

USO DA CROMATOGRAFIA CIRCULAR PLANA EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES PARA ANÁLISE DE SOLO E DE COMPOSTOS ORGÂNICOS

Eduardo Costa Burle¹
Renan Tavares Figueiredo²

Engenharia Química



ISSN IMPRESSO 1980-1777
ISSN ELETRÔNICO 2316-3135

RESUMO

A Cromatografia Circular permite observar detalhes da atividade enzimática específica durante a fermentação e o equilíbrio proteico na formação da matéria orgânica do solo. Entretanto, o uso dessa técnica em solos ricos em matéria orgânica solúveis impossibilita a impregnação do papel filtro. Essa pesquisa objetivou comprovar o uso de duas formas de dissolução da solução extratora como alternativa para esse problema. Foram utilizadas sete amostras de solo e quatro biofertilizantes diferentes durante o trabalho. Para a realização da análise cromatográfica foram feitas três amostras de um mesmo substrato em diferentes proporções: a primeira com 5 g de substrato e sem alterações posteriores foi considerada o controle; outra com 5 g de substrato e 5 mL de solução extratora misturada a 5 mL de soda cáustica antes da segunda impregnação; e por último uma com 2,5 g de substrato sem alterações no decorrer do processo. As duas últimas amostras foram consideradas testes. No final de cada análise, as zonas dos cromatogramas testes foram comparadas com as zonas do controle de um mesmo substrato. Os resultados obtidos mostraram que as duas técnicas de dissolução quando comparadas com o controle não influenciaram no resultado final da técnica de cromatografia, indicando que estas podem ser utilizadas nas análises cromatográficas de

solos húmicos e compostos orgânicos. Conclui-se ao final que os métodos aqui descritos podem ser utilizados como alternativa para a análise cromatográfica de solos ricos em matéria orgânica.

PALAVRAS-CHAVES

Agroecologia, Biofertilizante, Compostagem, Pfeiffer, Sustentabilidade.

ABSTRACT

Circular chromatography allows the observation of enzymatic activity during fermentation and protein balance in soil organic matter formation. However, the use of this technique in soils rich in soluble organic matter precludes the impregnation of filter paper. This study aimed to prove the use of dissolution forms of the extractive solution as an alternative to this problem. Seven soil samples and four biofertilizers were used during the work. To perform the chromatographic analysis three samples of the same substrate were made in different proportions. The first with 5 g of substrate and without subsequent changes was considered the control; another with 5 g of substrate and 5 ml of extractive solution mixed with 5 ml of caustic soda before the second impregnation; and finally one with 2.5 g of substrate without changes in the course of the process. The last two samples were considered the tests. At the end of each analysis, the zones of the test chromatograms were compared to the control zones of the same substrate. The results showed that the two techniques of dissolution when compared to the control did not influence the result of the chromatography technique, indicating that these techniques can be used in the chromatographic analysis of humic soils and organic compounds. It is concluded at the end that the methods described here can be used as an alternative for the chromatographic analysis of soils rich in organic matter.

KEYWORDS

Agroecology. Bio-fertilizer. Composting. Pfeiffer. Sustainability.

1 INTRODUÇÃO

O aumento da demanda por alimentos consequente do crescimento populacional humano e animal adjuntos às bases paradigmáticas da revolução verde, possui um impacto direto no aumento das áreas cultivadas e na intensidade do uso do solo, associado ao emprego de fertilizantes e adubos químicos (ALBERGONI; PARLAEZ, 2007, MANZATTO *et al.*, 2002). Entretanto, a aplicação de insumos químicos são prejudiciais às estruturas físicas, químicas e biológicas do solo com o passar do tempo, tornando esta prática insustentável (FAGUNDES, 2013).

Em contrapartida a este cenário, surgiram tecnologias que objetivavam o uso e o manejo sustentável do solo. Uma dessas novas formas de manejo agrícola que vêm ganhando força é a Agricultura Orgânica (KAMIYAMA, 2009). No Brasil, essa prática é realizada em sua maioria por pequenos agricultores (ORMOND *et al.*, 2002) e possui o crescimento mercadológico anual igual a 50% (CASALI *et al.*, 2001). Segundo Campanhola & Valarine (2001), este tipo de agricultura faz uso de diversos compostos orgânicos para a manutenção das propriedades químicas, físicas e biológicas do solo e, portanto, para aumentar a produtividade e mantê-la estável, faz-se necessária a análise do solo e do biocomposto com regularidade.

