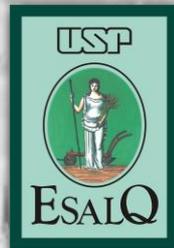


USP



Humic Substances in Soils: Are They Really Chemically Distinct?

Alunas: Fernanda Ometto, Jéssy Senado, Nathália Marchiori.

**Docente: Prof. Dr. Carlos Eduardo Pellegrino Cerri.
Disciplina: Matéria Orgânica do Solo.**

24 de abril de 2020.

Artigo

- Autores: Brian P. Kelleher e Andre J. Simpson.
- Informações gerais.



Figura 1. Logo da Universidade de Toronto, onde a pesquisa foi realizada.

Plano de apresentação

- Introdução; } Nathália
- Material e métodos; } Jéssy
- Resultados e discussão; }
• Conclusões. } Fernanda

- Carbono } 62% (C)orgânico } do solo
50% Substâncias húmicas (SH)
- Como definir então as SH? Compostos poliméricos heterogêneos, resultantes da decomposição de resíduos de animais e vegetais, que fornecem grande quantidade de grupos funcionais em suas estruturas, e que desempenham papéis essenciais na agricultura.
- Qual a importância de se estudar as SH?
- Devido a natureza heterogênea e complexa das SH pouco se sabe sobre sua estrutura química.
- Operacionalmente as SH são fracionadas em função de sua solubilidade a diferentes valores de pH em ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, ácido himatomelânico e humina.

- Métodos espectroscópicos têm sido mais utilizados principalmente por não alterarem a natureza da amostra, além da utilização de pequenas quantidades de amostras.
- Contudo, devido à natureza heterogênea das SH e da complexidade das interações inter e intramolecular os resultados são sempre difíceis de interpretar.

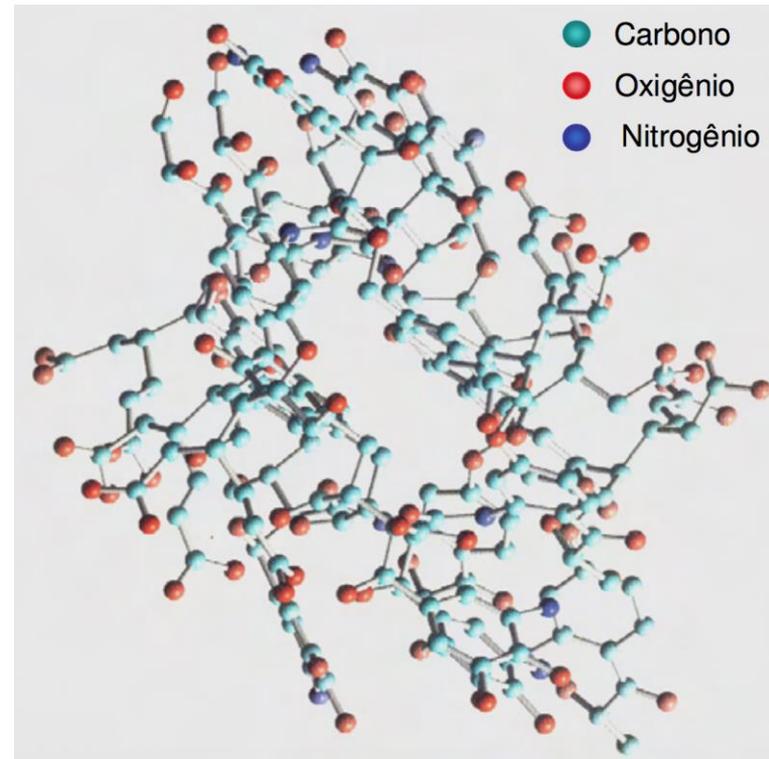
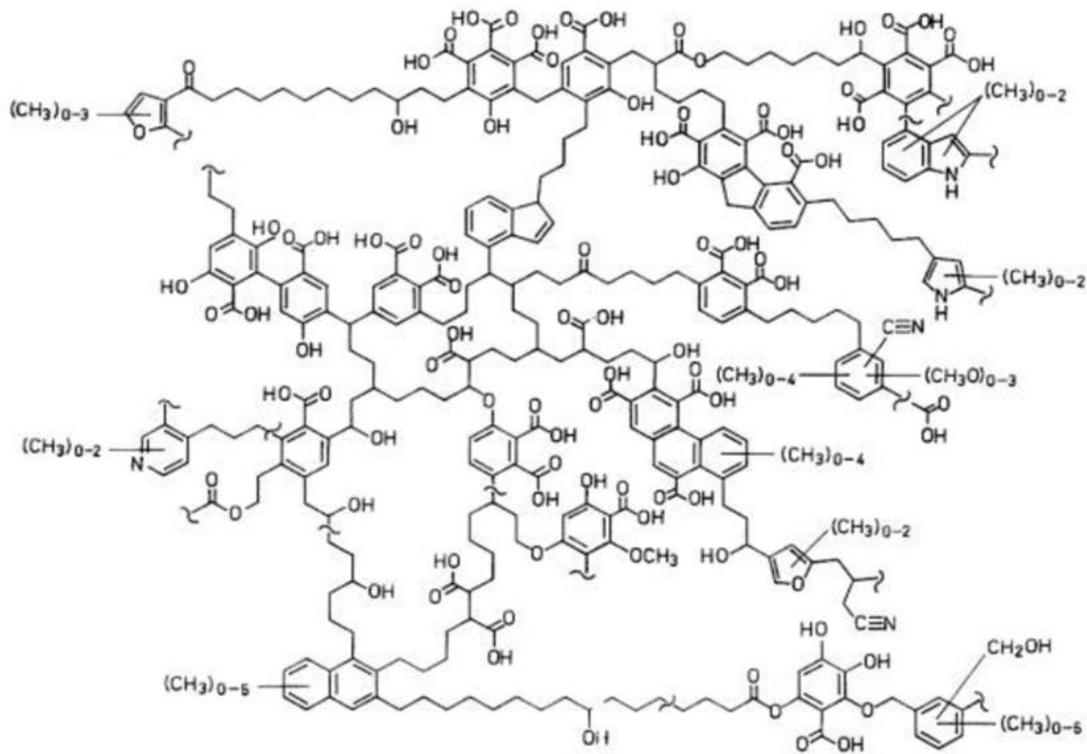


