMICOS AH1, AH2, AH3 E AH4 EXTRAÍDOS DAS QUATRO FASES DO COMPOSTO DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO *Agaricus brasiliensis*.

Pode ser observado um conjunto de linhas atribuído a Cu^{2+} ligado a estruturas oxigenadas ($A_{||} = 165 \text{ G}$, $g = 2,2789$) que aumenta do AH1 ao AH4. Pode ser observado também um conjunto de nove linhas característico de Cu^{2+} ligado a estruturas nitrogenadas tipo porfirinas ($A_{\perp N} = 17 \text{ G}$, $g = 2,05$) que diminui na mesma ordem (Figura 46).

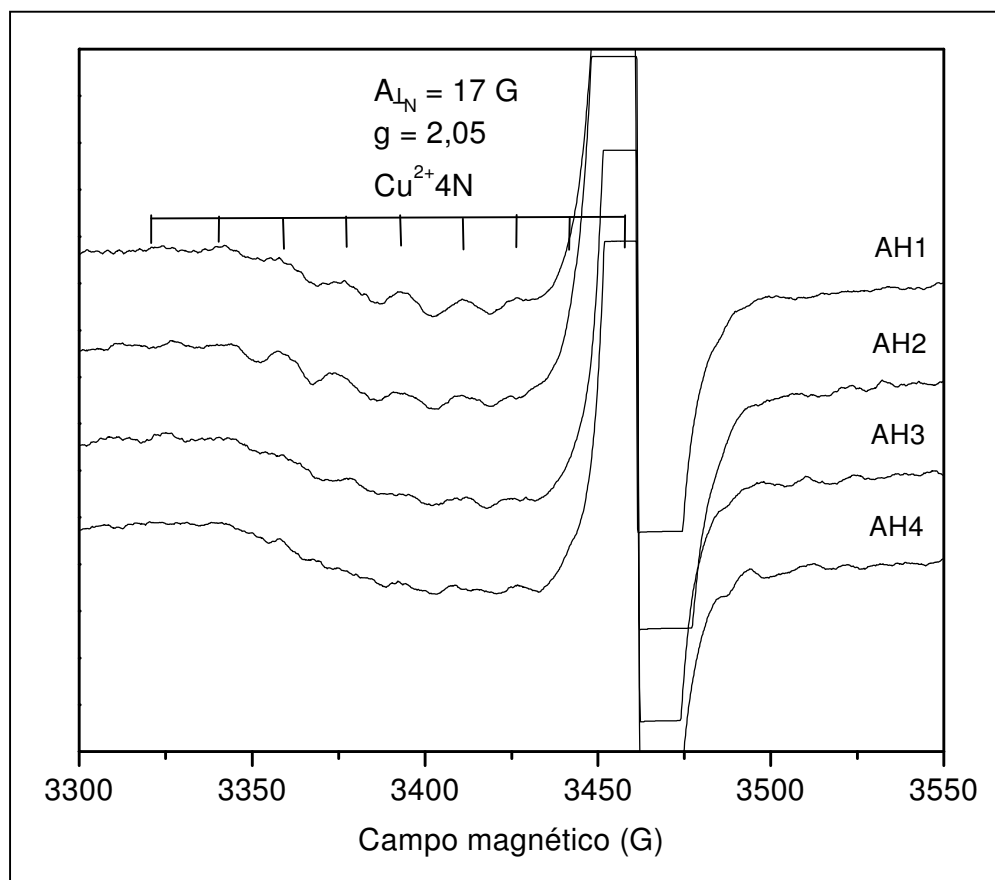


FIGURA 46 – ESPECTROS DE EPR A TEMPERATURA AMBIENTE COM G EM TORNO DE 2,0 PARA AS OS ÁCIDOS HÚMICOS AH1, AH2, AH3 E AH4 EXTRAÍDOS DAS QUATRO FASES DO COMPOSTO DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO *Agaricus brasiliensis*.

O número de spin g^{-1} , calculado a partir do sinal do radical livre orgânico (RLO) em $g = 2,0038$, aumenta do AH1 ($1,066 \times 10^{17}$) para AH2 ($1,558 \times 10^{17}$). E diminui depois para o AH3 ($6,946 \times 10^{16}$) e AH4 ($7,409 \times 10^{16}$). O aumento deste valor do AH1 ao AH2 poderia ser explicado pela rápida quebra de componentes orgânicos durante o crescimento do micélio na colonização do composto (SHARMA *et al*, 1999), como visto pelos espectros de FTIR e UV-VIS.

Este estudo sugere que carboidratos presentes no composto são consumidos durante o ciclo de crescimento do *A. brasiliensis*, e grupos ácidos carboxílicos são formados. A amostra AH2 mostra modificações mais significantes, como maior razão E4/E6 e número de spin g^{-1} , favorecidas pelo ambiente redutor, pois o crescimento do micélio ocorre sobre o composto em sacos plásticos fechados. Estruturas de porfirinas de Fe^{3+} e Cu^{2+} desaparecem no decorrer do ciclo de crescimento do fungo. O sinal de Cu^{2+} ligado a oxigênios a partir da segunda fase pode indicar processos

oxidativos da MO, uma vez que após a tomada do composto pelo micélio os sacos plásticos são abertos para o crescimento do cogumelo.

A tabela 9 apresenta os resultados da análise de metais para os ácidos húmicos e análise elementar de CHN para os mesmos e para a melanina extraída do *A. brasiliensis*.

TABELA 9 - ANÁLISE ELEMENTAR DE CHN E CONCENTRAÇÃO DE METAIS PARA OS AH E MELANINA DO FUNGO *A. brasiliensis*.

