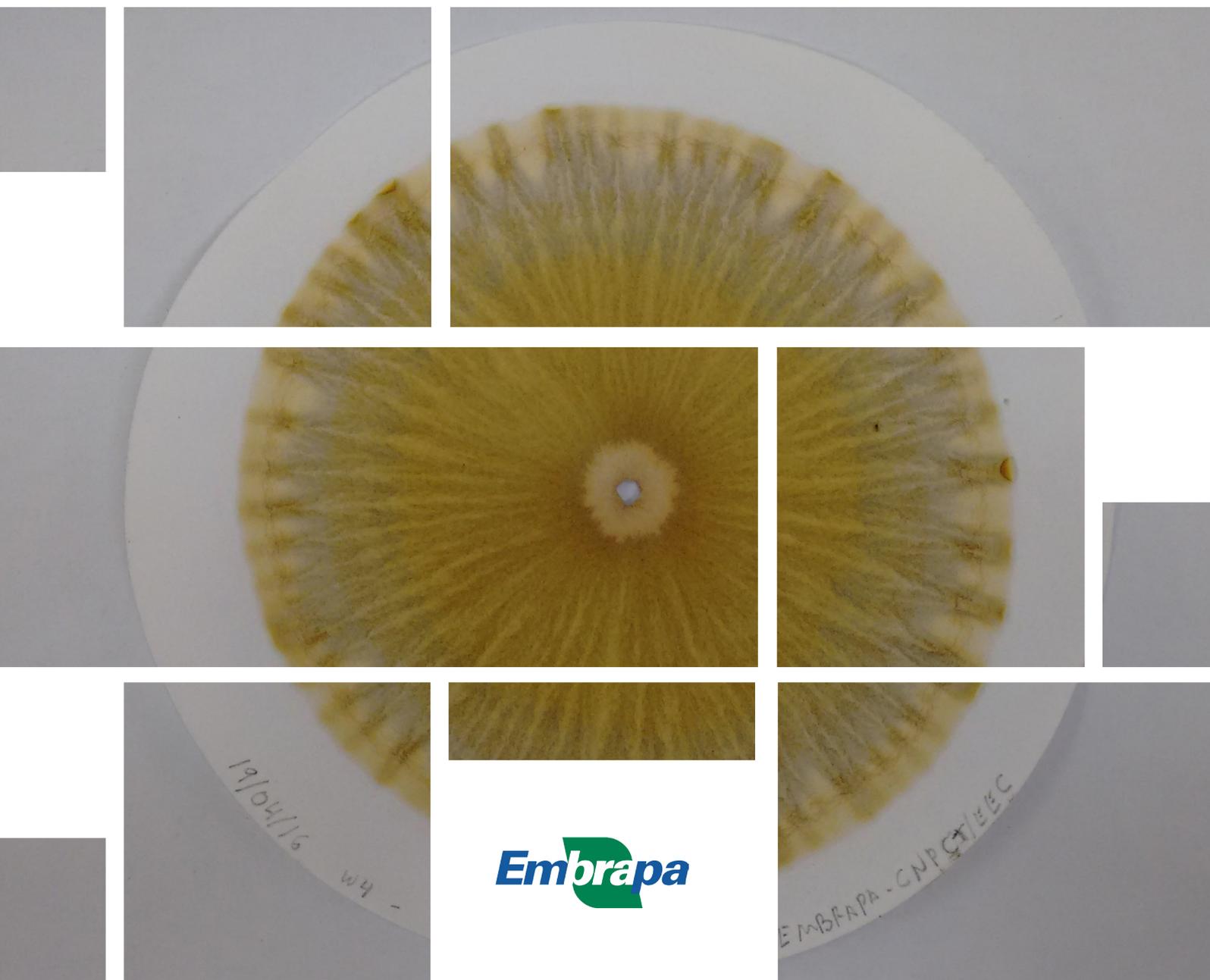


Guia Prático de Cromatografia de Pfeiffer



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Clima Temperado
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