Figura 2. Modelo de estrutura macromolecular da fração ácido húmico proposta por Schulten e Schnitzer (1993) à esquerda, e modelo tridimensional para o ácido húmico proposto por Sein et al. (1999) à direita.

- Algumas características das SH já estão bem definidas:
 - As frações de ácidos fulvicos e ácidos húmicos são misturas heterogêneas de moléculas polidifusas (Stevenson, 1982);
 - Há variação da razão entre ácidos húmicos e ácidos fúlvicos em função do tipo de solo (Rosa et al. 2001);
 - Os ácidos húmicos e fúlvicos apresentam alto teor de grupos funcionais como carboxilas, hidroxilas fenólicas e carbonilas (Stevenson, 1985).
- O objetivo da pesquisa foi correlacionar os padrões detalhados de espectroscopia de ressonância magnética nuclear 2D dos biopolímeros do solo, com aqueles observados em materiais húmicos, para avaliar suas contribuições.

- Biopolímeros utilizados:

- 1 Lignina Kraft
- 2 Proteína (Albumina de soro bovino)
- 3 Amilopectina
- 4 Cutina de tomate

O padrão de turfa HA da Flórida, que representa 70% do SOC total, foi adquirido da *International Humic Substances Society* (IHSS).

1

O solo HS foi isolado do horizonte A da superfície de solos sob Aspen e Grass e representa 52% e 79% do carbono orgânico total do solo, respectivamente.

2

Os extratos de HS foram preparados por extração exaustiva usando NaOH 0,1 M, filtrados através de filtros de Teflon 0,2 μm , trocados de cátions para remover o Na^+ e liofilizados.

3

As amostras foram completamente secas sob vácuo e sobre P_2O_5 , dissolvidas em DMSO- d_6 e transferidas para um tubo RMN de 5 mm para análise.



*

No caso da cutina, que não é completamente solúvel, foi realizada RMN bidimensional de alta resolução com ângulo mágico (HR-MAS) usando DMSO como solvente de intumescimento e uma velocidade de rotação da amostra de 10 kHz.

Material e métodos

- As experiências de RMN foram realizadas em um instrumento Bruker Avance 500 MHz.
- Os espectros de espectroscopia de correlação total (**TOCSY**) foram adquiridos no modo sensível à fase, usando incremento de fase proporcional ao tempo (TPPI), 1024 varreduras e um tempo de mistura de 60 ms.
- Os espectros heteronucleares de coerência quântica única (**HSQC**) foram coletados no modo sensível à fase usando a seleção do gradiente Echo / Antiecho-TPPI, sem aumento da sensibilidade.
- As varreduras (2048) foram coletadas para cada um dos 256 incrementos na dimensão F1.