Amostra	C	H	N	Al	Cu	Fe	Mn
	%			ppm			
Melanina Ab	47,14	6,99	10,41	nd	nd	nd	nd
AH 1	49,99	6,03	3,65	83	41	281	5,6
AH 2	49,67	5,68	4,16	136	37	204	6,3
AH 3	49,18	5,50	4,80	38	36	58	3,0
AH 4	50,64	5,41	5,46	81	43	77	2,1

A quantidade de ferro presente no ácido húmico diminui na fase de frutificação (AH3 e AH4), indicando que este está sendo utilizado na formação do cogumelo, podendo justificar a diminuição do sinal de ferro em estrutura porfirínica observada por EPR.

O desaparecimento de estruturas porfirínicas de Cu poderia ser justificado da mesma maneira, pois as quantidades de Cu também modificam. Porém, este não deve estar sendo utilizado pelo cogumelo, pois o crescimento indesejável de fungos é combatido com fungicidas cúpricos. Contudo, pela análise elementar de CHN, a melanina do cogumelo mostra 10,41 % de N em sua composição, indicando que as estruturas de Cu-porfirina podem ter sido destruídas para a utilização de nitrogênio em vez de cobre. O Cu^{3+} pode permanecer no composto e formar outras estruturas em ambiente oxidado, justificando a formação de $\text{Cu}^{3+}\text{-4O}$ mostrada pelos espectros de EPR (figura 45).

A quantidade de Mn diminui após a fase de crescimento do micélio do fungo, confirmando a sua importância como micronutriente para os fungos, observada em 5.6 para o *B. rompelii*.

A fase de colonização pelo micélio do fungo (AH2) é importante na formação de novas estruturas químicas para o crescimento deste.

A estabilização do composto durante o crescimento do fungo é acompanhada pela formação de novos complexos metálicos com a matéria orgânica.

A melanina extraída do *Agaricus brasiliensis* apresentou espectro de FTIR (figura 47) bastante semelhante aos da melanina do *Boletinus rompelii*, indicando que os dois macrofungos exercem atividades semelhantes no substrato ou solo.

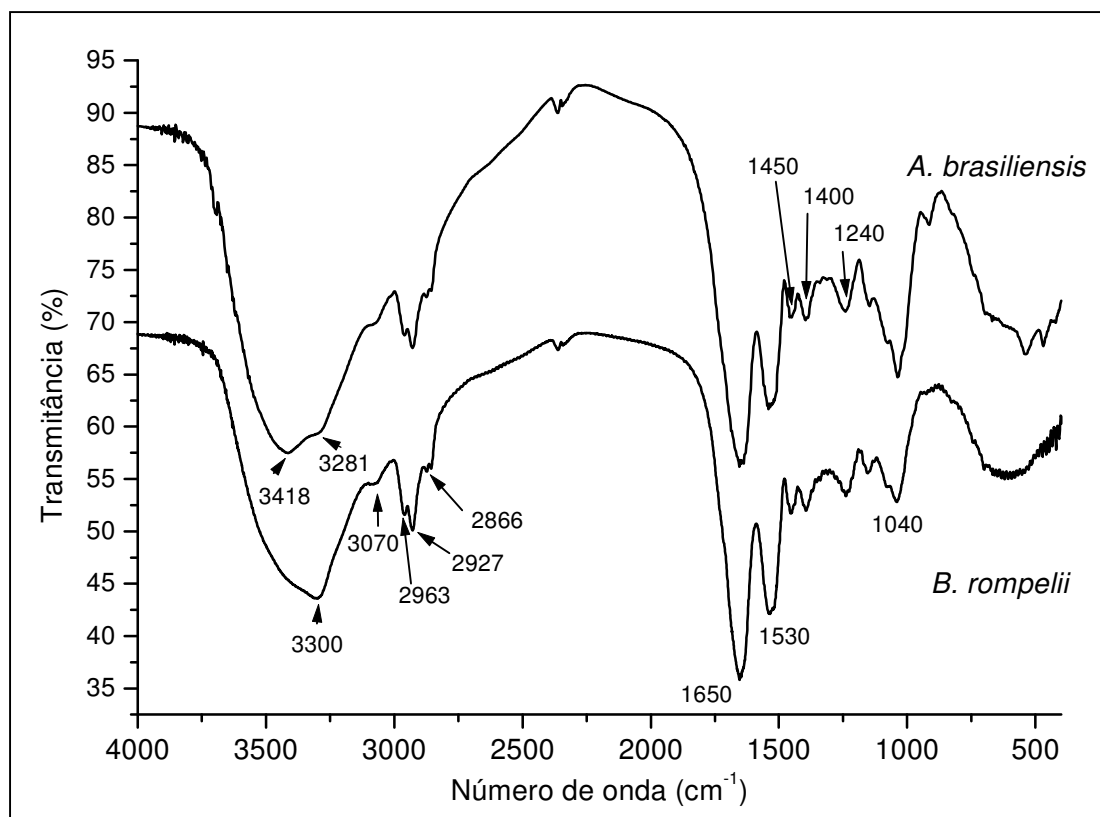


FIGURA 47 – ESPECTROS DE FTIR DAS MELANINAS DOS MACROFUNGOS *Boletinus rompelii* E *Agaricus brasiliensis*.

O espectro de EPR da melanina do *Agaricus brasiliensis* (figura 49) apresentou linha larga em $g \sim 2,0$ de interação entre íons Fe^{3+} , diferentemente do espectro da melanina do *B. rompelii*. Numa das fases da extração não foi possível reprecipitar a melanina do *Agaricus brasiliensis*, pois o volume de água (3 L) foi excessivo para, com diminuição do pH, haver precipitação das moléculas. Assim, a melanina não passou também pelo tratamento com HF e HCl, importante na remoção de íons Fe^{3+} responsáveis pelo alargamento da linha em $g \sim 2,0$, de domínios concentrados de ferro, o que justifica a presença do respectivo sinal.

