

08 a 11 de Outubro de 2018
Instituto Federal Fluminense
Búzios - RJ

ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA PARA CARACTERIZAR FOLHAS DE MUCUNA PLANTADAS EM SOLOS COM ADIÇÃO DE BIOCHAR

Ellen Conceição T. de Matos¹ - ellenestacio38@gmail.com

Vivian Ferreira Pereira² - vivian.pereira@estacio.br

Caroline Cândida Martins³ - caroline.candida@hotmail.com

Pamella de A. Souza⁴ - pamella.as.304@gmail.com

Luciana A. Rodrigues⁵ - lucianaaparecidarodrigues@gmail.com

Roberto T. Faria Jr⁶ - rfaria@uenf.br

^{1,2}-Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e Universidade Estácio de Sá de Campos dos Goytacazes.

^{3,5}-Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências Tecnologias Agropecuárias.

^{4,6}-Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciência e Tecnologia.

Resumo

As técnicas fototérmicas têm se mostrado extremamente adequadas para o estudo de materiais sólidos, líquidos e pastosos, seja do uso espectroscópico ou de caracterização térmica. Estas técnicas, auxiliadas com técnicas complementares avaliaram os solos tratados com o biochar (biocarvão) para simular a Terra Preta de Índio da Amazônia que é conhecida como agente de grande fertilidade em solos e de alta capacidade de retenção de carbono, além de mitigar impactos ambientais. Neste trabalho procurou-se analisar a qualidade nutricional de solos, por meio da técnica de espectroscopia fotoacústica de absorção na faixa do visível para avaliar o comportamento fotossintético das folhas de mucuna germinadas e desenvolvidas em quatro solos diferentes, isto é, solo com adição de biochar, solo com adição de biochar e composto orgânico, solo com adição de composto orgânico e solo sem condicionadores (solo teste). Observou-se que o biochar é um bom condicionador nutricional de solos. O tratamento do solo adicionado com biochar e composto orgânico foi o que apresentou os melhores resultados com um aumento de 30 % da absorção de clorofila A e 40 % de absorção da clorofila B e 37 % do aumento de absorção (reforço) da cutícula que é a cera de proteção presente na superfície das folhas.

Palavras chave: Caracterização de solos, Biochar, Técnicas fototérmicas, Terra Preta, Fotossíntese

1- INTRODUÇÃO

As técnicas Fototérmicas têm se mostrado extremamente adequadas para estudos de materiais sólidos, líquidos, pastosos e gasosos sejam estudos espectroscópicos ou de caracterização térmica. As vantagens são o seu caráter não destrutivo, a não necessidade de preparação especial das amostras, a capacidade de repetições de medida com a mesma amostra, o que caracteriza uma melhor precisão nas medidas e o fato de serem aplicáveis a amostras opticamente muito absorvedoras ou muito transparentes e mesmo muito espalhadoras de luz (Almond e Patel, 1996).

Englobam uma série de técnicas, dentre elas a Espectroscopia Fotoacústica, Lentes Térmicas, Deflexão Fototérmica, Radiometria Fototérmica e, genericamente, os fenômenos que se baseiam na conversão de energia ótica em energia térmica. Essa conversão pode estar associada a algumas particularidades do material absorvente, uma vez que tal efeito é pertinente à excitação dos estados eletrônicos de átomos e/ou moléculas e, por conseguinte, há emissão de ondas eletromagnéticas não radiativas, sob a forma de energia/calor. Esse fenômeno é definido por Efeito Fototérmico (Almond e Patel, 1996).

A técnica Fotoacústica vem se tornando em uma aplicação de grande importância para Agronomia, por não necessitar de grande preparação da amostra e podendo ser utilizada “in vivo” (Pessoa et al. 1987). Isso permite que a integridade dos pigmentos de uma folha, por exemplo, seja relacionada com vários processos, biológicos ou artificiais, como a desidratação, o aquecimento, o congelamento e o envelhecimento de plantas, produzindo informações que certamente terão utilidade nas diferentes áreas de pesquisa que envolve o reino vegetal. O processo da fotossíntese inicia-se com a absorção de energia proveniente da luz. A energia absorvida excita os elétrons das moléculas de clorofila, dando início à fase fotoquímica da fotossíntese. Nesta fase é gerado o oxigênio e o armazenamento de energia, no entanto, nem toda a energia absorvida é armazenada, parte dela se dissipa em forma de calor (De Matos, 2018).

