
**COMPOSTOS HETEROCÍCLICOS NITROGENADOS EM
ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDO DE COMPOSTO DE
RESÍDUO SÓLIDO URBANO**

LUCIANO PASQUALOTO CANELLAS

PhD, Eng. Agrônomo, DS-IA-UFRRJ

GABRIEL DE ARAÚJO SANTOS

PhD, Prof. Titular, DS-IA-UFRRJ

FERNANDO GURIDI

Msc., Professor, Fac. de Agr. Havana

VICTOR MARCUS RUMJANEK

PhD, Prof. Adjunto, DQ-ICE-UFRRJ

RONALD BASTOS FREIRE

PhD, Prof. Adjunto, DMI-IV-UFRRJ

RESUMO

Ácidos húmicos extraídos de composto de resíduos sólidos urbanos (AH-CRSU) foram analisado através de técnicas termodegradativas. Os produtos voláteis nitrogenados resultantes da pirólise dos ácidos húmicos foram separados por cromatografia gasosa e identificados por espectrometria de massas. Foram encontrados pirróis, derivados do imidazol, piridinas, benzoxazol, escatol e quinolinas. Estes compostos heterocíclicos nitrogenados fazem parte de uma fração do N-orgânico humificado hidrolizável conhecido como não identificável e representam uma reserva importante de nitrogênio para nutrição de plantas e microrganismos.

Palavras-chaves: N – orgânico, Espectrometria de massas, Pirólise, matéria orgânica, substâncias húmicas.

SUMMARY

**HETEROCICLIC NITROGEN COMPOUNDS IN HUMIC
ACIDS EXTRACTED FROM MUNICIPAL SOLID
COMPOSED WASTE**

Humic acids were extracted from composed material, constituted solid urban residues, and analyzed through methods of thermal degradation. After pyrolysis volatile products contend nitrogen were separated by gas chromatography and analyzed by mass spectrometry in order to identify the main N-heterocyclic compounds. There were found mainly pirrois, imidazol derivatives, pyridines, benzoxazol, scatol and quinolines. These nitrogen bearing compounds represent the humified organic N fraction which is not easily mineralized. The role of such

humified matter, as an important reserve of nitrogen for nutrition of plants and microorganisms, was also discussed.

Key Words: organic nitrogen, mass spectrometry, pirolisys, organic matter, humic substances.

INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) é essencial às plantas e requerido em grandes quantidades. Como não faz parte do material de origem do solo, o conteúdo de N mineral encontrado em solução é produto, ou da adição de fertilizantes, ou da transformação do N orgânico em formas inorgânicas através do fenômeno descrito como mineralização da matéria orgânica.

A maior parte do N do solo é orgânico e a avaliação do potencial de mineralização da matéria orgânica assume importante aspecto na disponibilidade de nitrogênio às plantas. CAMARGO *et al.* (1997) observaram, em dez solos do Rio Grande do Sul, a mineralização média de 8,3% do N total com variação de 6,0 a 14,4 % em função, principalmente, do teor de argila dos solos e pH da solução. A maioria do N orgânico foi mineralizado até a 8ª semana de incubação. Após esse período, o processo de mineralização foi estabilizado seguindo cinética de ordem zero, com diminuição do nitrogênio mineralizado em função do tempo. É possível identificar que o N presente na fração orgânica mais lábil é mineralizado primeiro, permanecendo no solo as formas mais recalcitrantes.

O N orgânico dos solos é composto por várias frações nitrogenadas. Segundo STEVENSON (1994), 30 a 45 % do N orgânico são aminoácidos, entre 5 e 10 % são açúcares aaminados (hexosaminas), 20 a 35 % são formas nitrogenadas não hidrolisáveis com HCl 6,0 mol L⁻¹. Uma parte considerável do N orgânico, entre 10 a 20 %, é composta por uma fração hidrolisável porém, não identificada.

