

**Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Química – CFM
Programa de Pós Graduação em Química**

Vicente Rodrigues de Almeida

**TRANSDISCIPLINARIDADE E ECOLOGIA EM QUÍMICA
INORGÂNICA: TROCA DE PRÓTONS EM SISTEMAS
COMPLEXOS [MICÉLIO/ÍON METÁLICO/ÁGUA]**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção de grau de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Szpoganicz

Florianópolis - SC

2016

de Almeida, Vicente Rodrigues

Transdisciplinaridade e ecologia em química inorgânica :
troca de prótons em sistemas complexos [micélio/ion
metálico/água] / Vicente Rodrigues de Almeida ;
orientador, Bruno Szpoganicz - Florianópolis, SC, 2016.
88 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas.
Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui referências


1. Química. 2. Transdisciplinaridade. 3. Ecologia. 4.
Biogeoquímica. 5. Termodinâmica. I. Szpoganicz, Bruno. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós
Graduação em Química. III. Título.

Vicente Rodrigues de Almeida

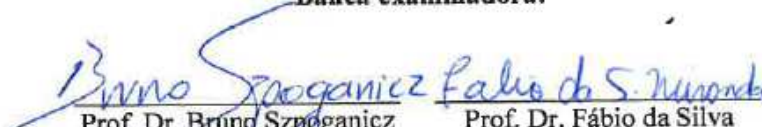
**Transdisciplinaridade e Ecologia em Química
Inorgânica: Troca de Prótons em Sistemas Complexos
[Micélio/Ion Metálico/Água]**

Esta Tese foi julgada e aprovada para a obtenção do título de **Doutor em Química** pelo **Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade Federal de Santa Catarina.


Florianópolis, 16 de fevereiro de 2016



Coordenador do Programa Prof. Dr. Vanderlei Gageiro
Machado


Banca examinadora:


Prof. Dr. Bruno Szpóganicz
Orientador
QMC/CFM/UFSC


Prof. Dr. Fábio da Silva
Miranda
Relator IQ-UFF


Dr. Thiago Guimarães Costa
Fundação Catarinense de
Cultura


Prof. Dr. Fábio Zazyki
Galletto
QMC/CFM/UFSC


Prof.ª Dr.ª Vera Lucia A. F.
Bascufian
QMC/CFM/UFSC


Dr. Robson da Silva Oliboni
FSC/CFM/UFSC


Dr. Luciano Albino Giusti
QMC/CFM/UFSC

AGRADECIMENTOS

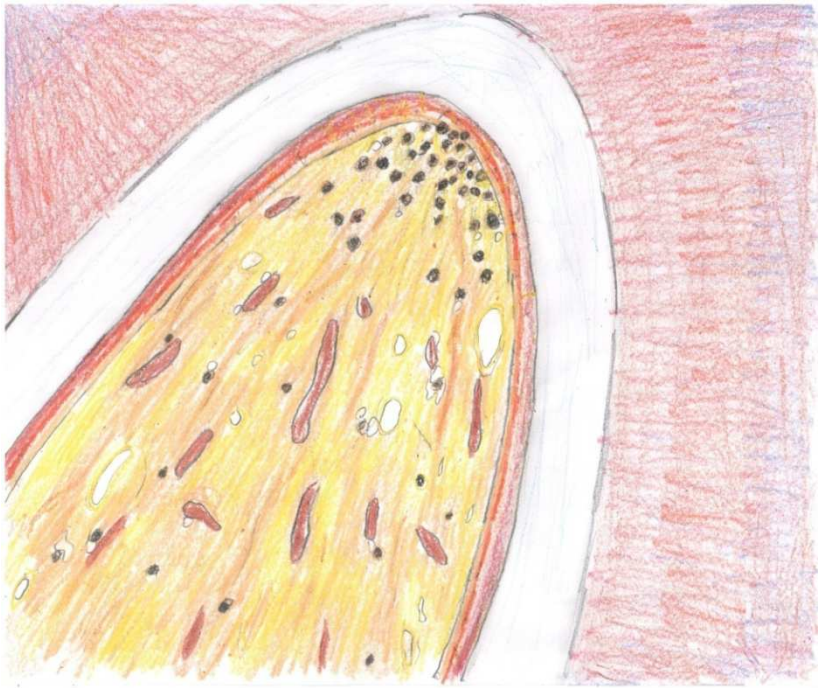
Em primeiro lugar, devo agradecer toda minha família, minha companheira, meus amigos e os meus colegas e vizinhos pela aceitação, amor e respeito. As contribuições vão além dos aspectos pessoais e devo agradecer também pelas discussões e reflexões acerca das atividades desempenhadas como cidadãos, acadêmicos, professores e aprendizes.

