

REVISÃO DA CROMATOGRÁFIA DE PFEIFFER COMO MÉTODO DE AVALIAÇÃO QUALITATIVA DE SOLOS

Sérgio Domingues¹, Leonardo Faedo², Éder Farina³, Rafael Contini⁴, Gentil Gabardo⁵, Ariel Bonadiman⁶

RESUMO: A agroecologia é hoje reconhecida como uma chave para a sustentabilidade econômica e ecológica na agricultura. O principal alvo da agroecologia no que diz respeito ao solo, é promover as interações vivas e com isso, manter a fertilidade do solo. Isso implica afirmar que a cadeia causal de fatores, que envolvem processos e características físicas, biológicas, químicas e energéticas precisam ser consideradas. Métodos comuns de análise do solo não são suficientes para uma avaliação completa, isto porque dependem de determinações quantitativas e de parâmetros individualmente analisados. Métodos físicos, biológicos e químicos podem preencher essa lacuna dando uma visão geral da interação entre os fatores. No entanto, implica que a análise do solo e a forma de interpretação são baseados em abordagem multidimensional, o que nem sempre é fácil de compreender num primeiro momento. Nesse contexto, a intenção desse artigo é fazer uma revisão da cromatografia de Pfeiffer, fornecer um guia rápido para realização e interpretação do método, dando uma alternativa de baixo custo para avaliação da fertilidade dos solos para pequenos agricultores.

Palavras-chave: Agroecologia, dinamólise, biodinâmica.

¹ Engenheiro agrônomo doutorando em Produção vegetal, UDESC

² Engenheiro agrônomo doutorando em Produção vegetal, UDESC

³ Engenheiro agrônomo mestrando em Produção vegetal, UDESC

⁴ Engenheiro agrônomo mestrando em Produção vegetal, UDESC

⁵ Engenheiro agrônomo doutorando em Produção vegetal, UDESC

⁶ Técnico em Agroecologia - Universidade Federal do Paraná - UFPR

REVIEW OF PFEIFFER CHROMATOGRAPHY AS A QUALITATIVE SOIL ASSESSMENT METHOD

ABSTRACT: Agroecology is now recognized as a key to economic and ecological sustainability in agriculture. The main aim of agroecology with regard to soil is to promote living interactions and thus maintain soil fertility. This implies that the causal chain of factors, involving physical, biological, chemical and energetic processes and characteristics, needs to be considered. Common methods of soil analysis are not sufficient for a complete evaluation, because they depend on quantitative determinations and individually analyzed parameters. Physical, biological, and chemical methods can fill this gap by giving an overview of the interaction between factors. However, it implies that soil analysis and the form of interpretation are based on a multidimensional approach, which is not always easy to understand at first. In this context, the purpose of this paper is to review Pfeiffer's chromatography, to provide a quick guide to the performance and interpretation of the method, giving a low-cost alternative for assessing soil fertility for small farmers.

Keywords: Agroecology, dynamolysis, biodynamics.

INTRODUÇÃO

O atual sistema de produção de alimentos, compromete a funcionalidade do agroecossistema e impede que a mineralização do solo se estabeleça naturalmente. O desenvolvimento da química agrícola e nutrição de plantas em meados do século XIX, deixou a impressão que apenas atributos químicos importam na nutrição de plantas, ocultou o olhar para a microbiologia do solo e o conceito de fertilidade, como um componente do agroecossistema (SILVA; COMIN, 2010). A qualidade nutricional do solo é refletida na planta e seus subprodutos vegetais (PINHEIRO, 2011). Podemos afirmar que a fertilidade do solo, é uma propriedade do sistema associada às condições de abrigar vida (KHATONIAN, 2001).

Os modelos de fertilidade do solo e saúde de plantas, tratam de forma isolada cada fator nutricional, não indicam o quanto as atividades enzimáticas, físicas, químicas e biológicas do solo interagem entre si, o que pode ser entendido como saúde do solo, daí a necessidade da adoção de metodologias qualitativas de avaliação (SARANDON; FLORES, 2009).

A cromatografia de superfície plana é um método de análise integral qualitativa do solo e subprodutos vegetais (RIVERA, 2011). Na cromatografia, os componentes a serem observados, são distribuídos em fases estacionárias e fluidas (SILVA; GARCIA, 2006).