Para o crescimento e desenvolvimento vegetal adequado, os substratos devem apresentar propriedades químicas e físico-hídricas tais que haja uma retenção adequada de água, para que o processo germinativo ocorra na melhor maneira possível e garanta uma alta capacidade de suprir a demanda nutricional da planta (Fernandes e Corá, 2000). Pode-se destacar entre os condicionadores o biochar que está sendo desenvolvido recentemente após a descoberta de carvões na Terra Preta de Índio da Amazônia. A Terra Preta de Índio é um solo conhecido por sua grande fertilidade e sua alta capacidade de retenção de carbono, bem diferente do solo pobre característico da floresta amazônica. Esses solos estão, normalmente, associados a antigas ocupações indígenas, identificadas por fragmentos de cerâmica, osso e outros vestígios por isso, ganharam o nome de ‘Terra Preta de Índio’. Essa terra caracteriza-se por altos teores de elementos químicos importantes para a nutrição das plantas (além do carbono, estão presentes cálcio, nitrogênio, fósforo, manganês e zinco) e por uma atividade biológica maior que a dos solos próximos. O carbono está presente no solo na forma de carvão, gerado provavelmente por meio da queima de materiais orgânicos em condições especiais (com pouco oxigênio disponível). A grande concentração de carbono no solo melhora a absorção de água, facilita a penetração de raízes e torna as plantas mais resistentes. Devido às excelentes características de fertilização das terras pretas, pesquisadores vêm procurando métodos para a produção de materiais pirolizados (biochar ou biocarvão) com características dos carvões da Terra Preta de Índio. O biochar influencia diretamente a resposta do solo à adição de água, assim como sua agregação, aeração, elasticidade e permeabilidade e a sua capacidade de retenção de cátions (Mangrich, Maia e Novotny, 2011).

O biochar é produzido pelo aquecimento de biomassa na ausência de oxigênio ou com baixos teores desse gás – processo conhecido como pirólise. Enquanto a combustão (ou seja, a queima na presença de ar) permite reter, nas cinzas, apenas 2% a 3% do carbono inicialmente contido na biomassa, a pirólise aumenta esse teor para mais de 50%. Na produção de biochar são utilizados resíduos orgânicos sólidos (restos de podas de árvores, lodo de esgoto), resíduos agrícolas (restos de culturas, bagaço e palha de casca de coco), resíduos industriais (da indústria de papel e celulose, por exemplo), ou materiais de origem animal (no caso desse experimento, cama de frango). Além do biochar, são gerados bio-óleo e biogás, combustíveis substitutos do petróleo, em quantidades que dependem da condução do processo (Mangrich, Maia e Novotny, 2011).

A composição do biochar pode ser basicamente dividida em carbono recalcitrante, instável ou lixiviável e cinzas. A maior diferença química entre biochar e outra matéria orgânica é a proporção de cadeias aromáticas de carbono e, especificamente, a ocorrência de estruturas fundidas de carbono aromático, em contraste com outras estruturas aromáticas de matéria orgânica do solo, tais como a lignina (Schmidt e Noack, 2000). Esta estrutura aromática fundida do biochar pode ter formas variadas, incluindo carbono amorfo, que é dominante a temperaturas mais baixas de pirólise, e tuborestrático de carbono, que é formado a temperaturas mais elevadas (Nguyen et al., 2010). Sendo assim, a natureza destas estruturas de carbono é a principal razão para a alta estabilidade do biochar (Nguyen et al., 2010). O biochar pode estimular a atividade microbiana e aumentar sua população (Steiner et al., 2008).

O objetivo deste trabalho foi analisar a qualidade nutricional de solos condicionados com biochar e/ou compostos orgânicos, por meio da espectroscopia fotoacústica de absorção na faixa do espectro eletromagnético do visível aplicada em folhas de mucuna, plantadas nestes solos tratados. Para verificar a qualidade destes solos, foram avaliados o comportamento fotossintético bem como o desenvolvimento da cutícula destas folhas.

2- MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento para a caracterização de solos foi dividido em 3 etapas: a primeira foi a incubação do solo com os devidos tratamentos pelo período de 20 dias; a segunda foi o cultivo de mucuna no solo incubado em vasos de cerca de 2,5 litros por 60 dias; a terceira etapa consistiu na deposição da mucuna cortada sobre o solo dentro do vaso e na avaliação da decomposição da mucuna. Essa planta foi escolhida devido ao seu rápido crescimento, que possibilita a análise do metabolismo do vegetal em 90 dias após o plantio, além de ser um vegetal comumente usado na agricultura antes do plantio da cultura que se pretende produzir, devido a suas capacidades de enriquecimento nutricional do solo, já que auxilia na fixação do nitrogênio no mesmo.

O experimento foi instalado em uma casa de vegetação. Foram coletadas amostras de um solo arenoso cultivado com coco do município de Quissamã – RJ. O solo foi previamente seco ao ar, passado em peneiras de 2 mm e homogeneizado para posterior coleta de sub-amostras representativas para caracterização química e física. O experimento foi conduzido em um delineamento experimental em blocos casualizados utilizando 3 blocos, com 4 tratamentos: 1- solo com biochar; 2- solo com composto orgânico; 3- solo com biochar e composto orgânico; 4- solo sem tratamento (teste).

O delineamento experimental adotado foi em quatro blocos casualizados (DBC), num esquema fatorial 2 x 2 x 2, sendo com e sem compostos orgânicos, com e sem aplicações de biochar e adubação nitrogenada. O nitrogênio foi aplicado com adição de ureia ao solo.

O composto orgânico utilizado foi produzido na fazenda de Quissamã, a partir de resíduos de fibra de coco e esterco bovino. Tal composto foi misturado ao solo e aplicado na dose de 30% em volume.

Amostras de 2,65 dm³ (metade do volume do vaso) de solo foram adicionadas em sacos plásticos onde foram realizadas a aplicação e homogeneização dos tratamentos. Em seguida, cada amostra recebeu adubação fosfatada e potássio em todas as parcelas, mas somente metade da recomendação. O restante foi aplicado na ocasião do desbaste. Essas dosagens foram estabelecidas de acordo com o exposto em experimentos conduzidos em casa de vegetação. As amostras de solo foram umedecidas até atingir 60% do volume total de poros (VTP), e incubados durante 20 dias. Os sacos plásticos foram fechados, vedando-se para evitar perda de umidade, sendo aberto para renovação de ar a cada 48 horas, ficando abertos por 30 minutos.

O solo foi adicionado em vasos com volume de 2,5 litros e, em seguida, foi realizado o plantio de cinco sementes de mucuna preta, sendo realizado o desbaste após emergir, deixando as três plantas mais vigorosas em cada vaso. Após iniciado o crescimento das plantas, as mesmas foram septadas (cerca de 5 cm) e depositadas sobre o solo do vaso.

As mucunas septadas foram depositadas sobre o solo nos vasos e monitoradas por cerca de 90 dias para que ocorresse a deposição. Ao final dos 90 dias, a terceira folha de cada planta (a contagem se inicia a partir da folha mais alta) foi coletada para análise da atividade fotossintética.