Em segundo lugar, devo agradecer ao professor Bruno Szpoganicz pela oportunidade e abertura para com minha proposta e também pela ajuda durante reflexões e desenvolvimento do trabalho. Agradeço a todos professores, servidores e profissionais que propiciaram um ambiente rico e dinâmico em informações e atividades. Agradeço ao Professor Dr. Steeve Bonneville pela supervisão de estágio doutoral na “Université Libre de Bruxelles” e aos professores e técnicos desta instituição.

Agradeço às instituições, a Universidade Federal de Santa Catarina e o Programa de Pós-Graduação em Química e o “Département de Sciences de la Terre et du Environnement” da “Université Libre de Bruxelles” (Bruxelas-Bélgica), pelas boas condições para o estudo, investigações e reavaliação do desenvolvimento do presente trabalho bem como o meu desenvolvimento humano e social.

Agradeço também à banca examinadora pela contribuição no conteúdo do documento final.

Por último, devo agradecer a agência de fomento CNPq pela bolsa.



RESUMO

Transdisciplinaridade e ecologia são temas pertinentes em qualquer contexto acadêmico e social, principalmente na contemporaneidade da condição humana. Neste trabalho oferecemos a discussão transdisciplinar da construção dos modos de pensamento complexos emergentes no fim do segundo milênio ocidental e uma introdução às contribuições das concepções de investigação acopladas às questões pertinentes em educação, cultura e ciência, nos sentidos amplos das palavras. Ainda, com ênfase na contribuição para biogeoquímica e ciência dos solos, apresenta-se um novo método de investigação de padrões de troca de prótons, no equilíbrio e fora do equilíbrio, de sistemas complexos presentes em ecossistemas biosféricos terrestres, neste caso micélio de fungo basidiomiceto *Trametes hirsuta*, através do aprimoramento da aplicação da potenciometria (usando eletrodo combinado de vidro) como uma tecnologia intermediária. Por último, esta contribuição para a construção conceitual da pesquisa em química voltada para ecologia/transdisciplinaridade (Capítulo 1) e biogeoquímica (Capítulo 2) tem como principal objetivo o desenvolvimento de cultura, premissa fundamental em educação.

Palavras-chave: transdisciplinaridade, ecologia, biogeoquímica, termodinâmica, ciência de solos e agroecologia.

ABSTRACT

Transdisciplinary and ecology are relevant topics in any academic and social context, mostly in the present state of human condition. In this work we offer a transdisciplinary discussion on the construction of complex modes of thought that evolved in the end of the second occidental millennium and an introduction of the investigation conceptions which are coupled to relevant questions in education, culture and science, in the broad sense of the terms. Still, emphasizing the contribution to biogeochemistry and soil science, we present a new method for the investigation of proton exchange patterns, in the equilibrium and out-of-equilibrium, of complex systems present in terrestrial biospherical ecosystems, in this case the mycelium of the basidiomycete fungus *Trametes hirsuta*, through the improvement of the application of potentiometry (using a combined glass electrode) as an intermediate technology. Lastly, the conceptual contribution of the research in chemistry toward ecology/transdisciplinary (Chapter 1) and biogeochemistry (Chapter 2) assume the development of culture, fundamental premise in education, as the main goal.