Ehrenfried Pfeiffer desenvolveu o método de cromatografia em uma superfície plana de papel, que ele chamou inicialmente de *Chroma Test*, através desse método conseguiu separar vitamina C natural da vitamina C sintética industrializada, mostrando diferenças qualitativas entre as amostras (RESTREPO; PINHEIRO, 2011). A avaliação desse método, consiste na interpretação das características reveladas por imagem como cor, forma e harmonia (PERUMAL, et al. 2016). Este método contempla propriedades físicas, químicas, biológicas (RIVERA, 2011). Através da cromatografia é possível obter uma orientação rápida sobre a condição qualitativa, em particular no solo e compostagem (PFEIFFER, 1959).

O objetivo desse trabalho é descrever a metodologia específica para cromatografia de solos, de modo ajudar a popularizar essa técnica, que tem muita utilidade em sistemas agroecológicos, dado o fato que a cromatografia expressa em termos gerais como está qualitativamente o solo, o quanto há de equilíbrio entre as diversas frações químicas físicas e minerais e como correlacionam-se.

MATERIAL E MÉTODOS

Deve-se coletar amostra representativa de cerca de 250 gramas e identificar juntamente com histórico da área. A amostra individual deve ser seca à sombra. Então elimina-se restos de raízes, pedras, folhas, etc. Após a secagem, a amostra é moída e peneirada, do material peneirado deve-se pesar 5 gramas e identificar para as análises.

Pfeiffer (1984) utiliza solução de hidróxido de sódio (NaOH), preparado em 1%, como **solução extratora**, que pode ser obtida pela proporção de 10 gramas de hidróxido de sódio (soda cáustica) em 1000 ml de água destilada, em uma amostra de solo, essa solução é suficiente para solubilizar substâncias nitrogenadas do

Revista da 15ª Jornada de Pós graduação e Pesquisa. ISSN: 2526-4397

Submetido: 14/08/2018 Avaliado: 16/08/2018.
Congrega Urcamp, vol. 15, nº15, ano 2018.

metabolismo de microrganismos onde a quantidade de $N/NH_3/NO_2/NO_3$ presentes na amostra, que são expostas em papel de filtro especial previamente impregnado com nitrato de prata. A **solução reveladora** é obtida pesando 0,5 grama de Nitrato de Prata para cada 100 ml de água destilada.

Quanto maior for o conteúdo de substâncias nitrogenadas, maior o anel dos compostos e a intensidade das cores presentes, que variam de acordo com a presença antagônica de oxigênio (oxidante) ou enxofre (reduzidor). Este método também permitiu a avaliação de minerais, que por sua solubilidade, valência e grau de oxirredução formam diferentes círculos radiantes no cromatograma (Restrepo & Pinheiro, 2011).

Em seguida pega-se as 5g de solo moído, coloca-se em um frasco de Erlenmeyer (100 mL), adiciona-se 50 mL da uma **solução extratora** de NaOH a 1% seguido de agitação. A agitação deve ser repetida após 15 min, e após 1 h. A amostra deve ficar em repouso por seis horas após o início do seu preparo.

Enquanto a amostra repousa, pode ser preparada a etapa de impregnação do papel. Uma abertura uniforme, lisa e concêntrica de 2 mm é perfurada no centro de um papel de filtro Whatman nº 1 ou nº 4, e em cada papel de filtro devem marcados as distâncias de 4 e 6 cm do centro com um lápis.

Deve-se evitar tocar o papel de filtro, pois isso influenciará negativamente a qualidade dos cromas causando manchas no papel, portanto, o uso de luvas e pinças é desejável. Um pavio de 2 x 2 cm feito a partir de pedaços do papel filtro deve ser enrolado e inserido através da abertura do papel de filtro perfurado (Figura 1).

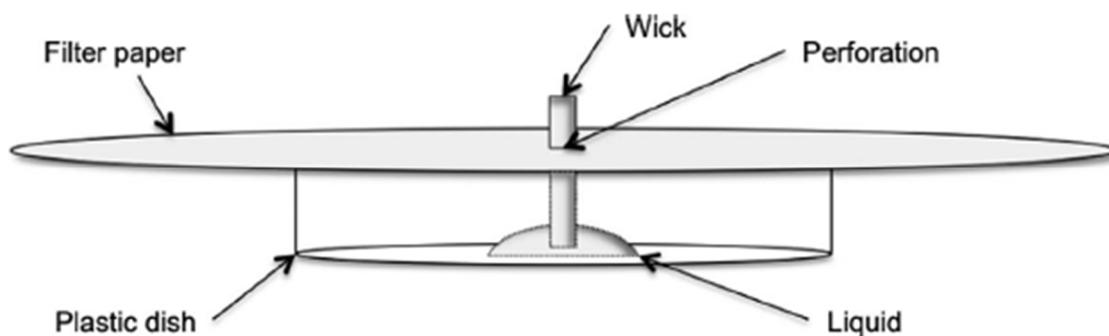


Figura 1, diagrama de montagem do papel (Kokornaczyk et al., 2017).