A Cromatografia Circular Plana ou Cromatografia de Pfeiffer é uma forma simples, rápida e barata que permite observar detalhes da atividade enzimática específica durante a fermentação e o equilíbrio proteico na formação da matéria orgânica do solo e de compostos orgânicos (DEANO, 2013; PINHEIRO, 2011).

Ainda, segundo Pinheiro (2011), diferente de uma análise de solo comum, que indica a quantidade de nutrientes, pH e porcentagem de matéria orgânica, a cromatografia de Pfeiffer propõe uma identificação da qualidade de vida do solo, por meio da diferenciação de cores e desenhos entre os componentes minerais, orgânicos, energéticos e eletromagnéticos, visualizada em um cromatograma.

Esse tipo de cromatografia viabiliza o diagnóstico e acompanha o tratamento de modo auto-interpretativo do solo (PINHEIRO, 2011). Conforme Santos (2012), este método permite mostrar a qualidade do solo por meio de cores que são atribuídas a matérias essenciais para o desenvolvimento do solo. Pfeiffer (1980) e Pinheiro (2011), descrevem que durante o final da técnica de cromatografia circular plana, são formadas três zonas que indicam diferentes aspectos do substrato utilizado. São estas: a zona central, intermediária e periférica. A primeira corresponde a mensuração da atividade microbiana encontrada no substrato e o seu principal tipo de respiração. A segunda mostra a presença ou ausência de minerais no solo, enquanto que a última detecta o equilíbrio proteico e enzimático do substrato.

Por conta da sua praticidade e eficiência, esta técnica vem ganhando notoriedade e hoje serve como autocertificação camponesa para a comercialização de produtos em algumas cidades dos EUA, Canadá, União Europeia e Japão (TENÓRIO *et al.*, 2011). Porém, apesar do destaque e da gama de potenciais pesquisas que essa técnica pode criar (DEANO, 2013), a divulgação desse método é realizada em sua maior parte por alguns sites estrangeiros e por cursos em pequenas comunidades camponesas e assentamentos de terra, enquanto que publicações em periódicos a respeito desse assunto mal podem ser encontradas no Brasil, sendo este um dos trabalhos pioneiros na divulgação dessa técnica entre a comunidade científica no país.

Por conta da escassez de estudos sobre essa técnica apresenta limitações para uma avaliação detalhada da composição do solo, embora seja possível por meios mais sofisticados como o método de fentogramas (SIQUEIRA, 2016; PINHEIRO, 2011). Mais ainda, considerando que atualmente é crescente o interesse pelo estudo na área da microbiologia do solo quanto as suas funções e importância ao sistema-solo planta, bem como de métodos e parâmetros mais apropriados de avaliação da qualidade

do solo, a cromatografia se apresenta como um importante método a ser redescoberto e que possui um vasto campo a ser explorado, o que requer uma vasta experiência prática e de um conhecimento transdisciplinar (SIQUEIRA, 2016).

E embora sendo esta uma técnica simples, ainda existem algumas dificuldades na sua preparação e na interpretação dos resultados (ADAMS, 2010; PINHEIRO, 2011). Uma dessas dificuldades observadas por Pinheiro (2011) é a impossibilidade da impregnação do papel filtro a partir de substâncias ricas em matérias orgânicas solúveis. Entretanto, o mesmo autor cita superficialmente em sua obra dois procedimentos que visam diminuir a concentração da solução extratora para facilitar a passagem dos componentes do solo durante a impregnação do papel filtro. Considerando este último ponto, o presente trabalho objetivou descrever estas duas formas de dissolução da solução extratora na Cromatografia de Pfeiffer para análises de solos húmicos e compostos orgânicos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As análises cromatográficas ocorreram durante os meses de janeiro a julho de 2015 dentro do Laboratório de Catálise, Energia e Materiais (LCEM), localizado no Instituto de Tecnologia e Pesquisa (ITP) da Universidade Tiradentes (UNIT). Como substrato, foram utilizadas sete amostras de diferentes tipos de solos escolhidos aleatoriamente dentro do espaço da UNIT e quatro biofertilizantes produzidos pelo LCEM. Todas as análises foram repetidas três vezes a fim de se obter resultados mais precisos.