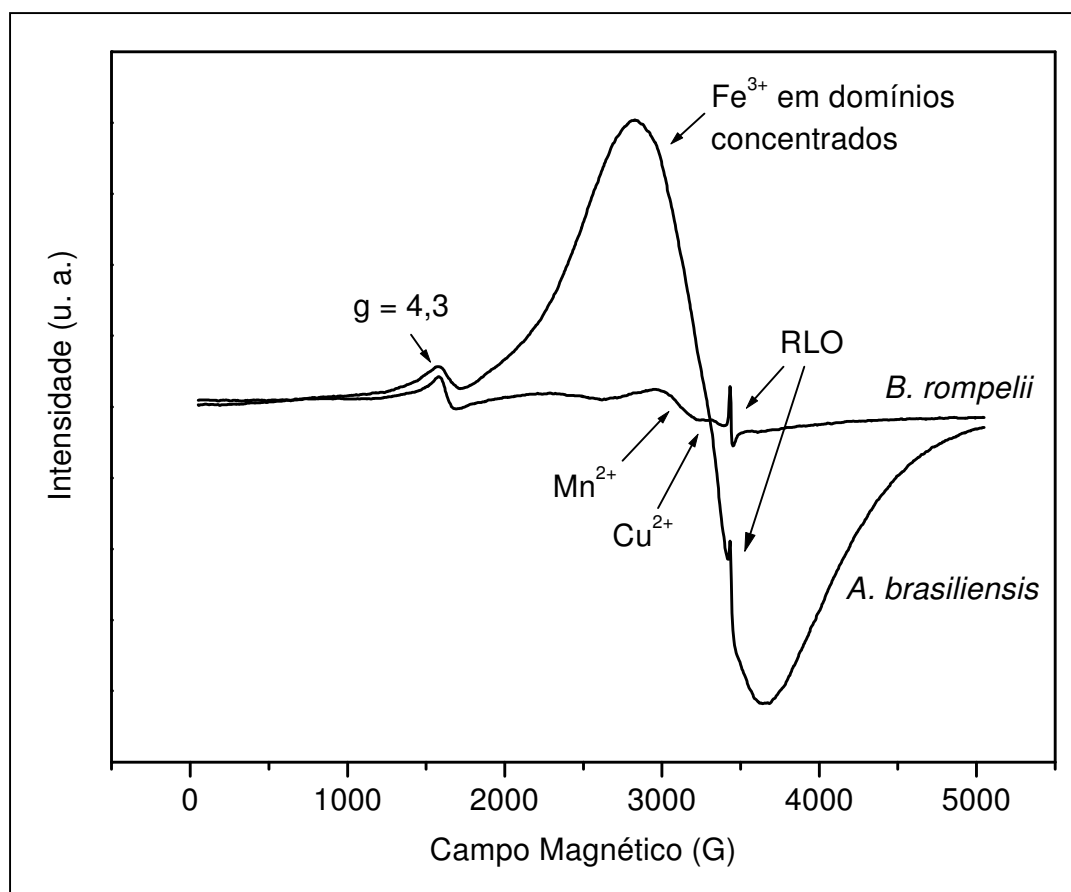


FIGURA 48 – ESPECTROS DE EPR DAS MELANINAS DOS MACROFUNGOS *Boletinus rompelii* E *Agaricus brasiliensis*.

5.8.1 – Considerações relevantes

O cogumelo rompe estruturas mais organizadas formadoras do ácido húmico durante a fase de crescimento do micélio, provavelmente através de processos redutores, pois o fungo deve obter oxigênio reduzindo estas estruturas. Assim, disponibiliza nutrientes como N, Fe e Mn para o crescimento do cogumelo na fase posterior.

A disponibilidade de nutrientes deve ser maior que o consumo próprio do fungo, o que torna o composto residual rico em nutrientes e de boa qualidade para utilização em hortas, como citado pela empresa GAPI. No entanto, algum nutriente deve limitar o crescimento do cogumelo, ou pela escassez como no caso do manganês, ou pelo excesso como no caso do cobre.

6 – CONCLUSÃO

No estudo das interações de estruturas orgânicas com componentes inorgânicos do solo alguns avanços foram alcançados.

O consumo dos DIR na caulinita por acomodação de elétrons nas vacâncias previamente existentes e as modificações no aspecto destas linhas, observados por EPR, principalmente da caulinita orientada perpendicularmente ao campo magnético, sugere a participação destes centros em processos oxidativos da caulinita.

O poder oxidante das caulinitas (mineral 1:1) e óxidos de ferro são favorecidos naturalmente porque ocorrem via redução de $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ localizados na superfície do mineral.

Considerando a formação dos minerais numa escala geológica, ocorre diminuição da simetria dos sítios de impurezas de Fe^{3+} . Enquanto a muscovita apresenta sítios de complexação com simetrias axiais, $D \neq 0$, $E = 0$, dentro da camada de sítios octaédricos protegida por duas camadas tetraédricas, a caulinita apresenta esses sítios bem menos simétricos, $D \neq 0$, $E \neq 0$.

A espectroscopia de XPS foi útil na elucidação de estruturas orgânicas ligadas a caulinita, através da qualificação e quantificação de compostos orgânicos em superfície. Assim, a nova estratégia de caracterização de MO dos solos indicada aqui é estudar a MO ligada às argilas, separadas pelo processo clássico de sedimentação. Como podem ser separados vários minerais do solo, na fração argila, a análise de DRX para a identificação destes seria necessária também.

O mecanismo de degradação dos herbicidas s-triazinas poderia seguir a proposta de SHIN *et al.*, 2000, com as reações de oxidação das alquilas ligadas ao N de aminas e redução de Mn(IV) da estrutura da caulinita, e reduções de Fe^{3+} de óxidos presos na estrutura e de centros DIR das caulinitas.