Coloca-se então 3 mL de uma **solução reveladora** de AgNO_3 0,5% em placa de Petri, o pavio do papel de filtro inserido deve tocar no meio da tigela; depois da solução embeber simetricamente até a marca de 4 cm do papel de filtro, o pavio é cuidadosamente removido e o papel de filtro é armazenado em uma caixa escura para secar. Os discos de filtro podem ser armazenados apenas por 3 a 5h, após esse tempo, AgNO_3 reage com o papel, que fica visível como corantes e anéis marrons.

Dois cromas devem ser feitos para cada amostra de solo. Depois de decantar por 6 horas a **solução do solo**, 5mL do material sobrenadante é colocado na placa de Petri. Um novo pavio é inserido previamente no furo do papel filtro impregnados com solução reveladora de AgNO_3 , o pavio do papel de filtro inserido deve tocar no meio da placa de petri em contato com a **solução do solo** decantada. Após 20 a 30 minutos, a solução deve alcançar a marca de 6 cm do papel de filtro. Em seguida, o papel de filtro é seco em condições de luz difusa à temperatura ambiente, leva-se cerca de 10 dias para total revelação do cromatograma.

RESULTADOS

Os cromatogramas mostram uma estrutura zonal com uma zona central, interna, intermediária e de borda (Tabela 1). A largura de cada zona, as estruturas de uma zona e a cor são características importantes. Sombras e formas entre pontas afiadas na zona externa, cor e forma dos pontos afiados na zona média e cor, estrutura e linhas radiais na zona interna são avaliadas separadamente (Fig. 1).

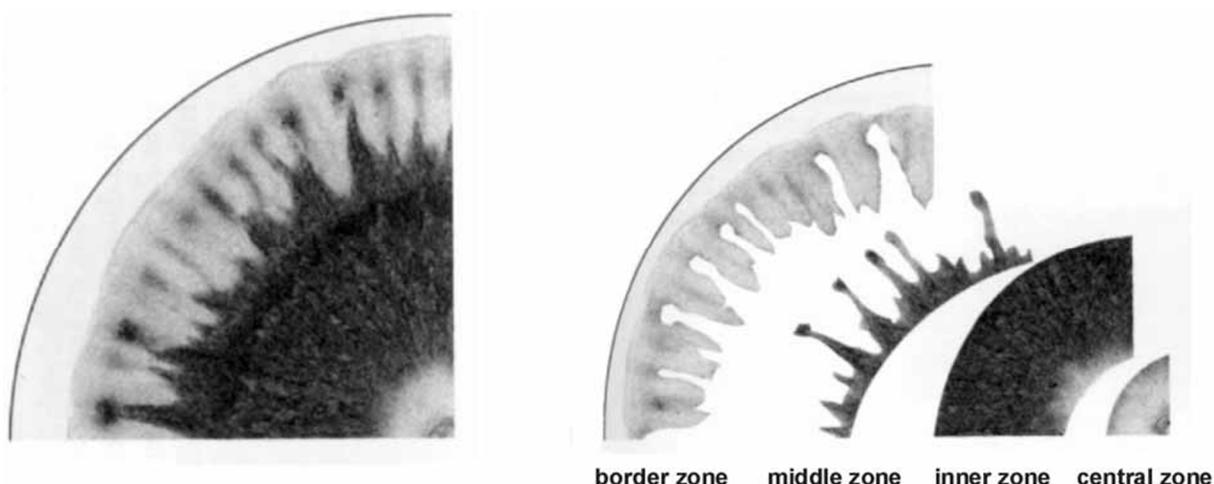
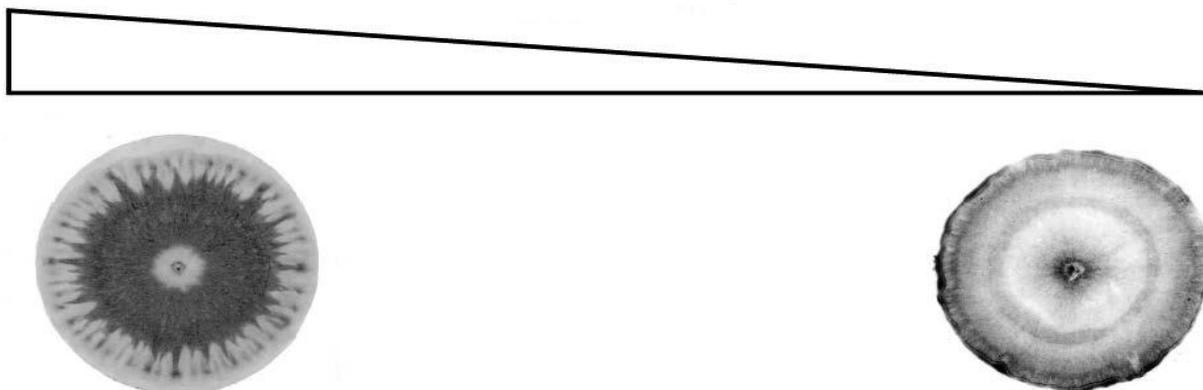