CERETTA (1995) estudando várias sucessões e coberturas vegetais sob plantio direto, observou que o tipo de vegetação e a quantidade dos resíduos afetam somente a quantidade de N orgânico mas não a participação percentual de cada forma nitrogenada orgânica sobre o N total. Observou também, incorporação de N nos ácidos húmicos do solo principalmente nas coberturas vegetais formadas por leguminosas. Em estudo anterior JACQUIN & VONG (1989), observaram com isótopo marcado de nitrogênio (¹⁵N), que cerca de 30% do N mineral adicionado ao solo é incorporado às frações humificadas, podendo contribuir para a manutenção desse nutriente no solo a longo prazo. A incorporação de N no húmus do solo pode ser responsável pelo aumento nas quantidades de N hidrolisável não identificado quando da adição de matéria orgânica.

Sincronizar a liberação do N através da decomposição da matéria orgânica com a necessidade do nutriente pelas plantas é uma estratégia econômica importante para a racionalização do uso dos recursos naturais. A harmonia entre a decomposição da matéria orgânica e absorção de nutrientes depende do estágio de desenvolvimento da planta e da taxa de mineralização que, por sua vez, depende tanto do conhecimento das condições do ambiente (principalmente clima) como das formas orgânicas presentes na matéria orgânica.

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de identificar os principais compostos nitrogenados integrantes do sistema estrutural de ácidos húmicos extraídos de composto de resíduos sólidos urbanos

através de técnicas termodegradativas (pirólise acoplada à cromatografia gasosa / espectrometria de massas: P – CG/EM).

MATERIAL E MÉTODOS

Os ácidos húmicos foram extraídos do composto de resíduos sólidos urbanos produzido pela Companhia de Limpeza Urbana do Município do Rio de Janeiro (Comlurb)

Os ácidos húmicos foram obtidos por extração com NaOH 0,5 mol L⁻¹, na razão solvente: resíduo orgânico de 1:10 (v:v) em atmosfera inerte de N₂. A separação dos AH foi realizada com o abaixamento do pH da solução até 1,0 com HCl 6 mol L⁻¹. A redissolução e precipitação foi repetida três vezes. Em seguida, adicionou-se 200 mL de solução aquosa diluída de HF e HCl (preparada com 5 mL de HCl concentrado e 5 mL de HF concentrado e volume de solução completado para 1 L com água deionizada) e agitou-se a amostra por 8 horas. Os AH foram lavados com água até teste negativo com AgNO₃ e secos por liofilização. A composição elementar dos ácidos húmicos foi determinada através de um analisador elementar da Perkin Elmer – 2400 em três repetições.

A análise termodegradativa das unidades estruturais nitrogenadas foi realizada através da pirólise acoplada à cromatografia gasosa / espectrometria de massas (P-CG/EM). Foram usadas amostras de 1 mg, colocadas em cubeta de quartzo e pirolisadas a 600° C por 5 s, com piroprobo CDS 100 (Chemical Data Systems, Oxford) equipado com filamento de platina. O pirolisador foi acoplado por uma interface a 150° C, a um cromatógrafo a gás HP 5890 série II (Hewlett Packard, Oackland, CA). Os produtos da pirólise foram separados em coluna de sílica fundida da Supelco – SPB – 5 (30 m x 0,25 mm de diâmetro interno), usando injeção dividida (split 1/120) com temperatura de 220°C e taxa de aquecimento da coluna de 50°C a 300°C a 5°C min⁻¹. Os produtos da pirólise foram analisados por um detector quadrupolar Hewlett Packard 5970 B, com temperatura de interface de 220° C, temperatura da fonte de íons a 250° C, energia de ionização a 70 eV e gravação dos espectros de massa na faixa de m/z 40 até m/z 600. A identificação dos compostos foi realizada através de busca eletrônica na biblioteca (Nist) disponível na aparelhagem computadorizada. A busca foi conduzida submetendo a comparação do espectro de massa obtido com os existentes na biblioteca com 80 % de

Tabela 1. Análise do teor de ácidos húmicos, da composição elementar e das relações atômicas molares em ácidos húmicos extraídos de composto de resíduo domiciliar urbano (AH-CRSU).