Para a análise da atividade da fotossíntese foi utilizada a metodologia de espectroscopia fotoacústica (PAS) conforme visualizado na Fig. 1. Como fonte de luz, foi usada uma lâmpada de xenônio de alta pressão a arco (Oriell Corp, mod. 6269) de 1000 W de potência, cujo feixe foi periodicamente interrompido por um modulador mecânico (Princeton Applied Research, mod. 192). A frequência de modulação usada foi 17 Hz. Um monocromador (Oriell Corp., mod. 77250) de 0,25 m de distância focal com uma rede de difração de 300 linhas/mm (Oriell Corp, modelo 77300) foi usado para a seleção dos comprimentos de onda de interesse. O feixe de luz monocromático incide diretamente na amostra que é inserida na célula fotoacústica (MTEC modelo 300). O sinal do microfone é enviado para o amplificador Lock-in da Stanford modelo SR 830 e os dados coletados pelo computador. O espectro da lâmpada de xenônio é registrado por meio de um carvão padrão e está representado para o intervalo de comprimento de onda de 250 nm à 750 nm. A energia referente a diferentes comprimentos de onda é absorvida pelas substâncias presentes na amostra. A cutícula da planta, a clorofila A e a clorofila B apresentam pico de absorção da energia incidente por volta de 300, 680 e 480 nm de comprimento de onda, respectivamente. Assim, quanto mais elevado for o sinal fotoacústico para um determinado comprimento de onda, maior é a concentração da substância correspondente naquela amostra. Toda medida realizada com as amostras foram normalizadas pelo espectro do carvão.

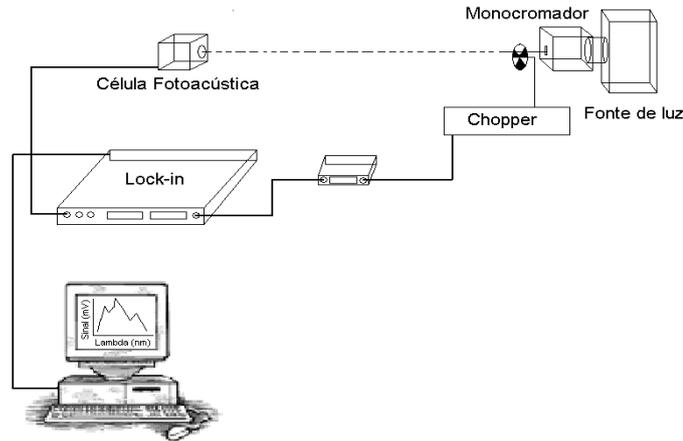


Figura 1 - Esquema do Espectrômetro Fotoacústico

3- RESULTADOS

A Fig. 2 mostra os espectros das folhas de mucuna usando o sistema de espectroscopia fotoacústica de absorção na faixa dominante do comprimento de onda no visível. Os picos de absorção por volta de 300, 480 e 680 nm representam a cutícula de proteção da folha, o pico mais dominante da clorofila B e o pico mais dominante da clorofila A, respectivamente.

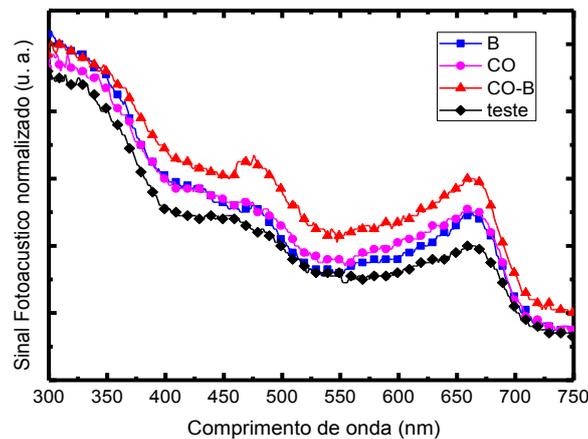


Figura 2 - Espectros de absorção para a luz visível de folhas de mucuna cultivadas em solos com os seguintes tratamentos: composto orgânico e biochar (CO-B); biochar (B); composto orgânico (CO); nenhum tratamento (Teste). Picos de absorção da cutícula (C) em ~ 320 nm, da clorofila (B) em ~ 480 nm e da clorofila (A) em ~ 680 nm.

Para verificar as respostas mais efetivas aos tratamentos foi realizado o método de separação em fase (Cesar, 1983). Por meio deste método, pode-se separar os picos de absorção da cutícula e dos cloroplastos, por meio da Equação:

$$S = S_0 \cdot \cos(\psi) + S_{90} \cdot \sin(\psi) \quad (1)$$

Onde S é o sinal fotoacústico, S_0 é a componente horizontal de S e S_{90} a sua componente vertical (De Matos, 2017). Durante a separação de fase foram encontrados

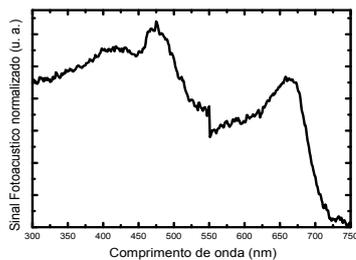
os ângulos responsáveis pela separação das camadas da cutícula e dos cloroplastos que estão descritos na tabela 1.

