

**AUMENTO DA RESOLUÇÃO DE ESPECTROS DE RMN <sup>13</sup>C DE ÁCIDOS HÚMICOS EM SOLUÇÃO ATRAVÉS DO TRATAMENTO PRÉVIO COM KCl 0,03 MOL L<sup>-1</sup>****Luciano Pasqualoto Canellas, Fernando Guridi e Gabriel de A. Santos**

Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 23890-000 Seropédica - RJ

**Victor Marcos Rumjanek**

Departamento de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 23890-000 Seropédica - RJ

**Raimundo Braz-Filho**

Setor de Química dos Produtos Naturais, LCQUI-CCT, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 28015-620 Campos - RJ

Recebido em 7/10/99; aceito em 28/2/00

INCREASE RESOLUTION OF SOLUTION <sup>13</sup>C NMR SPECTRA OF HUMIC ACIDS BY PREVIOUS TREATMENT WITH 0,03 MOL L<sup>-1</sup> KCl. High levels of Fe and Mn present in some soils and compost organic matter decrease the resolution of <sup>13</sup>C NMR spectra of humic substances. Addition of KCl up to a concentration of 0,03 mol L<sup>-1</sup> to humic substances extracts followed by centrifugation is an efficient method of eliminating clays and minerals containing high levels of paramagnetic metals such as Fe and Mn thus increasing the resolution of <sup>13</sup>C NMR spectra.

Keywords: humic acids; humic substances; <sup>13</sup>C NMR.

**INTRODUÇÃO**

Um dos fatores que permitem diferenciar um solo de um sedimento é o seu maior conteúdo de matéria orgânica<sup>1</sup>. A matéria orgânica do solo é uma mistura de compostos orgânicos provenientes de plantas, animais e microrganismos, física e quimicamente heterogênea e em diferentes estágios de decomposição<sup>2</sup>. Os ácidos húmicos (AH) representam uma importante fração da matéria orgânica e são definidos pela solubilidade em meio aquoso básico e precipitação em meio aquoso ácido (pH 2 ou menor). Os AH formam uma mistura heterogênea de moléculas orgânicas unidas entre si principalmente por interações hidrofóbicas<sup>3</sup>. Esta mistura heterogênea aparece como componente importante da fertilidade dos solos, envolvendo-se na capacidade de troca de cátions, na acidez e na estrutura<sup>4</sup>, além de complexar metais pesados em solução<sup>5</sup>. Estudos sobre a estrutura química dos ácidos húmicos são antigos<sup>6</sup> e nos últimos anos a RMN <sup>13</sup>C permitiu avanços consideráveis na compreensão da estrutura<sup>7,8</sup> e de características físico-químicas<sup>9,10</sup>. Ocorre, no entanto, que amostras de AH obtidas principalmente de solos e compostos orgânicos de zonas tropicais com predomínio de minerais de argila do tipo 1:1 apresentam considerável teor de Fe, o que reduz significativamente a resolução dos espectros de RMN <sup>13</sup>C devido, principalmente, ao aumento do relaxamento transversal induzido pelo efeito de paramagnetismo. O procedimento utilizado comumente para o isolamento dos AH pode não ser adequado para tais amostras já que o meio fortemente ácido usado degrada os minerais de Fe aumentando sua concentração na solução de AH.

Este trabalho descreve um procedimento simples para melhorar a resolução de espectro de RMN <sup>13</sup>C de AH extraídos de resíduos orgânicos de origem urbana.

**MATERIAIS E MÉTODOS**

Os AH foram extraídos de material produzido pela Companhia de Limpeza Urbana do Rio de Janeiro (COMLURB) a partir de resíduos orgânicos provenientes da coleta domiciliar de lixo na usina de compostagem de Jacarepaguá. As substâncias húmicas foram isoladas usando uma solução aquosa de NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup>, na razão 1:10 (v:v) sob atmosfera inerte de