DOCUMENTOS 455

Guia Prático de Cromatografia de Pfeiffer

*Lucas Contarato Pilon
Joel Henrique Cardoso
Fabrício Sanches Medeiros*

Embrapa Clima Temperado
BR 392 km 78 - Caixa Postal 403
CEP 96010-971, Pelotas, RS
Fone: (53) 3275-8100
www.embrapa.br/clima-temperado
www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê Local de Publicações

Presidente
Ana Cristina Richter Krolow

Vice-Presidente
Enio Egon Sosinski

Secretária-Executiva
Bárbara Chevalier Cosenza

Membros
*Ana Luiza B. Viegas, Fernando Jackson, Marilaine
Schaun Pelufê, Sônia Desimon*

Revisão de texto
Bárbara C. Cosenza

Normalização bibliográfica
Marilaine S. Pelufê

Editoração eletrônica
Nathália Santos Fick (estagiária)

Foto de capa
Lucas Pilon

1ª edição
Obra digitalizada (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Clima Temperado

P643g Pilon, Lucas Contarato

Guia prático de cromatografia de Pfeiffer / Lucas
Contarato Pilon, Joel Henrique Cardoso, Fabrício
Sanches Medeiros. – Pelotas: Embrapa Clima
Temperado, 2018.
16 p. (Documentos / Embrapa Clima Temperado,
ISSN 1516-8840 ; 455).

1. Cromatografia. 2. Fertilidade do solo. 3. Agricultura
sustentável. I. Cardoso, Joel Henrique. II. Medeiros,
Fabrício Sanches. III. Título. IV. Série.

CDD 544.92

Autores

Lucas Contarato Pilon

Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciências do Solo, Sítio São Lucas, Nova Venécia, ES

Joel Henrique Cardoso

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

Fabício Sanches Medeiros

Acadêmico de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

Apresentação

Este manual aborda uma metodologia de análise da fertilidade do solo por meio de uma ferramenta acessível a agricultores e técnicos interessados em caracterizar, monitorar e avaliar glebas de terra com fins agrícolas.

A Cromatografia de Pfeiffer consiste em um método pouco difundido, mas que ganha cada vez mais relevância no contexto das boas práticas de agricultura, pois essa ferramenta de análise aborda o tema da fertilidade de maneira ampla e multidimensional, atentando para aspectos da física, química e biologia do solo.

Além de orientar as tomadas de decisões futuras, esse método leva os agricultores e técnicos a rever o histórico de suas glebas de terra agricultáveis por meio de uma fotografia, o cromatograma.

A interpretação do cromatograma exige um exercício de reflexão, que faz pensar sobre quais boas práticas dispor para que os solos abriguem e nutram a vida que nele habita e dele depende, com destaque para as sociedades humanas, que, em última instância, dependem integralmente dessas mesmas terras.

Solos vivos, reflexão e ação sobre boas práticas agrícolas são metas a serem perseguidas por toda instituição dedicada à agricultura. Nesse sentido, a Embrapa Clima Temperado disponibiliza este guia prático de cromatografia de Pfeiffer ao conjunto de agricultores e instituições parceiras, com a expectativa de que este documento sirva como catalizador de iniciativas voltadas à agricultura sustentável.

Clenio Nailto Pillon
Chefe-Geral

Sumário

Introdução	9
Histórico da Cromatografia de Pfeiffer	9
Descrição do método.....	10
Preparo da amostra do solo.....	10
Impregnação do filtro com o agente revelador	10
Preparo da solução de solo.....	11
Interpretação	12
Exercício de interpretação de um cromatograma e suas zonas	14
Considerações finais	15
Referências	16

Introdução

No meio acadêmico-científico há grande número de métodos (quantitativos e qualitativos) que possibilitam analisar múltiplas dimensões dos solos e suas respectivas interferências sobre os componentes do agroecossistema (Donagema et al., 2011). No entanto, esses métodos exigem uma gama de conhecimentos, habilidades, infraestrutura e equipamentos que demandam das instituições um grande esforço. Em muitos casos, não alcançam uma parcela significativa dos agricultores, que, por inúmeros motivos, permanecem excluídos dos serviços de assessoria técnica prestada pelos órgãos de ensino, pesquisa e extensão (Pellegrini, 2013).