Por sua vez, a Fig. 3 e a Fig. 4 apresentam os espectros de separação em fase da cutícula e dos cloroplastos, respectivamente. O espectro das folhas de mucuna plantadas no solo com adição de composto orgânico e biochar apresentou os maiores picos de absorção das clorofilas A e B, quando comparado com o espectro da folha de mucuna plantada no solo teste, demonstrando, assim, a eficiência do biochar quando associado ao composto orgânico, provavelmente devido à capacidade que o biochar tem de reter em seus microporos, água e elementos do composto orgânico que causam um maior tempo de atuação dos condicionadores aos solos. Portanto, a fotossíntese foi usada aqui para avaliar indiretamente as condições nutricionais dos solos tratados.

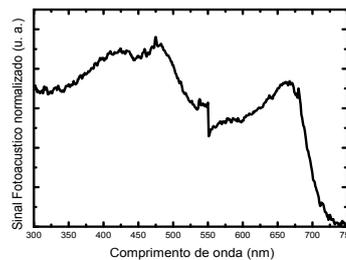
Tabela 1- Ângulos de rotação para separação dos sinais fotoacústicos das camadas cutícula e cloroplastos.

AMOSTRAS	Cutícula(α'')	CLOROPLASTOS (α')
Solo+composto orgânico+biochar	-28°	15°
Solo+composto orgânico	-28°	10°
Solo+biochar	-26°	15°
testemunha	-30°	15°

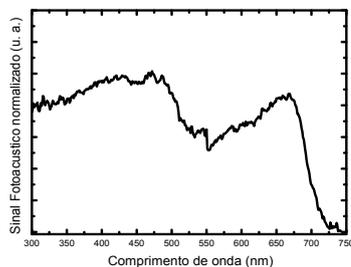
A: Solo + Composto Orgânico + Biochar



B: Solo + Biochar



C: Solo + Composto Orgânico



D: Testemunha

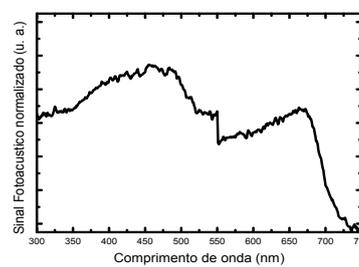
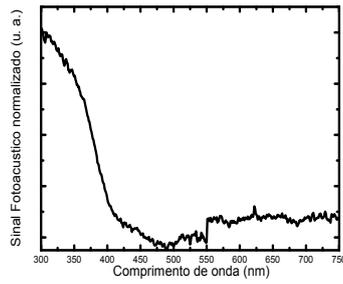
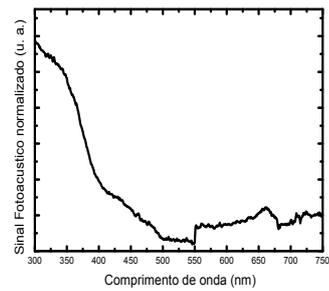


Figura 3 - Espectros de separação em fase dos cloroplastos de absorção para a luz visível de folhas de mucuna cultivadas em solos que receberam o seguinte tratamento: A: solo contendo composto orgânico e biochar (S+CO+B); B: solo adicionado com biochar (S+B); C: solo com composto orgânico (S+CO); D: solo com nenhum tratamento (Testemunha). Picos de absorção da clorofila B em ~ 480nm e da clorofila A em ~ 680nm.