Os cromatogramas foram nomeados conforme diferiram no preparo da solução extratora. Foi considerado controle aquele em que foi utilizado cinco gramas como substrato e que não sofreu nenhuma dissolução posterior durante o preparo da solução extratora; já o cromatograma no qual foi utilizado cinco gramas de substrato e no final do preparo da solução extratora foi dissolvido em cinco mL de NaOH foi nomeado de Teste 1; enquanto que aquele que utilizou-se apenas 2,5 gramas de substrato e não sofreu nenhuma dissolução posterior ao preparo da primeira solução foi nomeado de Teste 2.

Para a execução da técnica da Cromatografia de Pfeiffer, seguiu-se a metodologia descrita por Pinheiro (2011). Para isso, peneirou-se duas amostras de cinco gramas e uma de 2,5 g de um mesmo substrato seco. A solução extratora de todas as amostras consistiu na adição de 50 mL de Soda Cáustica (NaOH) a 1% a cada uma dessas amostras dentro de um recipiente plástico. Após a formação dessa solução, foram feitos seis giros no sentido horário e seis no sentido anti-horário. Este ciclo foi repetido seis vezes, deixando a mistura descansar por 15 minutos, retornando ao mesmo movimento de homogenização da mistura. Logo após, a solução foi deixada livre de perturbação por mais uma hora, onde mais um processo de homogenização foi realizado. Por fim, a solução extratora ficou inerte por mais seis horas.

Já para o preparo da solução reveladora, perfurou-se o centro de um papel filtro em forma circular, no qual foi introduzido um canudo feito com o mesmo tipo de papel. Após isso, foram marcados com uma agulha hipodermica pontos

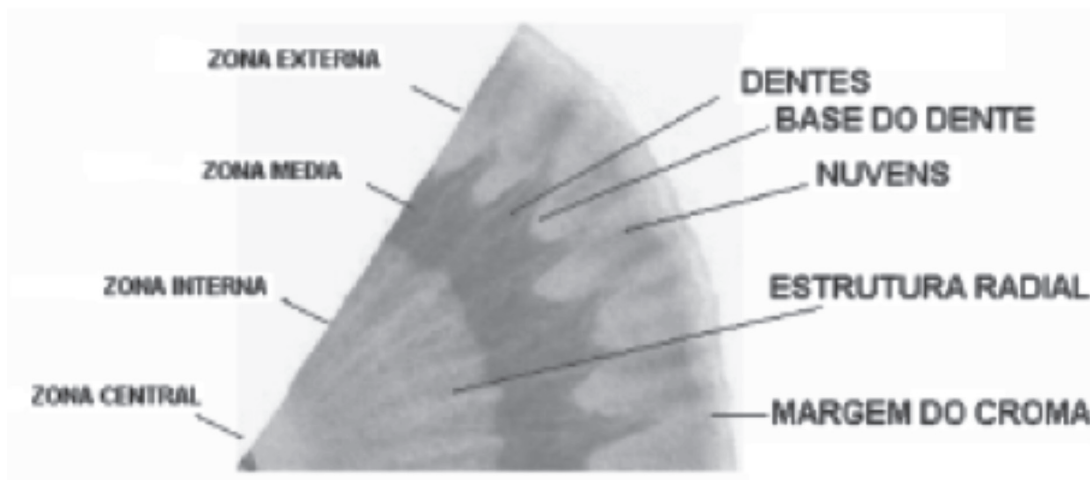
de quatro e seis centímetros de distância do centro do papel filtro. Esse papel foi colocado em uma placa de Petri, contendo cinco mL de Nitrato de Prata (AgNO_3) a 0,5%, deixando apenas que o canudo entrasse em contato com a solução de AgNO_3 . Após o papel filtro ser impregnado até a marca de quatro centímetros, este foi seco na ausência de luz por um período equivalente a seis horas. Todos os cromatogramas foram demarcados com a data de realização da análise, o tipo, a massa e a dissolução do substrato.

Após o final dos dois procedimentos anteriores que duraram seis horas, foi realizada a segunda impregnação do papel filtro, utilizando cinco mL do sobrenadante da solução extratora. Um dos recipientes da solução extratora (TESTE 1), no qual foi utilizado cinco gramas de substrato, teve o sobrenadante diluído a mais cinco mL de NaOH 1%.