No estudo da participação de macrofungos na formação de matéria orgânica dos solos, verificou-se que os cogumelos podem ter uma significativa contribuição na formação das estruturas orgânicas do solo. Primeiramente, o cogumelo rompe estruturas mais organizadas formadoras do ácido húmico durante a fase de crescimento do micélio, identificado no estudo do *B. rompelii* e verificado no estudo

do *A. brasiliensis*, disponibilizando nutrientes como N, Fe e Mn para o crescimento do cogumelo na fase posterior.

Assim, estruturas de carboidratos são adicionadas aos solos e irão compor a MO. Íons como Fe e Cu são responsáveis por ligações entre a matéria orgânica e componentes inorgânicos nos solos. O íon Mn^{2+} é importante como micronutriente para os fungos.

A disponibilidade de nutrientes deve ser maior que o consumo próprio do fungo, o que torna o composto residual rico em nutrientes e de boa qualidade para utilização em hortas, como citado pela empresa GAPI. No entanto, algum nutriente deve limitar o crescimento do cogumelo, ou pela escassez como no caso do manganês, ou de algum elemento das estruturas de “porfirinas” de Fe^{3+} e Cu^{3+} , ou pelo excesso como no caso do cobre ligado a átomos de oxigênio.

Trabalhos futuros poderiam ser propostos a partir destes resultados, como por exemplo: estudo da matéria orgânica formada em profundidade no perfil de solo, caracterizando-se a estrutura orgânica presa à argila, qualitativa e quantitativamente, em diferentes ambientes, para modelagem de quantificação de C seqüestrado nos solos.

Outro exemplo seria o estudo do desenvolvimento de macrofungos em meios de cultivo formados por mistura de resíduos e diferentes argilas de solo, com o objetivo de identificar o potencial de formação de estruturas orgânicas resistentes nos solos, química e fisicamente.

REFERÊNCIAS

- AASA, R. J. Powder lines shape in electron paramagnetic resonance spectra of high-spin ferric complexes. *Journal of chemical physics*, v. 52, p. 3919-3930, 1970.
- ADAMS, M. J., *Chemometrics in Analytical Spectroscopy*, The Royal Society of Chemistry, 1995.
- ADAMS, M.J., *Chemometrics in Analytical Spectroscopy*, The Royal Society of Chemistry, 1995.
- ALLARD, T.; MULLER, J. P.; DRAN, J. C.; MENAGER, M. T. Radiation-induced paramagnetic defects in natural kaolinites – alpha-dosimetry with ion-beam irradiation. *Physics and chemistry of minerals*, v. 21, p. 85-96, 1994.
- ALLEGRI, G.; BERTAZZO, A.; COSTA, C.; SERAGLIA, R.; TRALDI, P. Investigation on melanin biosynthesis from 5,6-dihydroxytryptamine by matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, v. 10, p. 419-423, 1996.
- ATKINS, P.W. *Físico - Química*. 6a edição. vol2 .LTC .Rio de Janeiro, p 225-293, 1999.
- BALAN, E.; ALLARD, T.; BOIZOT, B.; MORIN, G.; MULLER, J.P. Quantitative measurement of paramagnetic Fe³⁺ in kaolinite. *Clays and clay minerals*, v. 48, n. 4, p. 439-445, 2000.
- BARR T.L. An XPS study of Si as it occurs in adsorbents, catalysts, and thin-films. *Applied Surface Science*, v. 15 (1-4), p. 1-35, 1983.
- BERTAZZO, A.; BIASIOLO, M.; COSTA, C.; ALLEGRI, G.; ELLI, G.; SERAGLIA, R.; TRALDI, P. Laser-desorption ionization mass-spectrometry in the study of natural and synthetic melanins. 11. Serotonin melanins. *Biological Mass Spectrometry*, v. 23, p. 391-398, 1994.
- BILINSKA, B. Progress of infrared investigations of melanin structures. *Spectrochimica Acta Part A*, v. 52, p. 1157-1162, 1996.
- BRATCHELL, N. Cluster Analysis. *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, v. 6, p. 105-125, 1989.
- BRIGGS, D and BEAMSON, D, *High Resolution of Organic Polymers: The Scienta ESCA300 Database*, Scienta Co., 1992.
- CAETANO, I. K. Tese de Doutorado. Caracterização de ácidos húmicos em solos sob diferentes manejos tendo em vista o seqüestro de carbono. Departamento de Engenharia Química, UFPR, 2002.
- CATALDO, F. On the structure of macromolecules obtained by oxidative polymerization of polyhydroxyphenols and quinones. *Polymer International*, v. 46, p. 263-268, 1998.
- CHEN, Y., CHEFETZ, B., ROSARIO, R., VAN HEEMST, J. D. H., ROMAINE, C.P., HATCHER, P. C., Chemical nature and composition of compost during mushroom growth. *Compost Science & Utilization* 8 (4): 347-359, 2000.
- CHENEY, M. A., SHIN, J.Y., CROWLEY, D. E., ALVEY, S., MALENGREAU, N. and SPOSITO, G. Atrazine dealkylation on a manganese oxide surface. *Colloids and surfaces a-physicochemical and engineering aspects*, v. 137, n. 1-3, p. 267-273, jun 15, 1998.
- CLOZEL, B.; ALLARD, T.; MULLER, J.P. Nature and stability of radiation-induced defects in natural kaolinites: new results and a reappraisal of published works. *Clays and clay minerals*, v. 42, p. 657-666, 1994.