Keywords: transdisciplinary, ecology, biogeochemistry, thermodynamics, soil science and agroecology.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

- Figura 1.1.** Protótipos de diferença ou ausência de equilíbrio (acima) e fronteira ou estabelecimento de diferença (abaixo).30
- Figura 1.2.** Fronteira e respectivo fluxo (esquerda) e fronteira autopoietica e fluxo de manutenção de autocriação (direita). A formação da fronteira autopoietica, em clausura operacional, deve ser resultado de organização em condição de excesso de energia.33
- Figura 1.3.** Relações de acoplamento estrutural na manutenção de estados de atualização de sistemas autopoieticos.35
- Figura 2.1.** Microscopia de fluorescência confocal do micélio cultivado (método de coloração é descrito em Bonfante-Fasolo *et al*, 1990) e fotografias de basidioma (corpo de frutificação) da amostra coletada de fungo *Trametes hirsuta*.42
- Figura 2.2.** Exemplo de (a) medida de estabilização de pH fora do equilíbrio, do “ pH_{final} do ponto anterior da titulação” até “ pH_{final} do ponto atual da titulação” (passando por (i) troca rápidas de prótons e (ii) troca lenta de prótons) e (b) gráfico de cinética de primeira ordem para o sistema complexo [micélio/ Cu^{2+} /água] em pH_{final} 7,27 (para derivação e construção do gráfico e dos parâmetros $[H^+]_{ex,0}$ e k , ver seções de *caracterização fora do equilíbrio*).49
- Figura 2.3.** (a) Espectros Raman de sistemas [micélio] e [micélio/íon metálico]. (b) Compósito de espectros ampliados de sistemas [micélio] e [micélio/íon metálico]. Espectros dos sistemas [micélio], [micélio/ Cu^{2+}] e [micélio/ Zn^{2+}] são apresentados em preto, cinza e cinza claro, respectivamente.54
- Figura 2.4.** Concentração de íons metálicos (Zn^{2+} and Cu^{2+}) em suspensão/solução (filtrado $< 0,2 \mu m$) em pH 2-10 para sistemas [íon metálico/água] e [micélio/íon metálico/água].....60
- Figura 2.5.** Curvas de titulação potenciométrica para sistemas combinados [micélio/íon metálico/água]. Dados experimentais são apresentados usando linhas em cinza-claro (Cu^{2+} , Zn^{2+} , água, [micélio/ Cu^{2+}] e [micélio/ Zn^{2+}]) enquanto que curvas calculadas são apresentadas em linhas cinzas (Cu^{2+} , Zn^{2+} e água) e linhas pretas ([micélio/ Cu^{2+}] e [micélio/ Zn^{2+}]). Função erro para valores calculados: $\sigma_{fit} < 0.04$ (Motekaitis, 1982). Curva de titulação referente à água (titulação de solução padrão de HCl $0,01016 \text{ mol L}^{-1}$) é

apresentada a fim de fornecer comparação qualitativa com os sistemas complexos em estudo.62

Figura 2.6. Diagramas de distribuição de espécies para sistemas complexos (a) [micélio/água], (b) [micélio/Cu²⁺/água] e (c) [micélio/Zn²⁺/água], calculados usando programa Aqueous Solutions (Pettit, 1993). No gráfico (a) linhas pretas representam o componente dominante **D**, enquanto os outros componentes são representados usando diferentes tonalidades de cinza. Nos gráficos (b) e (c), as espécies de complexos metálicos são representados usando linhas pretas enquanto espécies de metal livre, hidróxidos metálicos e ligantes livres são representados usando linhas cinzas.64