A Cromatografia Circular de Pfeiffer (CCP), apesar de muito pouco difundida, consiste em um método refinado de análise integrada das dimensões físicas, químicas e biológicas do solo, permitindo a técnicos e agricultores perceber as carências e qualidades do solo (Pilon, 2014). Esse método também pode ser utilizado para analisar outros materiais, no entanto este documento discutirá prioritariamente a análise de solos com interesse agrícola.

Outra vantagem da CCP diz respeito à tomada de decisão, que exige uma análise holística do instantâneo (croma revelado), ou seja, o croma ou fotografia não podem ser lidos de maneira fragmentada: a observação e análise devem ser realizadas compreendendo o solo como um conjunto ou organismo. Essa observação rompe com a lógica dominante de correção dos solos com base em aspectos químicos e físicos obtidos de análises de rotina; essas são pouco contextualizadas frente à necessidade dos agricultores orgânicos e podem ser observadas paralelamente.

Antes de interpretar a CCP, faz-se necessário assumir os princípios de que o solo é um organismo vivo (Primavesi, 1984). Caso contrário, a CCP enquanto método de análise perde sua polivalência. Agricultores e técnicos não poderão esperar que o croma informe o quanto de nitrogênio, fósforo ou potássio (NPK) deve ser acrescentado ao solo, mas podem entender como se encontra sua fertilidade.

Solo fértil é aquele capaz de proporcionar crescimento de biomassa e diversidade genética de microrganismos e outros seres que reciclam a matéria orgânica, oriunda do metabolismo de plantas e animais, e os reconstróem em formas disponíveis para as plantas. Por essa teoria, a fertilidade de um solo é maior quanto maior for a diversidade da vida que cresce e se alimenta sobre e dentro dele.

Histórico da Cromatografia Circular de Pfeiffer

No ano de 1924, Rudolf Steiner, preocupado com a alta perda de vitalidade dos solos e crise da agricultura pelo uso de agroquímicos, fundou a Agricultura Biodinâmica, como um padrão de agricultura de base ecológica.

No desenvolvimento dessa agricultura, Ehrenfried Pfeiffer foi provocado a desenvolver um método capaz de analisar a fertilidade ampla dos solos. Para tanto, Pfeiffer se empenhou em investigar relações entre a química, a fertilidade e a vida do solo, aprofundando posteriormente em microbiologia e bioquímica, identificando a intensidade da vida mediante o catabolismo e anabolismo.

A CCP foi idealizada para analisar e distinguir a qualidade dos solos principalmente em sistemas de agricultura biodinâmicos (Pfeiffer, 1984). Esse método permite também avaliar minerais por sua so-

lubilidade e grau de oxidação (Rivera; Pinheiro, 2011). Atualmente, pelos esforços de Jairo Restrepo e Sebastião Pinheiro, o método tem ganhado popularidade junto a agricultores familiares e camponeses que participam de organizações sociais com estilos de agricultura de base ecológica.

Descrição do Método

Passos para preparo, as descrições a seguir são adaptadas de acordo com Pfeiffer (1984) e Rivera e Pinheiro (2011):

Preparo da amostra de solo:

- a) A amostra de solo deve ser tomada de forma representativa da área e horizontes que se pretende avaliar. Necessita-se em média de 250 g de solo para confeccionar uma amostra.
- b) Após a retirada da amostra, que pode ser de um único local ou composta de locais e horizontes distintos, a depender do objetivo e cultivo que se deseja analisar, deve-se dispor a amostra sobre papel limpo, à sombra, em local fresco e aerado, com a intenção de que o solo fique mais solto e fácil de peneirar. Não são recomendados métodos de secagem forçada que comprometam a composição do solo.
- c) Cada amostra deve ser devidamente identificada com relação à gleba, profundidade e data de coleta. Esses cuidados devem ser redobrados à medida que se trabalhe com mais amostras.
- d) Uma vez secas, as amostras devem ser peneiradas com auxílio de peneira bem fina (32 Mesh), podendo-se usar materiais alternativos, como tecido voile ('voal') ou meias femininas de náilon.
- e) Após peneirado, deve-se pesar 5 gramas de solo e identificar.