- COTTON, F. A., WILKINSON, G., MURILLO, C.A., BOCHMANN, M. Advanced Inorganic Chemistry, 6 Ed. John Wiley & Sons, New York, 1999.
- COZZOLINO, A., CONTE, P., PICCOLO, A., Conformational changes of humic substances induced by some hydroxy-, keto-, and sulfonic acids. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 563-571, 2001.
- DELINEAU, T.; ALLARD, T.; MULLER, J. P.; BARRES, O.; YVON, J.; CASES, J. M. Ftir reflectance vs epr studies of structural iron in kaolinites. *Clays and clay minerals*, p. 42, n. 3, p. 308-320, jun, 1994.
- DENEK K, SIX J, PAUSTIAN K, *ET AL* Importance of macroaggregate dynamics in controlling soil carbon stabilization: short-term effects of physical disturbance induced by dry-wet cycles *SOIL BIOL BIOCHEM* 33: (15) 2145-2153, dec 2001.
- DRITS, V. A. e MANCEAU, A., A model for the mechanism of Fe^{3+} to Fe^{2+} reduction in dioctahedral smectites. *Clays and clay Minerals*, v. 48, 2, 185-195, 2000.
- DUFFY, B. K.; OWNLEY, B. H.; WELLER, D. M. Soil Chemical and Physical Properties Associated with Supression of Take-all of Wheat by *Trichoderma koningii*. *Phytopathology*, v. 87, p. 1118-1124, 1997.
- EBSWORTH E.A.V.; RANKIN, D.W.H.; CRADOCK, S. Structural methods in inorganic chemistry . 2th edition. USA, CRC Press.p. 115-141, 1991.
- EGUCHI-F; WATANABE-Y; ZHANG-JUN; MIYAMOTO-K; YOSHIMOTO-H; FUKUHARA-T; HIGAKI-M. Inhibitory effects of hot water extract from *Agaricus blazei* fruiting bodies (JC-01) on hypertension development in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Traditional Medicines*, v. 16, p. 201-207, 1999.
- FILIP, Z.; HAIDER, K.; BEUTELSP, H.; MARTIN, J. P. Comparisons of IR-spectra from melanins of microscopic soil fungi, humic acids and model phenol polymers. *Geoderma*, v. 11, p. 37-52, 1974.
- FINDLAY, J. A.; HE, Z. Q. Minor constituents of *Gymnopilus-spectabilis*. *Journal of Natural Products*, v. 54, p. 184-189, 1991.
- FORINA, M.; ARMANINO, C.; LANTERI, S.; LEARDI, R.; Methods of Varimax Rotation in Factor Analysis with Applications in Clinical and Food Chemistry. *J. Chemom.*, v. 3, p. 115-125, 1988.
- FUJIMIYA-Y; SUZUKI-Y; OSHIMAN-KI; KOBORI-H; MORIGUCHI-K; NAKASHIMA-H; MATUMOTO-Y; TAKAHARA-S; EBINA-T; KATAKURA-R. Selective tumoricidal effect of soluble proteoglycan extrated form the basidiomycete, *Agaricus blazei* Murill, mediated via natural killer cell activation and apoptosis. *Cancer Immunology and Immunotherapy*, v. 46, p. 147-159, 1998.
- GAITE, J.M.; ERMAKOFF, P.; ALLARD, T.; MULLER, J. P.; Paramagnetic Fe^{3+} : A sensitive probe for disorder in kaolinite. *Clays and clay minerals*, v. 45, n. 4, p. 496-505, 1997.
- GAMBLE, D. S.; ISMAILY, L. A. Atrazine in mineral soil - the analytical-chemistry of speciation. *Canadian journal of chemistry-revue canadienne de chimie*, v. 70, n. 6, p. 1590-1596, jun, 1992.
- GATES, D.M., STRAIN, B.R., WEBER, J.A. 15 Ecophysiological effects of changing atmospheric CO concentration. In: Lange, O.L., Nobel, P.S., Ziegler, O.H. Eds. *Physiological Plant Ecology IV*. Springer-Verlag, pp. 503–526, 1983.
- GELLER, A. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 9, 289, 1990.
- GIANNONI, R. A. Aplicações de R.P.E. ao estudo de metais de transição em moléculas covalentes, catalisadores e solos. Tese de doutorado. Instituto de Física, UFRJ, 1998.

- GOMES, R. C.; MANGRICH, A. S.; COELHO, R. R. R.; LINHARES, L. F. Elemental, Functional Group And Infrared Spectroscopic Analysis Of Actinomycetes Melanins From Brazilian Soils. *Biology And Fertility Of Soils*, Reino Unido, v.21, p.84-88, 1996.
- GOMES, R. C.; MANGRICH, A. S.; COELHO, R. R. R.; LINHARES, L. F. Elemental, Functional Group And Infrared Spectroscopic Analysis Of Actinomycetes Melanins From Brazilian Soils. *Biology And Fertility Of Soils*, Reino Unido, v.21, p.84-88, 1996.
- GONZALES-PRADAS, E., VILLAFRANCA-SANCHES, M., GALLEGE-CAMPO, A., URENA-AMATE, D., FERNÁNDEZ-PERES, M. Removal of atrazine from aqueous solution by natural and activated bentonite. *J. Environ. Qual.* 26, 1288-1291. 1997.
- GOODMAN, B. A.; HALL, P. L. Electron Paramagnetic resonance spectroscopy. In: WILSON, M. J. *Clay Mineralogy: Spectroscopic and Chemical Determinative Methods*. Chapman & Hall: London, 1994.
- GRIM, R. E. *Clay Mineralogy*. MCGRAW-HILL BOOK COMPANY, New York, 1953.
- GUIMARÃES, E. Dissertação de mestrado, Caracterização química e espectroscópica e por análise térmica de ácidos húmicos e vermicompostos obtidos de esterco de diferentes animais. Departamento de Química, UFPR, 1997.
- GUIMARÃES, E. MANGRICH, A. S.; MACHADO, V. G.; TRAGHETTA, D. G. and 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 vercomposts. *J. Braz. Chem. Soc.* v. 12, n 26, p.734-741, 2001.
- GUIMARÃES, J. L.; PERALTA-ZAMORA, P. and WYPYCH, F. Covalent Grafting of Phenylphosphonate Groups onto the Interlamellar Aluminol Surface of Kaolinite. *Journal of colloid and interface science*, v. 206, p. 281-287, 1998.
- HAYES MHB, CLAPP CE Humic substances: Considerations of compositions, aspects of structure, and environmental influences. *Soil Science*, 166: (11) 723-737 NOV 2001.
- HIROTANI, M.; KANEKO, A.; ASADA, Y.; YOSHIKAWA, T. Biosynthesis of blazeispirol A, an unprecedented skeleton from the cultured mycelia of the fungus *Agaricus blazei*. *Tetrahedron Letters*, v. 41, p. 6101-6104, 2000.
- HORWATH, W. R.; ELLIOT, L. F.; STEINER, J. J.; DAVIS, J. H.; GRIFFITH, S. M. Denitrification in Cultivated and Noncultivated Riparian Areas of Grass Cropping Systems. *J. Environ. Qual.*, v. 27, p. 225-231, 1998.
- HSU, P.H. Aluminum oxides and oxyhidroxides. In: DIXON, J. B.; WEED, S. B. (Ed.). *Minerals in soil environments*. Madison, Wisconsin, USA, p.331 – 371, 1989.
- JACOBSON, M. K.; BYLER, D. M.; JACOBSON, G. M. Isolation of estradiol-2,3-quinone and its intermediary role in melanin formation. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1073, p. 1-10, 1991.
- JANIK, L. J.; SKJEMSTAD, J. O. Characterization and analysis of soils using mid-infrared Partial Least-Squares. II. Correlations with some laboratory data. *Australian Journal of Soil Research*, v. 33, p. 651-657, 1995.
- JOLIVET, S.; ARPIN, N.; WICHERS, H. J.; PELLON, G. *Agaricus bisporus* browning: a review. *Mycological Research*, v. 102, p. 1459-1483, 1998.
- JÖRESKOG, K. G.; KLOVAN, J. E.; REYMENT, R. A. *Geological Factor Analysis*. Elsevier, Amsterdam, p.59, 86-115, 1976.