COMPOSIÇÃO	AH-CRSU
g AH / kg de composto	5,2
C (%)	50,7 ± 0,4
H (%)	6,2 ± 0,01
N (%)	6,0 ± 0,01
O (%)	37,1 ± 1,02
H/C	1,46
O/C	0,54
N/C	0,10

semelhança na relação massa / carga dos fragmentos (m/z) e na intensidade dos fragmentos. Após a identificação o composto foi submetido a análise de fragmentação para confirmação da identificação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição elementar dos ácidos húmicos estudados é mostrada na Tabela 1.

A composição elementar revela informações sobre a distribuição dos átomos presentes nos AH e é uma propriedade bastante estável, pouco sujeita a variações. Verifica-se nos AH-CRSU um conteúdo relativamente baixo de C e elevado de N, o que confere uma relação C/N característica de compostos orgânicos biologicamente estáveis. De acordo com KUWATSUKA, *et al.* (1978), a composição elementar é um reflexo das condições de formação dos AH e o enriquecimento relativo de N indica o primeiro passo do processo de

humificação dos resíduos orgânicos. A relação molar atômica H/C é uma medida indireta das características estruturais das substâncias humificadas. Quanto menor o valor da relação mais acentuado é o caráter aromático das substâncias húmicas como consequência das reações de condensação. Para os AH os valores dessa relação variam de 1,5 a 0,5 (ORLOV, 1974). O valor encontrado para AH-CRSU indica caráter pouco aromático das estruturas orgânicas presentes que aliado ao baixo conteúdo de carbono fazem crer que o elevado conteúdo de N nos AH-CRSU são decorrentes mais do conteúdo elevado de N na matéria prima do composto (MAZUR, 1997) do que resultante do processo de humificação em si.

Os principais compostos heterocíclicos nitrogenados encontrados nos AH-CRSU através da pirólise acoplada à cromatografia gasosa e identificados por espectrometria de massas são mostrados na Tabela 2 e as respectivas estruturas são apresentadas na Figura 1.

Tabela 2. Análise por pirólise – cromatografia gasosa / espectrometria de massas (P-CG/EM) dos compostos heterocíclicos nitrogenados presentes nos ácidos húmicos extraídos de composto de resíduo urbano (AH-CRSU).

TR ⁽¹⁾ m in	m/z ⁽²⁾	atribuição
5,87	97, 84, 54, 26	derivado do imidazol
11,21	95, 60, 39, 27	Dimetilpirrol
11,42	133, 94, 66, 39	Tetraidroquinolina
11,52	133, 97, 54, 26	2-metilbenzoxazol
12,37	95, 94, 66, 39, 28	pirrol 2-carboxialdeído
12,57	107, 77, 67, 27	dimetilpiridina
16,02	133, 99, 56, 28	Escatol

(1) TR: tempo de retenção do composto obtido pela pirólise dos ácidos húmicos na coluna cromatográfica;

(2) m/z : razão massa/carga dos principais fragmentos obtidos com a espectrometria de massa