Figura 2.7. (a) constante *k* de velocidade de troca lenta de prótons e (b) diferença de concentração de troca lenta de prótons [H⁺_{ex}]₀ para os sistemas complexos [micélio/íons metálicos/água] em função do pH. Sistemas complexos [micélio/água], [micélio/Zn²⁺] e [micélio/Cu²⁺] são representados usando linhas preta, cinza e cinza claro, respectivamente. Valores positivos de [H⁺_{ex}]₀ correspondem a fluxos de prótons do subsistema [micélio/íon metálico] para a fase aquosa. Valores negativos de [H⁺_{ex}]₀ indicam o oposto, fluxo de prótons no sentido da água para o subsistema [micélio/íons metálicos], e/ou o consumo dos prótons pela base titulante adicionada, tal como observado para o sistema [micélio/Zn²⁺/água] em pH 6,3-7,5 (veja *inset* em Figura 2.7b).71

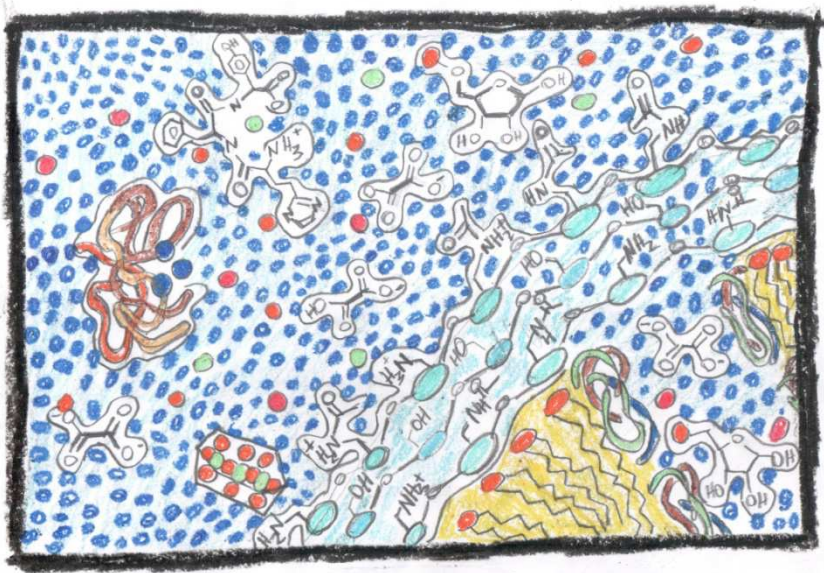
Figura 2.8. Produção de entropia de troca lenta de prótons (*dS/dt*) para processos fora do equilíbrio durante as titulações de sistemas complexos [micélio/íon metálico/água]. Sistemas complexos [micélio/água], [micélio/Zn²⁺/água] e [micélio/Cu²⁺/água] são representados usando linhas preta, cinza e cinza claro, respectivamente. Valores de produção de entropia foram normalizados pela variação de pH entre os pontos sequenciais da titulação (ΔpH^{-1}) e massa do micélio (g⁻¹).73

Tabela 2.1. Atribuições tentativas de sinais maiores e menores dos espectros de espalhamento Raman dos sistemas complexos [micélio] e [micélio/íon metálico] baseados na literatura relevante (Ghosal *et al*, 2012; Wagner, 2009; Suffren *et al*, 2012; Movasaghi *et al*, 2007).56

Tabela 2.2. Constantes de estabilidade condicional (equações 2.6, 2.7 e 2.8) calculadas usando o programa Best7 (Motekaitis *et al*, 1982). Diagramas de espécies são apresentados na Figura 2.6.63