Material e métodos

- Foram coletados 2K de pontos de dados em F2, e 1J 1H-13C (145 Hz) e um atraso de relaxamento de 2 s foram empregados.
- O TOCSY e o HSQC foram processados usando funções quadradas senoidais com mudanças de fase de 90 ° e um fator de preenchimento zero de 2.
- As previsões espectrais (e gráficos de sobreposição coloridos) foram realizadas usando o Gerenciador de especificações do Advanced Chemistry Development (ACD / Labs) (versão 9.06).
- Parâmetros usados para previsão, incluindo formato de linha, resolução espectral, largura de varredura e frequência base foram escolhidos para corresponder o mais próximo possível aos conjuntos de dados reais.

Resultados e discussão

- As abordagens da ressonância magnética nuclear 2D foram aplicadas para identificar as assinaturas de biomoléculas conhecidas em materiais húmicos.
- Uma vez eliminados os sinais dos biopolímeros e seus produtos de degradação relacionados, os sinais da categoria húmica devem ser facilmente observado.
- Aplicado um experimento de coerência quântica única heteronuclear (HSQC).

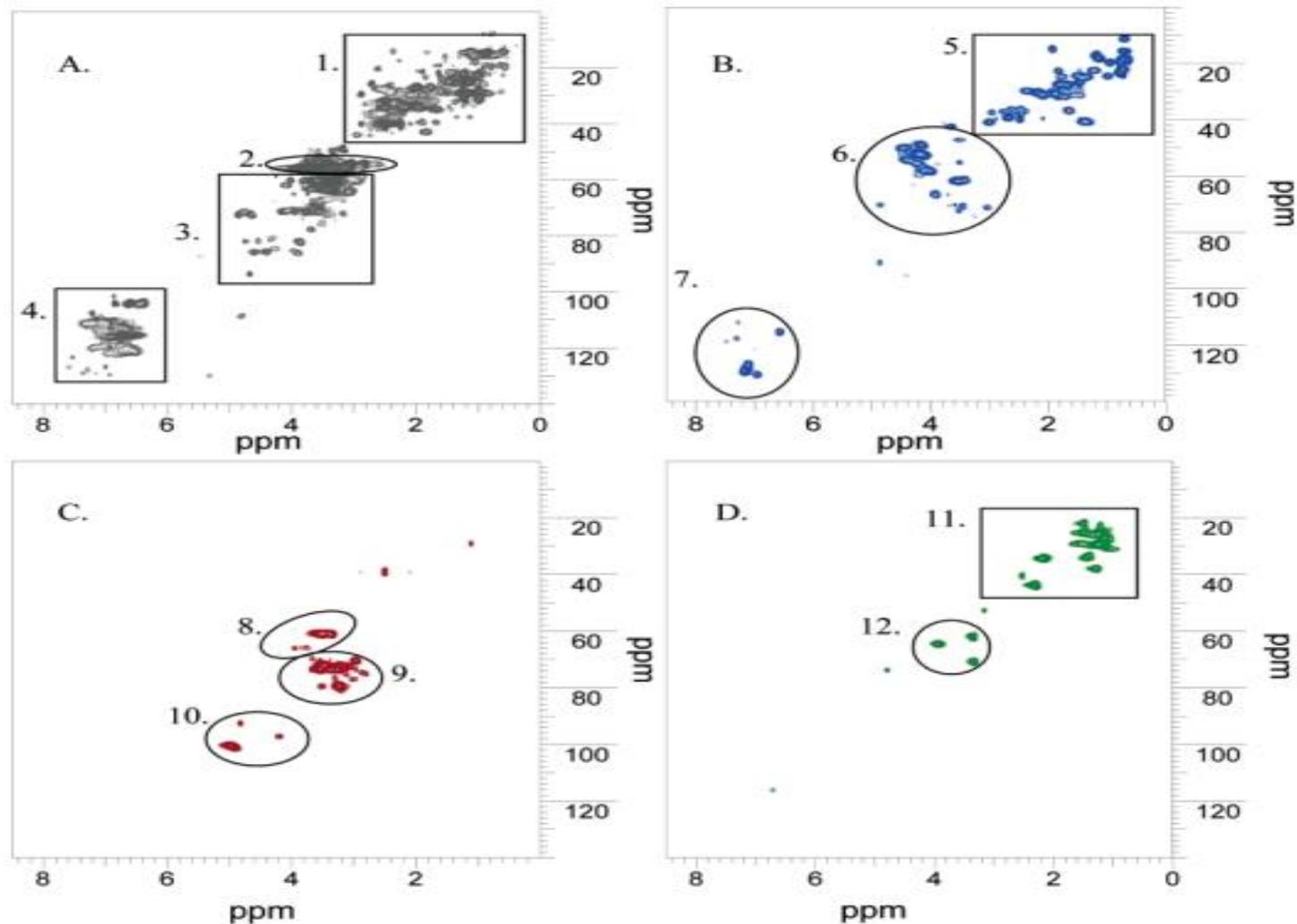


Figura 3. Espectros HSQC de biopolímeros representantes (A) lignina, (B) proteína, (C) carboidrato e (D) biopolímero alifático.

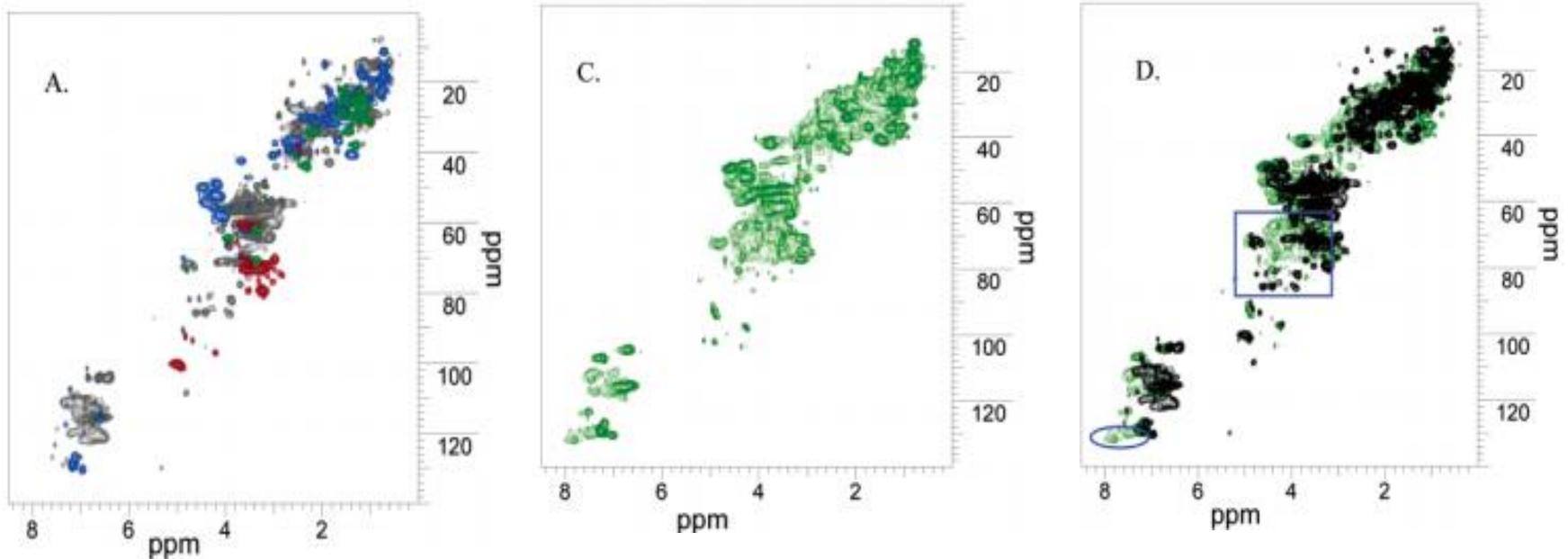


Figura 4. (A) Os biopolímeros representativos sobrepostos, (C) O espectro HSQC de um ácido húmico padrão (HA) e (D) Sobreposição dos espectros.

- Ácido húmico é um componente importante das substâncias húmicas e é considerado uma das frações mais recalcitrantes do solo.
- HA é simplesmente um extrato definido operacionalmente, consistindo nos componentes estruturais mais abundantes encontrados nas plantas e nos microrganismos do solo.