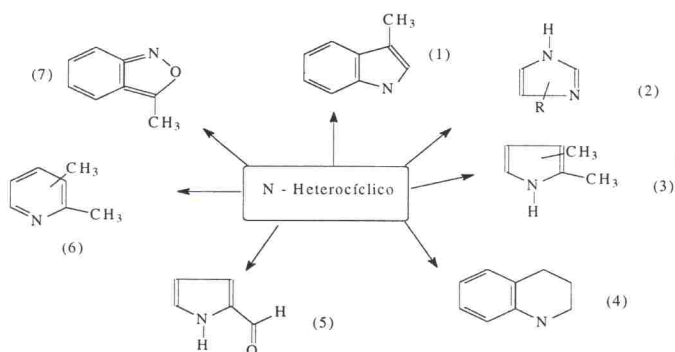


Figura 1. Principais estruturas dos compostos heterocfclicos nitrogenados encontrados em cidos hfmicos extrafidos de composto de resfduo s3lido urbano. (1)- escatol; (2)- derivados do imidazol; (3)- dimetilpirrol; (4)- tetraidroquinolina; (5)- pirrol 2-carboxialdeido; (6)-dimetilpiridina; (7)- 2-metilbenzoxazol.

Todos os compostos heterocfclicos nitrogenados encontrados s3o naturais e derivados do metabolismo secund3rio de plantas ou sintetizados por microrganismos. O escatol 3 um alcal3ide derivado do triptofano, respons3vel pelo odor caracterfstico de esterco. A tetraidroquinolina 3 derivada do 3cido antranflico pela incorpora33o de malonil ou acetilcoenzima – A seguida de hidrogena33o

das liga333es duplas. A dimetilpiridina (n3o 3 possfvel identificar o padr3o de substitui333o) 3 produto da condensaa33o do glicerol com 3cido asp3rtico seguido de rea333o de descarboxila333o e alquila333o. (GEISSMAN & CROUT, 1969). Os pirr3is (compostos 3 e 5) s3o provenientes da ornitina, ap3s cicliza333o e oxida333o da cadeia lateral. A forma333o do pirrol 2-carboxialdeido requer ainda a alquila333o

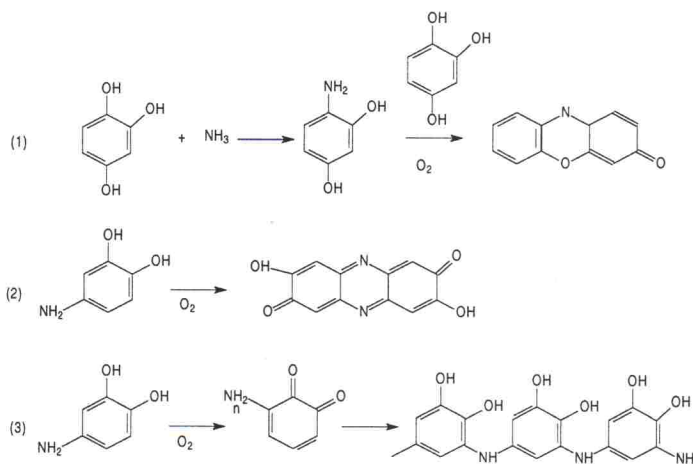


Figura 2. Forma333o de compostos heterocfclicos nitrogenados em subst3ncias hfmicas de acordo com Schnitzer (1981). 1 – um mole de 4-aminocatecol reage com outro mole do mesmo composto para formar um derivado da fenazina; 2 e 3- condensaa333o em condi3333es oxidativas de 3-aminocatecol para forma3333o de polfmeros.

do anel pirrólico formado por ação do NADP. O 2-metilbenzoxazol é gerado, provavelmente, a partir do ácido antranílico que é oxidado (formando um óxido nitrogenado) e ciclizado. A obtenção de derivados imidazólicos ocorre pela policondensação do ácido cianídrico (TORSSELL, 1983).

A incorporação de compostos heterocíclicos nitrogenados na estrutura de ácidos húmicos vem sendo postulada como uma consequência de reações de condensação, como as preconizadas por Schnitzer (1981) e mostradas na Figura 2.