- KAHN, V. Effect of kojic acid on the oxidation of DL-DOPA, norepinephrine, and dopamine by mushroom tyrosinase. *Pigment Cell Research*, v. 8, p. 234-240, 1995.
- KAHN, V.; BENSALOM, N. Effect of maltol on the oxidation of DL-DOPA, dopamine, N-acetyldopamine (NADA), and norepinephrine by mushroom tyrosinase. *Pigment Cell Research*, v. 10, p. 139-149, 1997.
- KAHN, V.; BENSALOM, N.; ZAKIN, V. Effect of kojic acid on the hydroxylation of L-tyramine by mushroom tyrosinase. *Journal of Food Biochemistry*, v. 22, p. 455-474, 1998.
- KAMALOV, L. S.; AGZAMOVA, M. A.; ARIPOVA, S. F.; ISAEV, M. I. Low-molecular-weight mushroom metabolites. V. Eburicoic acid from *Polyporus aphanus*. *Chemistry of Natural Compounds*, v. 36, p. 72-75, 2000.
- KENNEDY MJ, PEVEAR DR, HILL RJ Mineral surface control of organic carbon in black shale *SCIENCE* 295: (5555) 657-660 JAN 25 2002.
- KODAMA. H.; SCHNITZER, M. Effect of fulvic-acid on crystallization of Fe(III) oxides. *Geoderma*, v. 19, n. 4, p. 279-291, 1977.
- KOSTKA, J. E.; WU, J.; NEALSON, J. W.; Stucki, *Geochim Cosmochim. Acta* 63, 3705, 1999.
- LAIRD, D. A.; YEN, P.Y.; KOSKINEN, W. C.; STEINHEIMER, T. R.; DOWDY, R. H. Sorption of atrazine on soil clay components. *Environmental science & technology*, v. 28, n. 6, p. 1054-1061, jun, 1994.
- LECLERC G, PIREAUX J. J. The use of least squares for XPS peak parameters estimation. Part 1. Myths and realities. *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.*, 71(2), p. 141, 1995.
- LINHARES, A. A.; LINHARES, L. F.; COELHO, R. R. R. Neutral sugars in melanins synthesized by actinomycetes from Brazilian soils. *Biology and Fertility of Soils*, v. 27, p. 162-167, 1998.
- LOGANATHAN, P.; KALYNASUNDARAM, I. The melanin of the myxomycete *Stemonitis herbatica*. *Acta Protozoologica*, v. 38, p. 97-103, 1999.
- LOMBARDI K. C.; GUIMARÃES J. L.; MANGRICH A. S.; MATTOSO N; ABBATE M; SCHREINER W. H.; WYPYCH F. Structural and Morphological Characterization of the PP-0559 Kaolinite from the Brazilian Amazon Region *J. Braz. Chem. Soc*, 13: (2) 270-275, 2002.
- LOMBARDI, K. C., Caracterização química e espectroscópica de minerais de argila com vistas ao estudo da interação com herbicidas. Dissertação de mestrado, Departamento de Solos, UFPR, 2000.
- LOMBARDI, K. C.; MANGRICH, A. S.; RODRIGUES FILHO, U. P.; SCHREINER, W. H. Caracterização dos herbicidas atrazina e simazina e suas interações com caulinita por espectroscopia de fotoemissão por raios-X (XPS). Em: 26ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2003, Poços de Caldas. 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química - A química torna sua vida melhor. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2003.
- MAIA C. M. B. F. Tese de Doutorado. Acompanhamento do processo de compostagem de serragem de *Pinus taeda* pelas características químicas e espectroscópicas das substâncias húmicas em formação, Departamento de Química, UFPR, 2004.
- MANGRICH, A. S., GIANNONI, R. A., LOMBARDI K. C., PEREIRA, B. F., OLENDZKI, R. N., GUIMARÃES E., BUDZIAK C. R., NOVOTNY E. H., DOS ANJOS, A., SILVA, F. A., DOS SANTOS, J. C. P., DO VALLE T., VUGMAN, N.