N<sub>2</sub>. Este procedimento de extração é recomendado como padrão pela *International Humic Substances Society* (IHSS)<sup>11</sup> e apresenta melhor rendimento de extração do que o uso de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> e de Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup><sup>12</sup>. O extrato contendo as substâncias húmicas (ácidos fúlvicos + ácidos húmicos) foi separado em duas partes. Antes da separação dos ácidos húmicos através da acidificação até pH 1,0 com HCl 6 mol L<sup>-1</sup>, uma das partes foi submetida à adição de KCl sólido (P.A. Merck) até a concentração de 0,03 mol L<sup>-1</sup>, agitou-se vigorosamente, deixou-se em repouso por uma hora e centrifugou-se a 2000 g por 20 minutos, descartando-se o resíduo depositado no fundo do tubo. A suspensão obtida foi acidificada após o repouso de oito horas e centrifugada novamente a 2000g por 20 minutos, descartando-se o sobrenadante. A redissolução do material sólido e precipitação foi repetida três vezes. Em seguida, adicionou-se 200 mL de uma solução aquosa diluída de HF e HCl, preparada com 5 mL de HCl concentrado e 5 mL de HF concentrado e o volume de solução completado para 1 L com água deionizada, e agitou-se a amostra por 8 horas. Os AH foram novamente precipitados por centrifugação e lavados com água até teste negativo com AgNO<sub>3</sub>. Procedeu-se à diálise contra água deionizada em membranas com retenção máxima de 14 kD (Thomas Scientific Inc. USA). Finalmente, os AH foram secos por liofilização. Os AH da outra metade do extrato foram isolados através do mesmo procedimento sem a adição de KCl.

Os espectros das amostras de AH isoladas pelos dois procedimentos foram obtidos num aparelho Bruker AC-200 (50,30 MHz para <sup>13</sup>C) usando-se 150 mg de AH dissolvidos em 1 mL de NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> (9:1 H<sub>2</sub>O:D<sub>2</sub>O), utilizando a seqüência INVGATE.AU (desacoplamento inverso), com pulso de 90°, tempo de aquisição de 0,2 s, tempo de espera da reciclagem do sinal de 0,8 s, 16K de tamanho e cerca de 200 000 transientes por amostra. Os espectros foram obtidos à temperatura ambiente e os deslocamentos químicos registrados δc (ppm) a partir do deslocamento químico do tetrametilsilano (TMS) usado como referência externa.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os espectros de AH normalmente se apresentam com pouca resolução quando comparados com espectros de moléculas orgânicas mais simples. Mesmo assim, tais espectros fornecem

informações para o reconhecimento de unidades estruturais<sup>13</sup> e estudos da dinâmica evolutiva dos AH nos solos<sup>14</sup>.

Os espectros de RMN <sup>13</sup>C dos AH extraídos de resíduos orgânicos sólidos de origem urbana com e sem a adição de KCl estão apresentados na Figura 1. A adição de KCl aumentou significativamente a resolução em todas as regiões do espectro. Na região de absorção de átomos de carbono sp<sup>3</sup> inseridos em cadeias carbônicas aparece o sinal mais intenso em δ<sub>c</sub> 31,5 que pode ser atribuído a grupamentos CH<sub>2</sub> em cadeias longas<sup>15</sup> e em δ<sub>c</sub> 15,1 característico de metilas em posição terminal nos AH<sup>16</sup>. Os sinais em δ<sub>c</sub> 36,5, 44,0, 51,5 e 54,5 podem ser atribuídos a carbonos sp<sup>3</sup> e ligados a nitrogênio de aminoácidos<sup>17</sup> e em δ<sub>c</sub> 57,0 a grupamentos OCH<sub>3</sub><sup>13</sup>. O sinal em δ<sub>c</sub> 70,2 pode também ser correlacionado com átomos de carbono sp<sup>3</sup> nitrogenado de aminoácidos<sup>18</sup>. A presença de átomo de carbono sp<sup>3</sup> ligado a dois átomos de oxigênio (acetal ou cetal) encontrados em carboidratos (e. g.), pode ser sugerido pelo sinal em δ<sub>c</sub> 99,0<sup>12</sup>. O sinal em δ<sub>c</sub> 130 pode ser atribuído a carbonos sp<sup>2</sup> aromáticos pouco substituídos<sup>19</sup>. A região entre δ<sub>c</sub> 160 e 185 registra sinais que podem ser atribuídos a carbonos sp<sup>2</sup> de grupos carboxílicos<sup>20</sup>.