Impregnação do filtro com o agente revelador

- a) Utiliza-se um papel filtro circular de 15 cm de diâmetro, número 1 ou número 4, marca Whatman®;
- b) Prepara-se um modelo que permitirá marcar o centro e os pontos de 4 cm e 6 cm no papel filtro a ser impregnado. Para encontrar o centro, basta dobrar o papel filtro em quatro, sendo o ponto de cruzamento das duas dobras o ponto a ser perfurado. Os pontos de 4 cm e 6 cm serão definidos com o auxílio de uma régua para medição e uma agulha de costura.
- c) O capilar será feito por meio do seccionamento do papel filtro em quadrados de 2 cm x 2 cm, que serão enrolados, formando um tubo cilíndrico que deverá ser introduzido no centro do papel filtro.
- d) Com um furador de couro ou equivalente faz-se um furo de 2 mm no centro do papel, no qual será colocado um capilar de papel filtro nº 4.
- e) Identificar na margem externa do papel filtro, com lápis, a porosidade do papel (nº 1 ou nº 4) e a data de impregnação.

- f) Em um ambiente escuro, para que o nitrato de prata (AgNO_3) não se degrade pela ação da luz, coloca-se a solução de AgNO_3 na concentração de 0,5% em uma placa de Petri pequena (5,7 cm de diâmetro) que será acondicionada em uma placa de Petri maior (8,9 cm de diâmetro).
- g) Com o capilar devidamente encaixado, o papel filtro é colocado sobre as placas de Petri para que a solução de AgNO_3 (0,5%) seja impregnada até um pouco antes do furo de 4 cm.
- h) Após a impregnação, retira-se o capilar com cuidado para não tocar na área impregnada, devendo-se envolver o papel filtro com papel branco (toalhas ou papel higiênico), separando-se um papel do outro com folhas de papel de impressão.
- i) Os papeis impregnados devem ser acondicionados em caixas que impeçam a entrada de luz ou em ambientes escuros.

Preparo da solução de solo

- a) Escolhe-se um recipiente de vidro que preferencialmente possua gargalo, a exemplo de um frasco Erlenmeyer de 125 mL, bem limpo, e adiciona-se, com o auxílio de um funil, 5 g de solo moído e peneirado.
- b) Adiciona-se ao solo 50 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 1%. Para que o material seja dinamizado de maneira padronizada, deve-se efetuar sete séries de sete giros para a direita e sete giros para a esquerda, alternadamente.
Observação: o NaOH a 1% atua como dispersante e extrator das substâncias ativas presentes no solo para a parte líquida.
- c) Após a primeira série de 49 giros intercalando-se os sentidos, deixa-se a solução em suspensão descansar por 15 minutos, repetindo-se então mais sete séries de giros intercalados para a direita e esquerda.
- d) Por fim, após 60 minutos (uma hora) de descanso, efetua-se a terceira e última agitação do material, repetindo-se os 49 giros para cada um dos lados.
- e) Após outras 6 horas de repouso, quando a solução deve ter estabilizado a decantação, coleta-se 5 mL a 10 mL do sobrenadante para efetuar a impregnação do papel filtro previamente impregnado com AgNO_3 .
- f) A coleta do sobrenadante pode ser efetuada com pipeta ou mesmo uma seringa hipodérmica de 5 mL, que servirá para extrair o conteúdo em suspensão da solução solo em NaOH (1%).
- g) A impregnação da solução de sobrenadante no papel previamente preparado com nitrato de prata também será feita no escuro, com o auxílio de capilar e placas de Petri, devendo-se observar agora a marca de 6 cm para retirar o papel filtro, que deve ser previamente identificado com informações sobre o tipo de solo analisado, com o nome da propriedade, gleba, nome do proprietário e data da coleta e da cromatografia.
- h) Por fim, o filtro deve permanecer em ambiente iluminado, sem insolação direta e arejado por um período de secagem que pode levar até 14 dias, a depender das condições de temperatura e umidade.

Interpretação

A interpretação do cromatograma exige desprendimento da forma clássica de análise química do solo, que apresenta informações quantitativas referentes a macro e micronutrientes, que são definidos por métodos laboratoriais que desconsideram o metabolismo do solo vivo (Pinheiro, 2011).