LISTA DE SÍMBOLOS

$\text{pH}_{\text{final } n}$ ou $\text{pH}_{\text{eq } n}$	último pH medido do ponto n da titulação.	adimensional
$\text{pH}_{\text{final } n-1}$ ou $\text{pH}_{\text{eq } n-1}$	último pH medido do ponto $n-1$ da titulação.	adimensional
$\text{pH}_{\text{initial}}$	pH inicial de medida de cinética lenta	adimensional
$[\text{H}^+]_{\text{final } n}$	concentração de prótons $\text{pH}_{\text{final } n}$ ou $\text{pH}_{\text{eq } n}$.	mol L^{-1}
$[\text{H}^+]_{\text{final } n-1}$	concentração de prótons em $\text{pH}_{\text{final } n-1}$, ou $\text{pH}_{\text{eq } n-1}$.	mol L^{-1}
$[\text{H}^+]_t$	concentração de prótons no instante t .	mol L^{-1}
$[\text{H}^+]_{t0}$	concentração de prótons no pH calculado (eq. 2.10 e 2.14) para condição inicial $t0$.	mol L^{-1}
$[\text{H}^+]_{\text{eq}}$	concentração de prótons em pH_{final} , ou pH_{eq} .	mol L^{-1}
$[\text{H}^+]_{t\text{-final}}$	diferença de concentração de prótons entre condição cinética medida em tempo t e tempo final.	mol L^{-1}
$[\text{H}^+]_{\text{ex}t0}$	diferença de concentração de prótons entre condição calculada em tempo $t0$ (eq. 2.11) e tempo final.	mol L^{-1}



SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - TRANSDICPLINARIDADE E ECOLOGIA PROFUNDA: CONTRIBUIÇÕES ÀS CIÊNCIAS DA COMPLEXIDADE

Introdução	17
A Emergência do Complexo	19
Os Sistemas Complexos	23
Padrões e Meta-Padrões	24
Estruturas Dissipativas e Autopoiesis	29
Considerações Finais	36

CAPÍTULO 2 – INVESTIGAÇÃO NO EQUILÍBRIO E FORA DO EQUILÍBRIO DA TROCA DE PRÓTONS E COMPLEXAÇÃO DE Cu^{2+} E Zn^{2+} EM MICÉLIO DE FUNGO *Trametes hirsuta*

Introdução	39
Experimental	41
Modelagem de sistema complexo	44
Resultados e Discussão	52
Conclusão	74
REFERÊNCIAS	77
ANEXOS	83

Este trabalho é um produto de contribuição coletiva, tanto na sua concepção como na sua estrutura literal.

V.R.A. março de 2016

CAPÍTULO 1 - Transdisciplinaridade e ecologia profunda: contribuições às ciências da complexidade



Introdução

Com o objetivo de produzir um texto relevante para a ciência química contemporânea, principalmente em termos de educação, apresentamos uma construção de pensamento que começa pelo exterior do contexto reducionista das ciências chamadas duras. Tal como já enfatizado por diversos pensadores recentes como Edgar Morin e Gregory Bateson, dentro do espírito científico e da atividade de pensamento e produção de conhecimento, deve haver um centro de motivação que, como humanos, tem origem social. Assim sendo, a produção de conhecimento em um meio isolado apresenta um caráter instável e muito provavelmente destinado à degradação ou desuso no que diz respeito ao desenvolvimento coletivo do pensamento. Por esta razão têm-se a decisão de fazer da atividade científica, química ou outra, um processo de criação contínuo de caráter transdisciplinar (Morin, 2005; Bateson, 1986; Bateson, 1987).

Capítulo 1

Contrariamente aos desenvolvimentos multi e interdisciplinar, a proposta transdisciplinar tem como ponto de partida o objetivo de produção ou reformulação de conhecimento na forma de sistema uno e diverso, o que quer dizer que a linguagem adotada para produção de literatura e conhecimento é naturalmente forjada em um ambiente aberto sem qualquer fronteira a respeito de diferentes disciplinas científicas ou não científicas (neste contexto, o multi e o interdisciplinar são relativamente empobrecidos (Morin, 2005; Silva, 1999)).

Tendo em vista tal atividade transdisciplinar, o presente trabalho tem como exigência principal o transborde do ambiente estritamente objetivo das ciências duras como a química e a física. Mesmo assim não deixa de ter a origem e a obrigação de contribuir ao desenvolvimento de tais ciências.