- V. Clay minerals from two tropical soils and their interaction with the herbicide atrazine. *Metals, materials and processes*. (submetido), 2005.
- MANGRICH, A. S.; LERMEN, A. W.; SANTOS, E. J.; GOMES, R. C.; COELHO, R. R.; LINHARES, L. F.; SENESI, N. Electron Paramagnetic Resonance And Ultraviolet-Visible Spectroscopic Evidence For Copper Porphyrin Presence In Actinomycete Melanins From Soils. *Biology And Fertility Of Soils*, Reino Unido, v.26, p.341-345, 1998.
- MANGRICH, A. S.; VUGMAN, N. V. Bonding parameters of vanadyl ion in humic acid from the Jucu river estuarine region, Brazil. *The Science of the Total Environment*, v. 75, p. 235-241, 1988.
- MANUAL TÉCNICO MILENIA. Milenia Agrociências S. A.
- MARTELL, A.E.; SMITH, R.M. Critical Stability Constants of Metal Complexes; NIST Database 46; Gaithersburg, MD, USA, 1994.
- MARTENS, H.; NAES, T. *Multivariate Calibration*, New York, John Wiley & Sons, 1996.
- MARTIN-NETO, L.; VIEIRA, M.; SPOSITO, G. Mechanism of Atrazine Sorption by Humic Acid: A Spectroscopic Study. *Environ. sci. technol.*, v. 28, p. 1867-1873, 1994.
- MEADS, R. E. and MALDEN, P. J., Electron spin resonance in natural kaolinites containing Fe³⁺ and other transition metal ions. *Clays minerals*, v. 10, p. 313-345, 1975.
- MIZUNO-M; MINATO-KI; ITO-H; KAWADE-M; TERAH-H; TSUCHIDA-H. Antitumor polysaccharide from the mycelium of liquid-cultured *Agaricus blazei* Mill. *Biochemistry and Molecular Biology International*, v. 47, p. 707-714, 1999.
- MIZUNO-M; MORIMOTO-M; MINATO-KI; TSUCHIDA-H. Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate lymphocyte T-cell subsets in mice. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, v. 62, p. 434-437, 1998.
- MOLINARI, G. P.; CARBONI G.; FRESCHI G. Adsorbimento di Quinclorac su Suolo e Materiali Argillosi. *Anais: Atti del X convegno Nazionale della Società Italiana di Chimica Agraria*. v. 2, p. 49-55, Roma, 1992.
- MOULDER, J. F., STICKLE, W. F., SOBOL, P. E., BOMBEN, K. D., "Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy" (Physical Electronics INC. Eds) Eden Prairie, USA, 1995.
- MULLER, J. P.; CALAS, G. Tracing kaolinites through their defects centers. Kaolinite paragenesis in the laterite (Cameroon) *Economic Geology*, 84, 694-707, 1989.
- MULLER, J. P.; CALAS, G. Mn²⁺-bearing kaolinites from lateritic weathering profiles geochemical significance. *Geochimica et cosmochimica acta*, v. 57, n. 5, p. 1029-1037, mar, 1993.
- NEFEDOV, V. I. *X-ray photoelectron spectroscopy of solid surfaces*. Utrecht: Holanda, 1988.
- NOLIN, M.C.; WANG,C.; CAILLIER, M. J. Fertility Grouping of Montreal Lowlands soil Mapping Units based on Selected Soil Characteristics of the Plow Layer. *Can. J. Soil Sci.* v. 69, p. 525-541, 1989.
- NOVOTNY, E. H. Dissertação de Mestrado. Extração, fracionamento e caracterização espectroscópica da matéria orgânica do solo. Departamento de Solos, UFPR, 1997.
- NOVOTNY, E. T. Estudos espectroscópicos e cromatográficos de substâncias húmicas de solos sob diferentes sistemas de preparo. São Carlos, Tese (Doutorado em Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, 2002.

- OSEI, B.A.; SINGH, B., Electrophoretic mobility of some tropical soil clays: effect of iron oxides and organic matter. *Geoderma*, 93, 325–334, 1999.
- OSAKI-Y; KATO-T; YAMAMOTO-K; OKUBO-J; MIYAZAKI-T. Antimutagenic and bactericidal substances in the fruit body of a basidiomycete *Agaricus blazei*. *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, v. 114, p. 342-350, 1994.
- PAIM, S.; LINHARES, L. F.; MANGRICH, A. S.; MARTIN, J. P. Characterization of fungal melanins and soil humic acids by chemical analysis and infrared spectroscopy. *Biology and Fertility of Soils*, v. 10, p. 72-76, 1990.
- PAIXÃO, R. E. Dissertação de mestrado, Avaliação química e espectroscópica do grau de maturidade do composto de resíduos de podas e lodo de esgoto industrial em escala de laboratório. Departamento de Química, UFPR, 2004.
- PICCOLO, A. *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*, Italy, 1996.
- PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances. *Soil Science*, v. 166 (11), 810-832, 2001.
- PIERCE, J. A.; RAST, D. M. A comparison of native and synthetic mushroom melanins by Fourier-Transform Infrared Spectroscopy. *Phytochemistry*, v. 39, p. 49-55, 1995.
- RICE, J. A., Humin. *Soil Science*, 166 (11), 848-857, 2001.
- ROSEI, M. A. Melanins from opioid peptides. *Pigment Cell Research*, v. 9, p. 273-280, 1996.
- ROSEI, M. A.; COCCIA, R.; FOPPOLI, C.; BLARZINO, C.; CINI C.; SCHININA, M. E. Cysteinyl-dopa-enkephalins: synthesis, characterization and binding to bovine brain opioid receptors. *Biochimica et Biophysica Acta – Protein Structure and Molecular Enzymology*, v. 1478, p. 19-29, 2000.
- ROSEI, M. A.; MOSCA, L. Production of melanin pigments by chemical and enzymatic oxidation of tetrahydroisoquinolines. *Biochemistry and Molecular Biology International*, v. 35, p. 1253-1259, 1995.
- ROSEI, M. A.; MOSCA, L.; DEMARCO, C. Spectroscopic features of native and bleached opio-melanins. *Biochimica et Biophysica Acta – General Subjects*, v. 1243, p. 71-77, 1995.
- RUSSEL, J. D.; FRASER, A. R. Infrared methods. In: WILSON, M. J., CHAPMAN & HALL, *Clay Mineralogy* London, p. 11-64, 1994.
- SCHNITZER, M. Characterization of humic constituents by spectroscopy. In: McLAREN, D.; SKUJINS, J. (Eds.) *Soil biochemistry*. v 2. New York: Marcel Dekker, 1971.
- SCHREINER, W. H.; LOMBARDI, K. C.; OLIVEIRA, A. J. A.; MATTOSO, N.; ABBATE, M.; WYPYCH, F.; MANGRICH, A. S. Paramagnetic anisotropy of a natural kaolinite and its modification by chemical reduction. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 241, 422-429, 2002.
- SCHULTEN, H. F.; HEMPFLING, R. Influence of Agricultural Soil Management on Humus Composition and Dynamics: Classical and Modern Analytical Technics. *Plant Soil*, v. 142, p. 259-271, 1992.
- SCHULZE, D. G. An introduction to soil mineralogy. In: DIXON, J. B.; WEED, S. B. (Ed.). *Minerals in soil environments*. Madison, Wisconsin, USA, p.1–34, 1989.
- SCOFIELD, J.H. Hartree-Slater subshell photoionization cross-sections at 1254 and 1487 eV. *J. Electron Spectr. Relat. Phenom.*; 8 (2), p. 129, 1976.
- SEALY, R. C.; SARNA, T.; WANNER, E.J.; RESZKA, K. Photosensitization of melanin – an electron-spin resonance study of sensitized radical production and