A CCP possibilita observar como a vida está atuando no interior e sobre o solo. As substâncias do solo extraídas pela solução de NaOH (1,0%) apresentam tamanho, estrutura, peso molecular e cargas elétricas que se distribuem equitativamente no papel filtro impregnado com AgNO_3 (0,5%), formando halos concêntricos sequenciais que, uma vez revelados pela ação da luz solar indireta (comprimento de onda do visível), permite ao olho humano identificar padrões de cores e estruturas que revelam a disponibilidade e eficiência dos componentes que integram o solo.

Inicialmente a imagem é dividida em zonas, como se mostra abaixo, e posteriormente é feita a caracterização de cada zona, bem como a integração entre zonas, conforme descrito na Tabela 1. A interpretação é realizada a partir dos tons e cores, espessuras e padrões de linhas de cada zona, assim como sua integração (seus limites entre zonas). Dessa maneira são inferidas informações acerca de processos e propriedades físicas, químicas e biológicas do solo.

O significado de cada uma das zonas pode ser avaliado a seguir:

- 1) **Zona 1:** zona da atividade mineral, processos de mineralização, oxigenação e sistema poroso do solo.

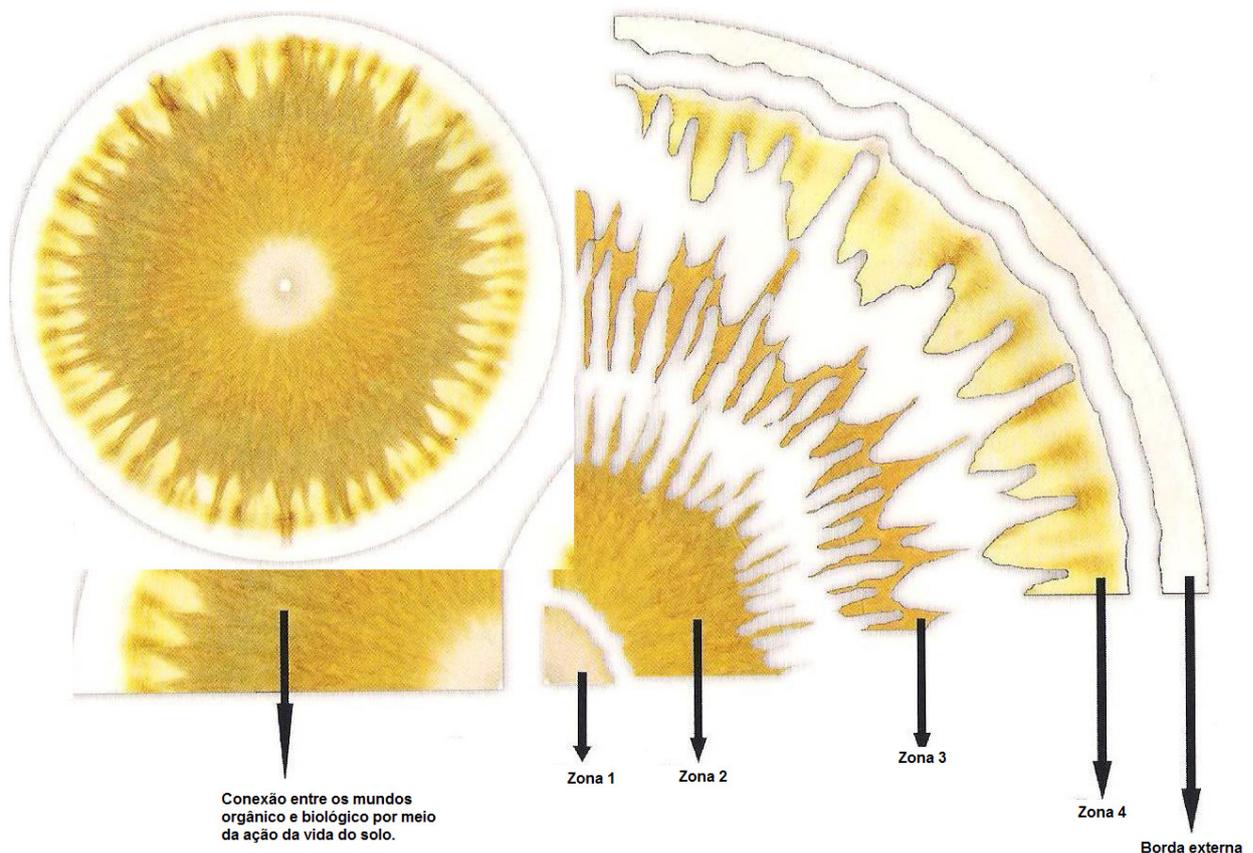


Figura 1. Identificação das zonas de um cromatograma ideal (Adaptado de Rivera; Pinheiro, 2011).