Ainda conforme SCHNITZER (1981), estes compostos são responsáveis em sua maioria pela fração hidrolizável de N chamada de não determinada ou não identificada. Já para STEVENSON (1994) a incorporação de N nas substâncias húmicas, seja em ácidos húmicos como em ácidos fúlvicos ocorre através de cinco formas: como grupo amino livre, como grupo -NH-, =N- em cadeias abertas, como parte de anéis heterocíclicos, unindo radicais livres do tipo quinonas e como aminoácidos ligados a formas aromáticas de modo que não seja liberado durante o ataque ácido da hidrólise. Com efeito, em trabalho anterior, CANELLAS *et al.* (1999), usando a técnica de RMN ¹³C em amostras de ácidos húmicos extraídos de composto de resíduos sólidos urbanos encontraram sinal intenso e bem definido em c 70, correspondente a presença de N na forma de poliaminoácidos na estrutura dos AH e absorção intensa na região de compostos aromáticos e heterocíclicos.

A observação da presença de estruturas de compostos heterocíclicos nitrogenados oriundos do metabolismo secundário de plantas nos ácidos húmicos, indica que além da provável via de condensação de compostos nitrogenados com radicais livres em meio oxidativo ocorre uma preservação das estruturas orgânicas no

interior da rede estrutural dos ácidos húmicos. Analisando o mais novo modelo para substâncias húmicas proposto por SCHULTEN & SCHNITZER (1997) é verificada a presença de estruturas tridimensionais flexíveis formadas pela rede de carbono que apresenta espaços vazios inter-estruturais e na região de contato com a matriz mineral do solo. Estes espaços podem ser preenchidos por moléculas orgânicas simples, como os compostos heterocíclicos encontrados neste trabalho, que representam uma reserva de nitrogênio no solo, pois a sua transformação em N mineral na forma disponível às plantas só é possível à longo prazo.

LITERATURA CITADA

- CAMARGO, F. A. O., GIANELLO, C., VIDOR, C. Potencial de mineralização do nitrogênio em solos do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v.21, n.4, p.575-579, 1997.
- CANELLAS, L. P., SANTOS, G. A., RUMJANEK V. M., MORAES, A. A. Aplicación de la espectroscopia rnm del ¹³c en la caracterización de la materia orgânica del suelos. *Educación Química*, Chapingo, marzo-abril, p.17-23, 1999.
- CERETTA, C. A. *Fracionamento de N orgânico, substâncias húmicas e caracterização de ácidos húmicos de solo em sistemas de cultura sob plantio direto*. Porto Alegre: UFRGS, 150p.,1995. (Tese de Doutorado)
- GEISSMAN, T. A & CROUT, D. H. G. *Organic Chemistry of secondary plant metabolism*. San Francisco: Freeman, Cooper & Company, 592p.,1969.

- JACQUIN, F. & VONG, P. C. Incorporation of a nitrogen fertilizer in the humified compounds of a typic hapludalf. The Science of the Total Environment, Amsterdam, n.81/82, p.465-469, 1989.
- KUWATSUKA, S., TSUTSUKI, K., KUMADA, K. Chemical studies on soil humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.* Tokyo, v.24, n.3, p.337-347, 1978.
- MAZUR, N. *Níquel, chumbo, zinco e cobre em solos que receberam composto de resíduos sólidos urbanos*. Viçosa: UFV, 128p., 1997. (Tese de doutorado).
- ORLOV, R. *Ácidos húmicos de solos* (em Russo). Editora Mir: Moscou, p.47-57, 1974.
- SCHNITZER, M. Toward a better understanding of the interrelationship between humus and nitrogen: a key economic and scientific problem in international agriculture. In: DUTIL, P., JACQUIN, F. (eds). Colloque Humus-Azote, 7-10 juillet, Reims, France, p.1-15, 1981.
- SCHULTEN, H-R. & SCHNITZER, M. Chemical model structures for soil organic matter and soils. *Soil Sci.*, Baltimore, v.62, n. 2, p.115-130, 1997.
- STEVENSON, J. F. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2. ed. New York: John Wiley, 443p., 1994.
- TORSSELL, K. B. G. *Natural product chemistry*. New York: John Wiley, 402p., 1983.