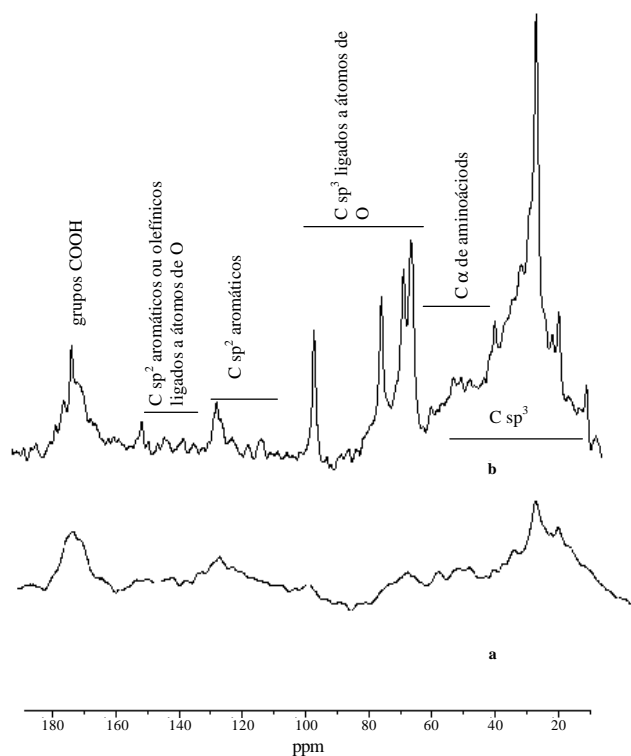


Figura 1. Espectros de RMN <sup>13</sup>C de AH extraídos de resíduo orgânico sólido de origem urbana, sem (a) e com (b) adição de KCl 0,03 mol L<sup>-1</sup> antes da precipitação dos AH em meio ácido.

Os resultados obtidos permitem deduzir que o tratamento prévio da solução de substâncias húmicas com KCl 0,03 mol L<sup>-1</sup> é útil na floculação de minerais de argila que contém ferro, alumínio e manganês, diminuindo o efeito de paramagnetismo com aumento na resolução dos espectros em solução.

## REFERÊNCIAS

1. Kononova, M. M.; *Materia Orgânica del suelo*; Oikos-tau; Barcelona, 1982; p 111.
2. Santos, G. de A.; Camargo, F. A. O.; In: *Fundamentos da Matéria Orgânica*; Santos, G. de A.; Camargo, F. A.O.; Eds.; Genesis; Porto Alegre, 1999; p 27.
3. Conte, P.; Piccolo, A.; *Environ. Sci. & Technol.* **1999**, *33*, 1682.
4. Canellas, L. P.; Sobrinho, N. M.; Santos, G. de A.; In: *Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo*; Santos, G. de A.; Camargo, F. A. O., Eds. Genesis; Porto Alegre, 1999; p 69.
5. Canellas, L. P.; Santos, G. de A.; Sobrinho, N. M. A.; Moraes, A. A.; Rumjanek, V. M.; *Ciência Rural.* **1999**, *29*, 21.
6. Stevenson, J. F.; *Humus chemistry*; Wiley; New York, 1994; p 285.
7. Schnitzer, M.; Schulten, H. -R.; *Soil Sci.* **1997**, *162*, 115.
8. Steelink, C.; Wershaw, R. L.; Thorn, K. A.; Wilson, M. A.; In *Humic Substances II*; Hayes, M. H. B., MacCarty, P.; Malcolm, R.; Swift, R. S.; Eds. Willey; New York, 1989; p 281.
9. Dick, D. P.; Burba, P.; Herzog, H.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1999**, *10*, 140.
10. Dick, D. P.; Burba, P.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1999**, *10*, 146.
11. Calderoni, G.; Schnitzer, M.; *Geochim. Cosmochim. Acta.* **1984**, *48*, 2045.
12. Schnitzer, M.; In *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Biological Properties*; Page, L. A.; Miller, R. H.; Keeney, D. R.; Eds. American Society of Agronomy; Madison, 1982; p 581.
13. Canellas, L. P.; *Tese de Doutorado*, I. A., UFRRJ, Seropédica 1999.
14. Zech, W.; Senesi, N.; Guggenberger, G.; Kaiser, K.; Lehmann, J.; Miano, T.; Miltner, A.; Schroth, G.; *Geoderma.* **1997**, *79*, 117.
15. Preston, C. M.; *Soil Sci.* **1996**, *161*, 144.
16. Gerasimowicz, W. V.; Byler, D. M.; *Soil Sci.* **1985**, *139*, 270.
17. Wilson, M. A.; *NMR techniques and applications in geochemistry and soil chemistry*. Pergamon Press; Oxford, 1987; p 182.
18. Dinél, H.; Schintzer, M.; Schulten, H. -R.; *Soil Sci.* **1998**, *163*, 665.
19. Schnitzer, M.; Preston, C. M.; *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1986**, *50*, 326.
20. Celli, L., Schnitzer, M., Nègre, M.; *Soil Sci.* **1997**, *162*, 189.