As duas amostras restantes de cinco gramas – Controle e Teste 1 – e 2,5 gramas (TESTE 2) de substrato foram utilizadas puras na segunda impregnação do papel. Nessa fase, o líquido da solução extratora percorreu o papel filtro até a marca de seis centímetros, sendo este colocado para secar no escuro por 24 horas. Em seguida, foi revelado indiretamente à luz solar por um período de dez dias.

Para interpretação do material estudado, utilizou-se como guia as obras de Pfeiffer (1980), Pinheiro (2011) e Santos e outros autores (2012). Segundo esses autores, para determinar a qualidade de cada zona, é preciso observar as cores do material depositado ao final da análise em cada uma das três zonas, além da densidade de “rajadas” e dentes que aparecerem em suas respectivas regiões (FIGURA 1). Para a confirmação dos resultados, verificou-se se existiram diferenças em cada uma das três zonas do cromatograma controle com ambos os testes.

Figura 1 – Detalhes do cromatograma circular plano



Fonte: Pinheiro (2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível constatar, comparando os cromatogramas testes com os controles de todas as onze análises, pouca ou nenhuma alteração quanto à análise das características representadas no final do processo da Cromatografia de Pfeiffer.

Nota-se que, analisando a zona central dos cromatogramas da Figura 2A, este representa um solo extremamente pobre em material orgânico e com atividade microbiológica quase ausente. Estas características influenciaram diretamente na quantidade de proteínas presentes no solo, resultando no baixo equilíbrio proteico observado na zona periférica do cromatograma, assim como observado por Pfeiffer (1980) e Santos e outros autores. (2012).

Ao comparar as duas zonas extremas do cromatograma controle com os dois cromatogramas testes não foi possível observar diferenças quanto à cor predominante das zonas ou tamanho e densidade das nuvens do material. Isto indica que a utilização da solução extratora, em determinadas concentrações, para análise de solos pobres em matéria orgânica não acarretam diferenças significantes nos resultados finais da técnica de cromatografia circular plana.

A Figura 2B representa os cromatogramas em diferentes concentrações de um composto orgânico, no qual foi observado a intensa atividade microbiológica com respiração predominantemente aeróbia. Provavelmente isso resultou na grande quantidade de enzimas e no alto equilíbrio proteico, também observado nos estudos feitos por Pinheiro (2011). Nesta análise, as zonas dos cromatogramas testes também possuíam características iguais ao controle, ressaltando que o uso de diferentes concentrações na extração dos componentes do substrato em compostos orgânicos não interfere na passagem das proteínas pelas camadas do cromatograma impregnadas com o nitrato de prata, formando a camada externa no final do processo.

Os cromatogramas de outro tipo de solo representado pela Figura 2C possuiu a zona intermediária bastante desenvolvida, sendo assim, um solo rico em minerais. Comparando essa zona do material controle com as dos testes, observa-se também que são extremamente semelhantes. Isso também pode ser observado nas outras duas áreas extremas.