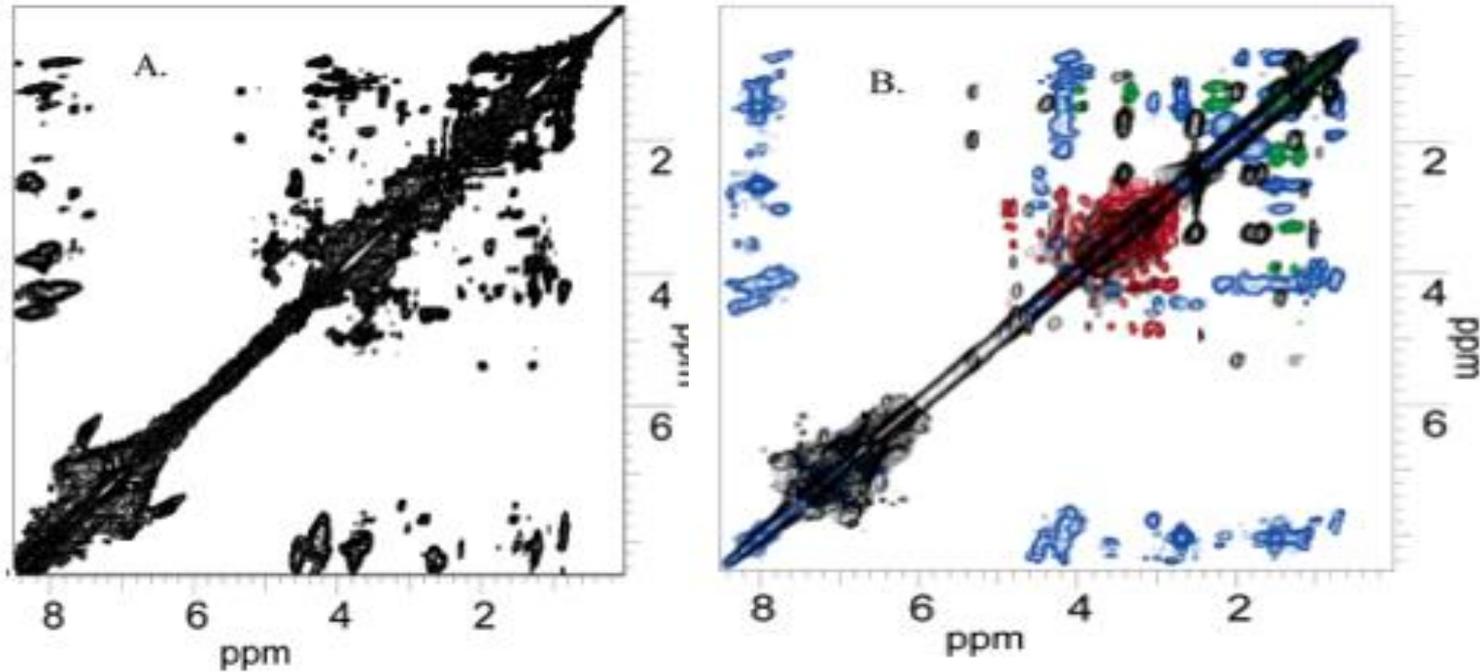
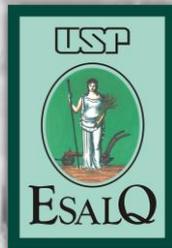


Figura 5. (A) Espectro TOCSY da HA e (B) espectro dos biopolímeros.

- Para apoiar ainda mais a teoria de que o HA é simplesmente uma mistura de plantas e estruturas de origem microbiana, foi aplicada a espectroscopia de correlação total (TOCSY).
- Como o HSQC, o TOCSY produz uma impressão digital molecular de uma molécula ou mistura.

- Apesar da abundância relativa das principais classes bioquímicas diferirem entre os diferentes solos, a maior parte desses extratos de substâncias húmicas ainda pode ser descrita em termos de estruturas derivadas de seus biopolímeros parentais.
- É importante notar que os dados de RMN aqui apresentados apenas contradizem a abundância de um material húmico quimicamente distinto e drasticamente diferente do material microbiano ou vegetal parental nativo em solos frescos.
- Foi mostrado que as substâncias húmicas são, predominantemente, misturas de componentes vegetais e de origem microbiana.
- É importante aumentar a compreensão dos componentes húmicos, já que permitirá que pesquisas mais focadas prevejam, expliquem e entendam as respostas do carbono orgânico do solo às mudanças climáticas e, finalmente, seu feedback ao aquecimento global.

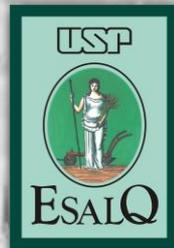
USP



OBRIGADA PELA ATENÇÃO!

"O começo de todas as ciências é o espanto das coisas serem o que são."

USP



DÚVIDAS?



Referência

KELLEHER, B. P.; SIMPSON, A. J. Humic substances in soils: are they really chemically distinct?. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 15, p. 4605-4611, 2006.