Figura 2. Estrutura zonal de imagens produzidas pelo teste de cromatografia do solo. A esquerda: imagem original; direita: imagem subdividida, adaptado de Voitl e Guggenberger (1986).

Tabela 1. Relação entre as características da imagem do cromograma do solo e a fertilidade do solo de acordo com Voigt e Guggenberger.



Fertilidade do solo da maior para a menor:

Cor básica de transição entre as zonas	Harmoniosa, tendendo ao marrom-amarelado.	Cinza ou acinzentada, mudanças abruptas
Zona central	Largura normal	Largura pequena
Zona interna	Cor clara e escura das linhas radiais Fundo escuro Linhas radiais aglomeradas densas, em parte na zona central e zona média.	Cor clara das linhas radiais (baixo teor de matéria orgânica) Estrutura radial pobre
Zona Média	Cor acastanhada intensiva (alto teor de matéria orgânica) Largura ampla (extensão para zona interna e central) Pontos afiados arredondados e enrugados Pontos afiados claramente na zona de fronteira	Castanho-escuro (sem volume de húmus) castanho claro (baixo teor de matéria orgânica). Largura pequena Pontos afiados como rodas de engrenagem; sem estrutura (casos extremos). Pontos afiados dominam a zona de fronteira; sem estrutura (casos extremos).
Zona externa	Pontos nebulosos acastanhados entre e em cima de pontos agudos da zona intermediária (alta atividade microbiana).	Incolor, sem manchas e sombras; não existente (casos extremos)

DISCUSSÃO

Zona central (oxidação-redução): Feita a impregnação do papel filtro do centro à borda primeiramente com AgNO_3 , num segundo momento ao impregnar com a solução de NaOH , esta carrega as substâncias minerais ou orgânicas dissolvidas que ao passar sobre a parte impregnada com AgNO_3 há a formação imediata de Hidróxido de Prata (AgOH), a qual é instável e forma um precipitado escuro de Óxido de Prata (Ag_2O), proporcional a quantidade da substância. Se no ambiente do solo predomina uma condição (anaeróbia), não permitindo a oxidação dos minerais, acumulam-se substâncias tóxicas na atmosfera do solo, manifestando-se uma cor escura a preta. Esta zona expressa primordialmente o metabolismo microbiano, portanto, de acordo com a qualidade de vida do solo e a concentração de substâncias nitrogenadas presentes na amostra, este precipitado negro de Ag_2O torna-se solúvel de modo a modificar sua cor a um branco prateado e/ou de cor creme, sendo isto o desejável, formando assim o complexo Amônio Prata $2[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$. As cores que variam do preto (mínimo metabolismo microbiano aeróbico e máxima fermentação anaeróbica) ao prata maior plenitude no metabolismo microbiano aeróbico e harmonia estrutural.