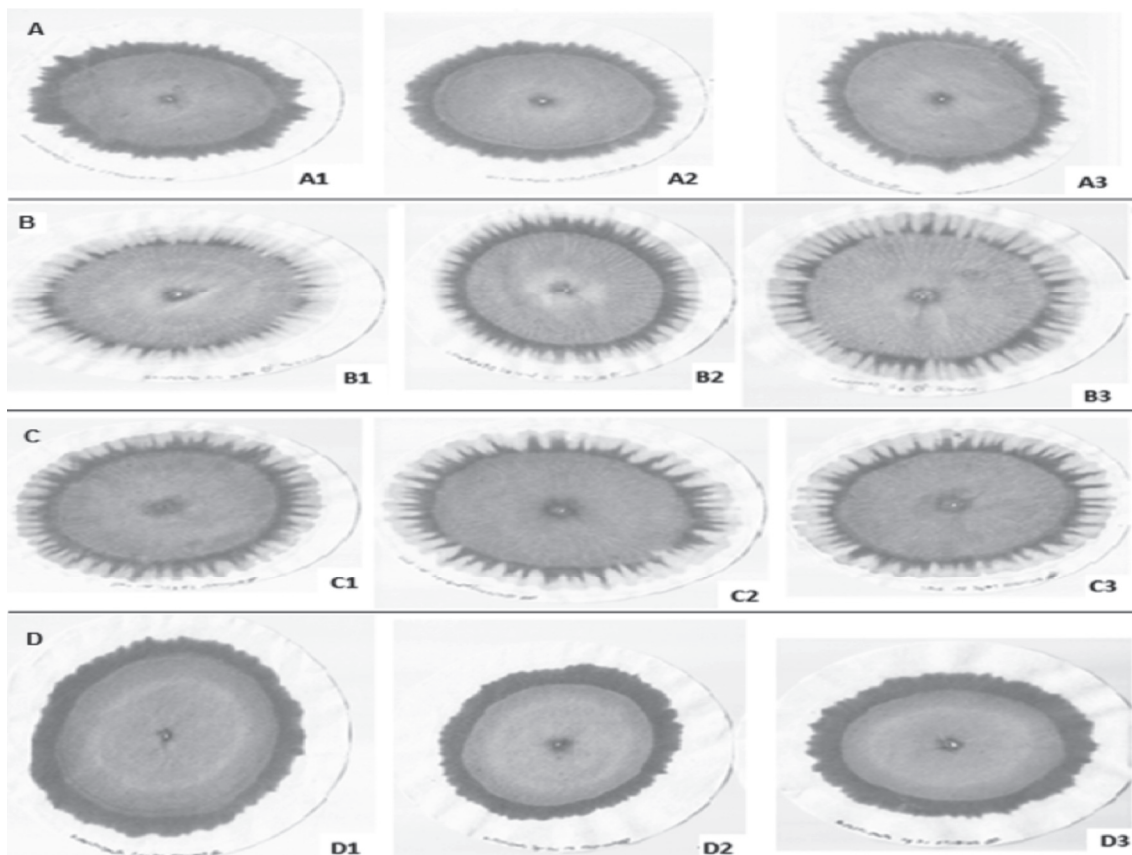
Segundo Pinheiro (2011), o NaOH reage especificamente com minerais metabolizados pelos microrganismos, sendo que sua composição e o grau de oxidação-redução determinam a forma, cor, desenvolvimento, integração e distância desde a zona central à periférica. Por conta disso esta zona está diretamente relacionada com a formação da primeira zona. Os testes quando comparados ao controle, apontam que a maior diluição do substrato em soda cáustica não afeta a sua reação com os minerais resultantes das atividades microbiológicas que formarão posteriormente a segunda zona do cromatograma.

Já em biofertilizantes líquidos (FIGURA 2D), as três zonas dos cromatogramas também foram iguais. Mostrando que a dissolução da solução extratora ou o uso de menor quantidade de substrato não possuem influências na formação de nenhuma zona de qualidade do cromatograma de biofertilizantes líquidos. As análises cromatográficas

tográficas de biofertilizantes líquidos foram realizadas apenas de forma experimental por Pinheiro (2011), dificultando a sua interpretação.

Por conta deste trabalho ser o primeiro de natureza científica no Brasil que objetivou alterar partes dos métodos realizados para esse tipo de cromatografia, os resultados obtidos demonstraram que essa técnica ainda tem muito a ser aperfeiçoada. Portanto, mais estudos são necessários para a melhor compreensão da cromatografia de Pfeiffer.

Figura 2 – Cromatogramas realizados no trabalho. A1, A2, A3. Amostra de solo (Controle, Teste 1 e Teste 2, respectivamente). B1, B2, B3. Amostra de composto orgânico (Controle, Teste 1 e Teste 2, respectivamente). C1, C2, C3. Amostra de solo (Controle, Teste 1 e Teste 2, respectivamente). D1, D2, D3. Amostra de biofertilizante líquido (Controle, Teste 1 e Teste 2, respectivamente)



Fonte: Próprios autores

4 CONCLUSÕES

Conclui-se, com este trabalho, que os dois métodos de dissolução da solução extratora que possuem como finalidade a análise de substratos ricos em húmus e ma-

téria orgânica podem ser utilizados sem acarretar modificações no final do processo da Cromatografia Circular Plana independente do estado físico do substrato ou de sua composição bioquímicos.