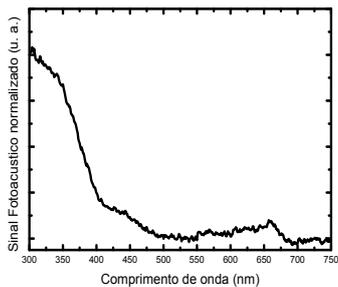
A: Solo + Composto Orgânico + Biochar



B: Solo + Biochar



C: Solo + Composto Orgânico



D: Testemunha

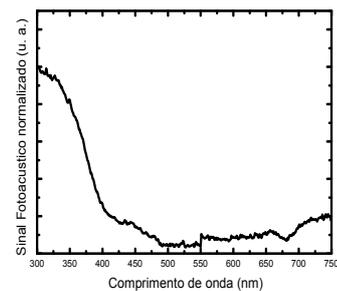


Figura 4 - Espectros de separação em fase da cutícula de absorção para a luz visível de folhas de mucuna cultivadas em solos que receberam o seguinte tratamento: A: solo contendo composto orgânico e biochar (S+CO+B); B: solo adicionado com biochar (S+B); C: solo com composto orgânico (S+CO); D: solo com nenhum tratamento (Teste). Picos de absorção da cutícula em ~ 320nm.

Para melhor visualização dos dados, os gráficos foram reduzidos às médias das repetições e em seguida foram coletados apenas seus picos de absorção na faixa dominante do visível, em função dos comprimentos de onda relativos às clorofilas A e B e à cutícula, apresentados na Fig. 5.

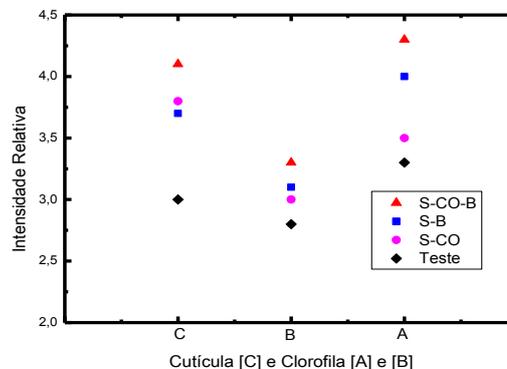


Figura 5- Amplitude Relativa das clorofilas (A e B) e a cutícula para absorção na luz visível de folhas de mucuna cultivadas em solos com os seguintes tratamentos: composto orgânico, biochar (S-CO-B); biochar (S-B); composto orgânico (S-CO); nenhum tratamento (Teste).

Observa-se que os picos são mais altos com a presença do biochar mais a adição do composto orgânico. Quando o biochar e o composto orgânico são inseridos juntos no solo, vê-se um aumento significativo nos picos de clorofila. Na cutícula a sequência de picos foi maior para o tratamento S-CO-B. Isso acontece porque uma cutícula mais densa na camada lipídica apresenta uma maior eficiência na proteção da folha. Na clorofila B e na clorofila A, a sequência foi maior para o tratamento S-CO-B, depois somente com o biochar, a seguir somente com o CO (composto orgânico) e, por último, a testemunha. Os resultados indicam que o biochar e o composto orgânico proporcionaram uma alta atividade fotossintética na mucuna, mas com a aplicação conjunta ao efeito da estabilização do solo.

4- CONCLUSÃO

Ao se usar amostras apenas com composto orgânico, foi possível observar maiores picos na atividade das clorofilas, em comparação às amostras sem tratamento. O mesmo foi notado para as amostras que receberam apenas biochar, sem a presença do composto orgânico. Após a análise em separado da aplicação no solo do composto orgânico e do biochar associados à uréia, constatou-se que o tratamento mais eficaz foi a adição, ao solo nitrogenado, da combinação do biochar com o composto orgânico.

Os picos de fotossíntese indicam um metabolismo intensificado na planta, proporcionado pela melhora da absorção de água, conferida ao solo pelo aumento de sua porosidade devido à presença de biochar, bem como à riqueza de nutrientes do composto orgânico com fixação intensificada, novamente graças à estrutura e composição do biochar.

Sendo assim, o biochar em conjunto com a adubação por compostos orgânicos se mostra um aliado de grande utilidade na agronomia como intensificador das safras. Pela técnica espectroscópica de absorção na faixa do visível, foram obtidos espectros da fotossíntese, bem como da cutícula, de folhas plantadas nestes solos em estudo. O experimento avaliou o comportamento da fotossíntese do solo arenoso plantado com a mucuna.