Estabelecida a necessidade do trabalho acadêmico que se apresenta como atividade voltada ao pensamento transdisciplinar dentro das ciências físico-químicas e a formação de integrantes sociais satisfatoriamente acoplados aos, e capazes de incorporar ou se responsabilizar pelos, desafios contemporâneos, deve-se fornecer a oportunidade de experiência em campos do conhecimento negligenciados, principalmente no ambiente das ciências duras, como a filosofia, a psicologia (que competem em geral ao âmbito do pensamento ocidental) e a complexidade cultural (onde a linguagem se torna determinante). Toma-se, portanto, o estabelecimento de que toda atividade, toda prática, submete e é submetida a uma atividade política portadora de uma ecologia que nunca é neutra, ou seja, que, independentemente de sua natureza, não está isenta de interferência ou “consequência” social, ambiental, econômica etc (Morin, 2005; Stengers, 2003; Ferry, 1994).

Embora pouco estudadas nos cursos de ciências, e na educação em geral, importantes contribuições para a relevância generalizada do conhecimento, disponíveis nas bibliotecas ao redor do mundo, serão apresentados a seguir. Obviamente, respeitando a vastidão do conhecimento e da literatura, apresentaremos contribuições que são particulares, mas que são de certa forma portadoras de grande poder de esclarecimento acerca da evolução e diversidade de modos de pensamento e de práticas, que apresentaremos a seguir, mesmo que de forma sucinta.

A Emergência do Complexo

A história e o desenvolvimento da ciência moderna bem como sua recente crise desde o século XX ocupam uma posição importante nas atividades de pensamento transdisciplinares e deve ser discutida, ao menos em termos gerais (Morin, 2005).

A principal origem do conhecimento sistemático remete ao desenvolvimento da linguagem verbal articulada. A complexidade da linguagem passou por diferentes transformações e autoconstruções que podem ser pouco conhecidas, mas hoje ainda formam a essência do pensamento científico. Importantes contribuições da filosofia grega, do conhecimento eclesiástico e/ou religioso, de diversas culturas (em geral conhecidas e responsáveis por grande contra-influência conceitual após as navegações e início dos períodos coloniais), tanto nos contexto de natureza “física” (como na botânica, agricultura, arquitetura, mecânica e artesanaria) ou espiritual (como na medicina e na arte) culminaram no desenvolvimento sólido da revolução e formação da ciência clássica. Todo período que vai desde o início da linguagem verbal ao iluminismo merece estudo e investigação profunda que não será permitido neste texto. Ainda assim, o desenvolvimento apresentado a seguir remete às influências dos períodos citados (Stengers, 2002; Jung *et al*, 1985, 1990, 1995, 2001).

Um dos temas intensamente discutidos na literatura diz respeito ao desenvolvimento conceitual pré-científico e científico, presente no processo de estabelecimento da ciência moderna, de Paracelso, René Descartes e Isaac Newton entre outros. De certa forma a mudança do espírito científico foi acompanhada pela crise social da época e a relação com mistérios e sistemas religiosos. O auge da ciência clássica é atingido quando o desenvolvimento da física matemática celebra a dualidade da natureza através da descrição mecanicista, objetiva. Este momento (período espalhado geograficamente, principalmente na Europa) é pouco anterior ao momento da aparição de contradições não negligenciáveis. As teorias Newtonianas e o surgimento do conceito entropia marcam um dos colapsos do espírito científico clássico. A segunda lei da termodinâmica e a teoria da evolução de Darwin passam também por um choque avassalador para unanimidade da ciência. Talvez por um aspecto sutil de linguagem e comunicação, o pensamento clássico continua sob um desabamento de contradições incessante, que dura enquanto se mantém estritamente um mesmo ponto de vista ou

modo de pensamento (Stengers, 2002; Ferry, 1994; Capra, 2010; Rifkin *et al*, 1980; Maturana *et al*, 1994, 1997, 2005; Prigogine *et al*, 1984a, 1984b).