- oxygen-consumption. *Photochemistry and photobiology*, v. 40, p. 453-459, 1984.
- SENA, M. M. Aplicação de Métodos Quimiométricos na Especificação de Cromo (VI) em Solução Aquosa. UNICAMP, Dissertação de Mestrado, Campinas, p.17-32, 1996.
- SENESI, N. Applications of electron spin resonance (ESR) spectroscopy in soil chemistry. *Advances in soil science*, v. 14, p. 77-130, 1990.
- SENESI, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metals ions and organic chemicals . Part I The eletron spin resonance approach. *Analytica Chimica Acta*. 232. p 51-75, 1990.
- SETA, A. K.; KARATHANASIS, A. D. Atrazine adsorption by soil colloids and Co-transport through subsurface environments. *Soil science society of america journal*, v. 61, n. 2, p. 612-617, mar-apr, 1997.
- SHARMA, H. S. S., FURLAN, A., LYONS, G. Comparative assessment of chelated spent mushroom substrates as casing material for the production of *Agaricus bisporus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 52: 366-372, 1999.
- SHIN, J.Y., BUZGO, C.M., CHENEY, M.A. *Colloids and Surfaces*, (172) 113-123, 2000.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 3. ed. Rio de Janeiro- RJ: Editora Guanabara Dois S. A., 1979.
- SOLOMONS, T.W.G. *Química Orgânica*. 6a Edição. vol.1. Editora LTC Rio de Janeiro, p 563-567, 1996.
- SPOSITO, G. *The Chemistry of soils*. New York, University Press, 1989.
- STAINSACK, J. Estudo de Estruturas de Melaninas Sintéticas através da Interação com Íons Metálicos Paramagnéticos. UFPR, Dissertação de Mestrado, Curitiba, 1998.
- STAINSACK, J., MANGRICH, A. S., MAIA, C. M. B. F., MACHADO, V. G., SANTOS, J. C. P., NAKAGAKI, S., Spectroscopic investigation of hard and soft metal binding sites in synthetic melanin. *Inorganica Chimica Acta* 356: 243-248, 2003.
- STENBERG, B., PELL, M., TORSTENSSON, L. Integrated evaluation of variation in biological, chemical and physical soil properties. *Ambio*, 27:9-15, 1998.
- STEVENSON, F. J. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*, 1982.
- SULLIVAN, J. D.; FELBECK, G. T. A study of interaction of s-triazine herbicides with humic acids from 3 different soils. *Soil science*, v. 106, n. 1, p. 42-44, 1968.
- SWIFT, RS, Sequestration of carbon by soil *SOIL SCIENCE* 166: (11) 858-871, 2001.
- TEIXEIRA, W., TOLEDO, M. C. M. de, FAIRCHILD, T. R., TAIOLI, F., *Decifrando a Terra*. São Paulo: Oficina de Textos, 2 ed., 2003.
- VOGEL, A.I. *Análise Química Quantitativa*. 5a Edição. Editora LTC. Rio de Janeiro p.114; 597-628, 1992.
- WANG, D.; SHIN, J. Y.; CHENEY, M. A.; SPOSITO, G. and SPIRO, T. G. Manganese dioxide as a catalyst for oxigen-independent atrazine dealkylation. *Environ. Sci. Technol.*, v. 33, p. 3160-3165, 1999.
- WASSER, S. P.; WEIS, A. L. Therapeutic effects of substances occurring in higher basidiomycetes mushroom. *Critical Reviews in Immunology*, v. 19, p. 65-96, 1999.

- YANG, Q.; QIAN, X.; YANG, X.; YUAN, P.; MI, K.; FENG, H.; FANG, J. Comparative analysis of the extracts of the mycelia and the fruit bodies of Yun Zhi (*Coriolus versicolor*). *Science and Cultivation of Edible Fungi*. Elliott, Rotterdam, 1995.
- YING, G. G.; WILLIAMS, B. Laboratory study on the interaction between herbicides and sediments in water systems. *Environmental pollution*, v. 107, n. 3, p. 399-405, 2000.