- 2) **Zona 2:** zona da química do solo. Relaciona-se com atividade microbiológica (fungos e bactérias); observa-se aqui também a textura do solo e propriedades da argila.
- 3) **Zona 3:** zona da matéria orgânica do solo. Refere-se também à zona da fauna do solo.
- 4) **Zona 4:** zona do alimento potencial do solo, também zona do húmus disponível e atividade enzimática/microbiológica.

Borda externa: zona de manipulação e identificação do croma. Região não atingida pelas soluções reagentes.

A caracterização dos padrões visuais é realizada conforme a Figura 1, e sugere-se um ranking visual conforme mostrado na Tabela 1. Recomenda-se também a medição das espessuras de cada zona, para que se obtenha uma proporção entre elas. Para análise visual são estabelecidos escores de 1 a 5, em que valores próximos a 1 inferem sobre padrões inferiores do solo, e valores próximos a 5 padrões superiores do solo.

Tabela 1. Guia dos escores para análise e descrição visual das características utilizados para CCP.

Características visuais de importância		
1. Integração	2. Plumas	Escore
Anéis, concêntricos marcados e homogêneos (ausência de integração)	Ausência ou pluma vestigial	1
Alguns anéis, integração abrupta	Apenas linhas radiais	2
Integração clara de padrões	Linhas radiais a plumas estreitas	3
Integração gradual	Linhas ou plumas radiais que cobrem todo croma	5
Integração difusa e padrões que se entrelaçam	Plumas radiais proeminentes/espessas	5

Características visuais de importância		
2. Picos	3. Cor	Escore
Ausência de picos ligados a plumas	Homogênea; escuro e preto; cores borradas, pouco intensas	1
Pontiagudos	Cinza a marrom	2
Pontiagudos com derivações	Bege	3
Alguns picos que se abrem no fim em manchas	Caro esbranquiçado	4
Picos que se abrem no fim total em manchas	Amarelo, creme; intenso e heterogêneo	5

Fonte: Pilon, 2017.

Os padrões visuais são divididos em quatro características: integração, que refere-se à conexão entre zonas do centro ao fim da imagem; plumas, que são flechas que podem ocorrer desde o centro da imagem e terminam nos picos mais escuros; picos, que são estruturas pontiagudas que ocorrem entre a terceira e quarta zona de cores escuras; e, por último, a cor que ocorre em cada zona.

A base de padrões de imagens com cromatogramas e o detalhamento de padrões e cores foram realizados de acordo com Pfeiffer (1984) e Rivera e Pinheiro (2011).

Exercício de interpretação de um cromatograma e suas zonas

Para que possamos melhor entender a metodologia de análise proposta, será feito um exercício de análise de um croma de um solo que vem recuperando sua fertilidade natural por meio de pousio e roçada seletiva, de forma que o agricultor seleciona algumas espécies de interesse que vão surgindo no processo de regeneração natural da vegetação.

Em função de serem solos utilizados intensamente no passado, o processo de restauração da fertilidade natural tem sido lento, o que se pode observar no estágio de sucessão da vegetação natural, predominando ainda plantas espontâneas ruderais, como guanxuma (*Sida rhombifolia* L.), que se estabelecem em ambientes compactados, gramíneas e espécies arbustivas e arbóreas de estádios iniciais de sucessão (Figura 2).



Figura 2. Aspecto geral da vegetação do agroecossistema.

Tratamos aqui de fazer uma sumarização de ideias, desde uma aproximação fenomenológica (busca-se a origem e desenvolvimento das características observadas nas zonas) que permita analisar cada uma das zonas do croma. Esse procedimento deve ser realizado após a análise integrada do croma, quando se observa a proporcionalidade, integração, cor e estética geral do croma.