O uso da técnica fototérmica para a caracterização da qualidade dos solos mostrou-se eficiente, com a grande vantagem de se obter respostas com maior rapidez que às técnicas convencionais sobre as mudanças físicas, químicas e biológicas dos solos em estudo, pois estas necessitam perceber visualmente as mudanças físicas para poder analisar as variações metabólicas de amostras.

5- REFERÊNCIAS

- Almond, D. P.; Patel, P. M. (1996), *Photothermal Science and techniques*. [S.l.]: Chapman & Hall.
- César C.L.; Vargas, H.; Mendes Filho, J.; Miranda, L.C.M. (1983), “Phase Resolved Photoacoustic Microscopy: Application to Ferromagnetic Resonance” *Appl. Phys. Lett.*, 48, 555.
- De Matos, E. C. T. (2017), *Análise de solos tratados com biochar através das caracterizações químicas, físicas e ambientais*. Tese de Doutorado, Uenf, Campos dos Goytacazes.
- De Matos, E. C. T.; Rodrigues, L. A.; Souza, P. A.; Silva, R. V.; Faria Jr., R. T. (2018), *Espectroscopia fotoacústica para analisar a fertilidade de solos tratados com biochar e micorriza*, *Química Nova*, vol. XV, doi: 10.21577/0100-4042.20170270, 2018, in press.
- Fernandes, C.; Corá, J. E. (2000), *Caracterização físico-hídrica de substratos utilizados no cultivo de hortaliças*. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 18, p. 471-473,
- Mangrich, A. S.; Maia, C. M. B. F.; Novotny, E. H. (2011), *Biochar. A Terras Pretas de Índio e o Sequestro de Carbono*. *Ciência Hoje*, Rio de Janeiro, v. 47, p. 48-52.
- Nguyen, B., Lehmann, J., Hockaday, W.C., Joseph, S., Masiello, C.A. (2010), *Temperature sensitivity of black carbon decomposition and oxidation*. *Environmental Science and Technology* 44, 3324-3331.

- Pessoa Jr., O.; Cesar, C. L.; Patel, N. A.; Vargas, H.; Ghizoni, C. C.; Miranda, L. C. M. (1987), *Two-beam photoacoustic phase measurement of the thermal diffusivity of solids*. Journal of Applied Physics, v. 59, n. 4, p. 1316-1318.
- Schmidt, M.W.I., Noack, A.G.. (2000), *Black carbon in soils and sediments: analysis, distribution, implications, and current challenges*. Global Biogeochemical Cycles 14, 777-793.
- Steiner, C., Das, K.C., Garcia, M., Förster, B., Zech, W. (2008), *Charcoal and smoke extract stimulate the soil microbial community in a highly weathered xanthicferralsol*. Pedobiologia-International Journal of Soil Biology 51, 359-366.

FOTOACUSTIC SPECTROSCOPY TO CHARACTERIZE MUCUNA LEAVES PLANTED IN SOILS WITH BIOCHAR ADDICTION

APPENDIX A

Photothermal techniques have been shown to be extremely suitable for the study of solid, liquid and pasty materials, either spectroscopic or thermal characterization. These techniques, aided by complementary techniques, have analyzed soils treated with biochar to simulate the Black Indian Earth of the Amazon, which is known as a high fertility soil with high carbon retention capacity, as well as mitigating environmental impacts. The objective of this work was to analyze the nutritional quality of soils by means of the photoacoustic absorption spectroscopy technique in the visible range to evaluate the photosynthetic behavior of mucuna leaves germinated and developed in four different soils, i.e. soil with biochar addition, soil with addition of biochar and organic compound, soil with addition of organic compound and soil without conditioners (test soil). It has been observed that biochar is a good nutritional conditioner for soils. The treatment of the soil added with biochar and organic compound was the one that presented the best results with a 30 % increase of the absorption of a chlorophyll and 40 % of absorption of the b chlorophyll and 37 % of the increase of absorption (reinforcement) of the cuticle, protection wax present on the surface leaves.

Keywords: *Soil characterization, Biochar, Photothermal techniques, Black earth, Photosynthetic*