Também, pode-se inferir que como a formação da zona intermediária e externa estão completamente relacionadas com a formação da zona central e com a atividade microbiológica presente no substrato analisado, qualquer adequação a técnica da Cromatografia Circular Plana que possa afetar a disposição da zona central no final do método interferirá na formação das áreas subsequentes.

A técnica de Cromatografia de Pefeiffer mostra-se uma técnica de baixo custo e de fácil acesso aos pequenos agricultores rurais, podendo ser considerada uma prática simples para monitoramento cotidiano do solo e de compostos orgânicos. Entretanto, essa técnica ainda precisa ser mais explorada por parte dos pesquisadores atuantes no Brasil para que possa ser gerado um melhor entendimento e divulgação. Tendo em vista que esse estudo possuiu caráter pioneiro, os resultados encontrados nesse trabalho mostram o quanto essa técnica ainda pode ser explorada.

REFERÊNCIAS

ADAMS, M. **Chromatography** – A window on nature. Disponível em: http://greenspirit.org.uk/resourcepack/?page_id=731. Acesso em: 20/ dez. 2015.

ALBERGONI, L.; PARLAEZ, V. Da revolução verde à agrobiotecnologia: ruptura ou continuidade de paradigmas? **Revista de Economia**, v. 33, n. 1, p. 2-17, 2007.

CASALI, V.W.D.; SANTOS, R.H.S.; SILVA, F.; CONDE, A.R. Efeito residual da adubação com composto orgânico sobre o crescimento e produção de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n. 36, v. 11, p. 1395-1398, 2001.

CAMPANHOLA, C. & VALARINE, P.J. A agricultura orgânica e o seu potencial para o pequeno agricultor. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília-DF, n. 18, v.3, p. 69-101, 2001.

DEANO, M. Chromatography, Soil fertility, and Biodynamic Agriculture. Disponível em: <http://sustainablemallholding.org/chromatography-soil-fertility-biodynamic-agriculture>. Acesso em: 5 abr. 2016.

FAGUNDES, A. V. W. Cromatografia como indicador da saúde do solo. Congresso Brasileiro de Agroecologia, 8. **Anais [...]**, Porto Alegre-RS. VIII CBA, v. 8, n. 2, p. 4, 2013.

KAMIYAMA, A. **Agricultura orgânica e qualidade do solo**. 2000. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2009.

MANZATTO, C. V.; JUNIOR, E. F.; PERES, J. R. R. **Uso agrícola dos solos brasileiros**. Copyright © 2002, Embrapa, 2002. 174p.

ORMOND, J.G.P.; PAULA, S.R.L.; FILHO, P.F.; ROCHA, L. T. M. **Agricultura orgânica: quando o passado é futuro**. BNDES Setorial, 2002. 34p.

PFEIFFER, E. Chromatography Applied to Quality Testing: The Art and Science of Composting. **Bio-Dynamic Literature**, 1980. 44p.

PINHEIRO, S. Cartilha da saúde do solo (Cromatografia de Pfeiffer). Rio Grande do Sul, Salles Editora, 2011. 121p.

SANTOS, D.J.; SANTOS, M.S.; JUNIOR, G.B. 2012. Análise cromatográfica dos solos de duas unidades agrofloretais na Bacia do Pajeú-PE. Seminário Piauiense de Agroecologia, 2. **Anais [...]**, Esperantina, II UEPI, 2012. v. 1. p. 1-1.

SIQUEIRA, J.B.; MARQUES, G.S; FRANCO, F. S. **Construção de conhecimento agroecológico através da experimentação da cromatografia de Pfeiffer, uma análise qualitativa dos solos**. Agroecol - Dourados-MS, 2016.

TENORIO, L.L.; BENATTO, L.; SANTOS, L.L.C.; COSTA, N. D. F.; COSTA, T.D.; ROCHA, C.T. **Cromatografia de Pfeiffer – a autotocertificação camponesa**. In: VII Congresso Brasileiro de Agroecologia, 2011, Fortaleza, VII CBA, 2011, v.1, No. 11521. p.4.

Data do recebimento: 21 de julho de 2016

Data da avaliação: 9 de novembro de 2016

Data de aceite: 12 de dezembro de 2017

1 Graduando em Engenharia Química – UNIT. E-mail: burle.eduardo@gmail.com

2 Professor doutor da Universidade Tiradentes – UNIT. E-mail: renantf@infonet.com.br