As informações obtidas de cada zona são sistematizadas de acordo com os critérios de espessura da zona, fator de retenção (R_f) ou espessura percorrida pela solução e sua expressão em cada zona (cor, padrões observados em termos de linhas, anéis, formas das terminações, aspectos das plumas).

A interpretação dos cromas exige aperfeiçoamento e torna-se cada vez mais precisa à medida que o indivíduo vai exercitando tal processo. Conforme já mencionado, essa análise precisa ser triangulada com o histórico de uso do solo, além de exigir uma abordagem processual, que será aprimorada com a repetição constante da cromatografia e sua análise, à luz de intervenções exercidas sobre o solo.

Nesse processo de monitoramento da vida do solo, deve-se escrever com o máximo de detalhes as descrições subjetivas e, sempre que possível, ter em mãos uma análise cromatográfica de um solo de floresta ou um ambiente nativo da mesma região. Observar sempre no início da descrição a característica de maior importância e buscar as explicações para o fenômeno observado.

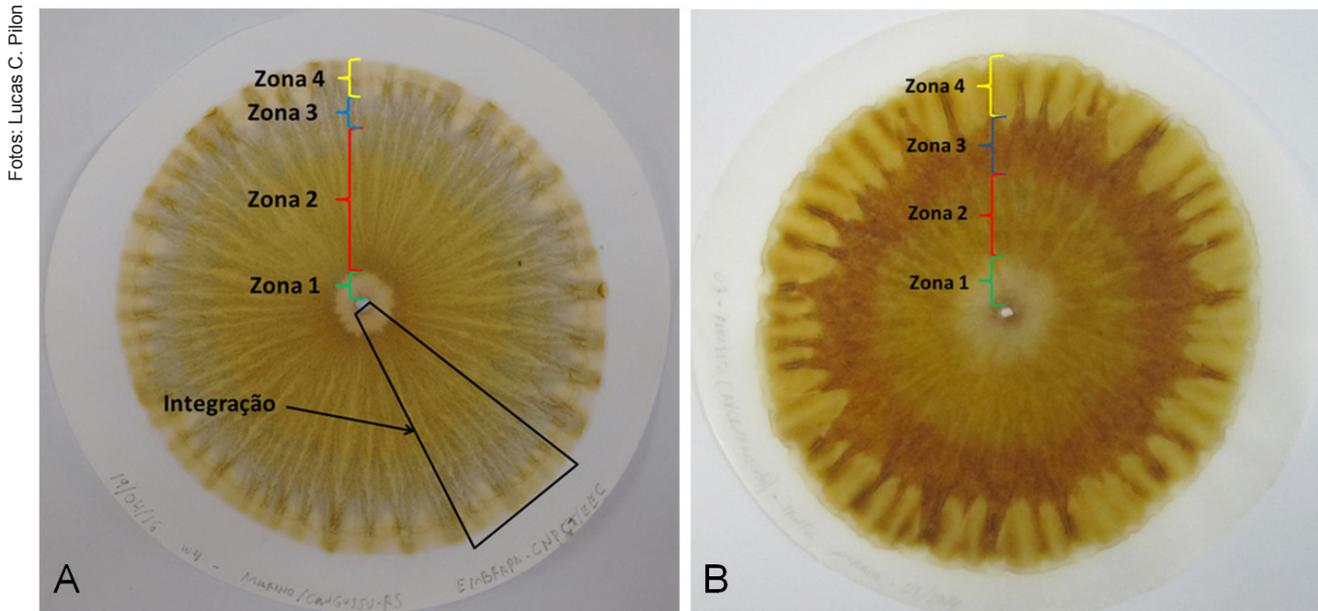


Figura 3. Cromatograma do solo em processo de recuperação da fertilidade (A); cromatograma de uma área florestal em regeneração com maior conservação do solo (B).

De acordo com Follador (2015), quando observamos um croma pelo primeiro momento, é importante fazer questionamentos que direcionam a uma interpretação prática: quantas zonas podemos distinguir? Há uma relação entre as zonas? A imagem representa movimento ou estagnação? A imagem tem um aspecto de solo saudável ou degradado?