Zona interna (mineral): como a soda cáustica reage com os minerais metabolizados pelos microrganismos de modo diferente aos minerais solúveis e insolúveis fora do bioplasma, a sua composição, grau de oxidação ou redução determinam a forma, cor, desenvolvimento, integração e distância da zona central à externa. Como os minerais e demais substâncias possuem carga elétrica e campo eletromagnético, que por sua vez está diretamente relacionado às condições de vida do solo, isto influencia em como se manifesta o desenho do cromograma. Isto pode se apresentar através de sua radiação pelas características da ramificação que ocorrem em forma de setas e/ou “flechas” sobrepostas de forma mais ou menos perceptível, podendo ser desde a zona central à extremidade do cromograma, que sendo de coloração com tom amarelo-dourado e quanto mais diversa e integrada de forma harmônica às outras zonas, maior é a qualidade de sua condição mineralógica e vida do solo. O pleno desenvolvimento desta zona, bem integrado às demais, ilustra uma boa condição da atividade biológica do solo, integração e harmonia entre o componente mineral-biológico. Essa zona pode variar desde um círculo linear (membrana inorgânica sem vida) até total integração com as outras zonas. Suas cores variam do mínimo no preto ao máximo no ouro e laranja.

Zona intermediária (proteica): nesta zona é onde se manifesta a ocorrência ou ausência e qualidade da matéria orgânica, conforme as substâncias presentes em concentração e qualidade. Desse modo se expressa de forma mais significativa o grau de desenvolvimento, integração e harmonia ou se há bloqueios entre o componente mineral e orgânico e inter-relação com o componente biológico. Nesta zona se desenrola a conformação final do cromatograma, a qual consiste em uma zona de transição que, de forma abrupta ou mais sutil, revela o grau de harmonia segundo as condições físicas e atividade macro e microbiológica no solo, o que tem relação direta com o manejo adotado e demais práticas culturais; variam do castanho escuro até a Prata.

Zona externa (enzimática): região onde expressa plenamente a vitalidade do solo, nela os compostos nitrogenados ao ultrapassar a zona impregnada com nitrato de prata, reagem com os restos de prata livres. Isto faz com que se expresse esta zona, a qual consiste de substâncias complexas de alto peso molecular ativas do solo formadas pela atividade dos microrganismos presentes na matéria orgânica. Estas frações nitrogenadas (vitaminas, enzimas, fito-hormônios, frações húmicas, etc.) revelam-se sob a forma de nuvens (pigmentos), pétalas e ondas que caracterizam a zona enzimática, onde se verifica a biodiversidade microbiana pela sua biossíntese proteica e polipeptídios solúveis da vida do solo. Quanto mais diversa maior é a presença e efeitos dos compostos que se expressam com formas e picos variados, onde também se expressa as diferentes frações húmica.

CONCLUSÕES

A agroecologia é reconhecida em maior escala como uma chave para a sustentabilidade econômica e ecológica na agricultura. O principal objetivo da agroecologia é promover um ambiente vivo, que possa por si só manter a fertilidade do solo. Isso implica que os processos e as características físicas, biológicas, químicas precisam ser consideradas. Métodos comuns de análise do solo não são totalmente suficientes para uma avaliação tão completa, porque eles dependem de uma determinação quantitativa de parâmetros individuais e químicos. Neste contexto a cromatografia de Pfeiffer pode auxiliar sendo ferramenta auxiliar na tomada de decisões.

Referências

KHATOUNIAN, C.A. A reconstrução ecológica da agricultura. - Botucatu: Agroecológica, 2001. 345 p.

KOKORNACZYK, Maria Olga et al. Analysis of soils by means of Pfeiffer's circular chromatography test and comparison to chemical analysis results. **Biological Agriculture & Horticulture**, v. 33, n. 3, p. 143-157, 2017.

PERUMAL, et al. Innovative and simplest alternative analytical technology(AAT) for testing soil nutrients, Journal of Soil Science Research 1(1). 2016.

PFEIFFER, Ehrenfried. **Chromatography applied to quality testing**. SteinerBooks, 1984.

PFEIFFER, Ehrenfried. Eine qualitative chromatographische Methode zur Bestimmung biologischer Werte." **Lebendige Erde**, v. 5, p. 205, 1959.

RIVERA. J. R. **Cromatografía: Imágenes de vida y destrucción del suelo**. Cali - Colômbia: Feriva S. A., 2011. 252 p.

SILVA, M., GARCÍA, M. **Laboratório de Bioquímica**. Sevilla, Espanha: MAD S.L., 2006.

VOITL, Helmut; GUGGENBERGER, Elisabeth. Der Chroma-Boden-Test. **Die Bodenqualität bestimmen, bewerten und verbessern. Ein unentbehrlicher Ratgeber für Landwirte, berufs-und Hobbygartner**. Verlag orac, Wien, Germany, 181p, 1986.