A seguir faremos uma breve interpretação dos cromatogramas, visando propor um direcionamento a quem deseja experimentar o método.

O croma apresentado na Figura 3A possui boa integração entre zonas e presença de “plumas” ou flechas do centro ao fim, o que indica boa estrutura e condição de aeração do solo (oxigenação presente), que também é percebida pela presença da zona 1.

A partir do histórico da área e sua composição botânica, já se sabia que o solo analisado encontrava-se em descanso, predominando gramíneas pouco exigentes em matéria orgânica e nutrientes no solo. O solo demonstra de uma maneira geral que está em construção ou recuperação, de maneira lenta, por pouca intensidade de cultivo. A própria imagem mostra um desenho que se desenvolve expandindo-se, uma imagem radial.

A depender da zona, a coloração varia entre amarela, dourada/bege a marrom-claro, sem grandes contrastes entre zonas (forte integração), o que demonstra que o solo é habitado por uma quantidade expressiva de formas de vida que indicam sanidade e vitalidade.

A baixa matéria orgânica disponível faz com que os processos bióticos consumam as reservas de alimentos com rapidez, o que se expressa na zona 3 que apresenta cor cinza e pouco expressiva,

indicando baixa reserva de matéria orgânica do solo. Há presença forte de atividade microbiológica no solo, mas com pouco alimento (pouca matéria orgânica no solo).

O cromograma apresentado na Figura 3B representa um cromatograma de uma área florestal (Mata Atlântica) em regeneração com maior estabilidade e conservação do solo. A ciclagem e aporte de matéria orgânica ativa é expressa nas cores douradas e amareladas que ocorrem em toda a imagem. A estabilidade do solo é observada também nas zonas com integração gradual forte e espessuras semelhantes. As imagens de solos florestais podem representar o máximo de qualidade que o solo do local pode atingir, por isso recomendamos serem usadas como referência para observação dos solos de cultivo.

Considerações Finais

A Cromatografia Circular de Pfeiffer apresenta-se como um método eficaz e efetivo de avaliação da fertilidade sistêmica do solo. Essa técnica de monitoramento e avaliação precisa ser compreendida e inserida à rotina dos agricultores e técnicos preocupados com a saúde do sistema solo.

Referências

DONAGEMA, G. K.; CAMPOS, D. V. B. de; CALDERANO, S. B.; TEIXEIRA, W. G.; VIANA, J. H. M. (Org.). **Manual de métodos de análise de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011. (Embrapa Solos. Documentos, 132).

FOLLADOR, B. Portraying Soils and Compost: Color, Form, and Pattern. In **Context 34**, Nature Institute, 2015.

PELLEGRINI, P. A. **Políticas en agrobiotecnología: enfoques desde la utilidad o desde la apropiación del conocimiento**. In: CONGRESO NACIONAL E INTERNACIONAL DE AGROBIOTECNOLOGÍA, PROPIEDAD INTELECTUAL Y POLÍTICAS PÚBLICAS, 4., 2013. Disponível em: <http://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?keywords=&id=36769&congresos=yes&detalles=yes&congr_id=2505766>. Acesso em: 23 ago. 2017.

PFEIFFER, E. **Chromatography Applied to Quality Testing**. Milwaukee: Bio-Dynamic Farming & Gardening Association, 1984. 44 p.

PILON, L. C. **Interações entre a cobertura vegetal e os atributos do solo em citros cultivado nos sistemas convencional, orgânico e agroflorestal**. 2017. 129 f. Tese (Doutorado em Ciência do solo) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2017.

PILON, L. C.; REICHERT, J. M.; JACQUES, R. J. S.; SILVA, I. C. L. da. Cromatografia de Pfeiffer: desenvolvimento de padrões brasileiros de uma metodologia para sistemas de agricultura orgânica. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE LA CIÊNCIA DEL SUELO, 20., 2014, Cusco. **Anais...** Cusco, Perú, 2014.

PINHEIRO, S. **Cartilha da saúde do solo (cromatografia de Pfeiffer)**. Porto Alegre: Salles, 2011. 120 p.

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais**. 6. ed. São Paulo: Nobel, 1984.

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



Clima Temperado