O primeiro ponto crucial que destacamos é o surgimento, na jovem psicanálise, do pensamento de Carl Jung. Seu empirismo, ao contrário do esquema mecanicista, remete ao sonho como sistema determinante da natureza (obviamente o sonho ganha um caráter holístico que não se resume ao sonho de forma ordinária). A contribuição do onírico primitivo - e do marginalizado por certa moral, pela objetividade recente e consciente e do autômato como descrição ou determinação da realidade - acabou por receber o poder de inundar a concepção do pensamento científico e da experiência científica. Sistemas arquetípicos, extrato primitivo do espírito, marcam na concepção de qualquer pensamento um eixo, um sistema de (des)estabelecimento de simetria ou de capacidade de sentir, característico, não-nulo, provido de identidade capaz de estabelecer individuação. A descrição de arquétipos esclarece a evolução pulsante, e às vezes turbulenta, do espírito na história das sociedades, nas religiões e nas *proto*-ciências como a alquimia, onde os símbolos marcam as estruturas da transmutação e do espírito como individuação. Por outro lado, ainda, no sistema científico clássico, o espírito é forçadamente neutro e não tem importância para uma natureza mutilada (Jung *et al*, 1985, 1990, 1995, 2001; Capra, 2010; Rifkin *et al*, 1980).

A base da importância do sistema primitivo, arquetípico, é também acompanhada pela imanência do espírito. Na alquimia, por exemplo, o espírito é veículo da imanência em si, assim como na arte e também, veremos adiante, nas ciências da complexidade. Estas diferenças esclarecidas com o desenvolvimento do pensamento de Jung permitem (re)transformar as definições mecânicas, indiferentes ao espírito, da ciência clássica, do determinismo físico-matemático, num sistema provido de passado, de história, de individuação, característica e sentimento próprio, capacidade imanente de criar, destruir e recriar.

Esta pequena diferença, acerca da relevância das operações do espírito, permite o desenvolvimento de sistemas de pensamento capazes de assumir contradições, por exemplo, entre entropia e evolução natural, que seriam mais tarde resolvidas e reinterpretadas. Pode-se considerar que Jung tenha sido um dos primeiros cientistas da modernidade com capacidade de esclarecer problemas relacionados à complexidade. Sabe-se, por exemplo, que Isaac Newton era um alquimista fervoroso, mas

provavelmente o determinismo generalizado da época não permitiria uma fácil aceitação entre mistério e científico. Já na época de Jung, ondas de difusão permitiram a cristalização de diferentes pontos de desenvolvimento e sistematização da complexidade. Por exemplo, inversões espirituais/imanentes de Alfred North Whitehead remontam à este período de criação e mudança na ciência. Gaston Bachelard, que segundo Edgar Morin foi o primeiro pensador da complexidade, contribuiu enormemente ao pensamento científico através de uma atividade totalmente mergulhada na exploração dos arquétipos e da imanência e criação espiritual caracterizada por Jung (Morin, 2005; Stengers, 2002; Jung *et al*, 1985, 1990, 1995, 2001; Capra, 2010; Rifkin *et al*, 1980; Maturana *et al*, 1994, 1997, 2005; Bachelard, 1996; Naveh, 2001).

Um importante exemplo da concepção das idéias de Jung é a investigação das características das transformações na alquimia e sistemas de autocriação. O intenso estudo de Jung oferece uma importante e diversa exploração da motivação das atividades de pensamento, da pré-história até Sigmund Freud. Em todos estes momentos da história do pensamento, assim como na alquimia, os símbolos representam a imanência, a vida, o início e o fim. O uróboro, o ouro e a *aqua mercurialis*, são sonhos que vibram em todos os espíritos, mesmo que de formas diferentes. É importante ressaltar o caráter talvez polivalente do termo espírito: em francês *esprit* é sinônimo de mente. Na ciência clássica, nenhum destes símbolos deve merecer classificação de realidade. O que torna a psicologia profunda de Jung relevante é a possibilidade de atribuir vida aos processos objetivos do pensamento. Relevante pela possibilidade de criação e espontaneidade. Relevante pela noção de que a imanência do espírito, a criação de conceitos e linguagem, o sistema primitivo e o arquetípico do/no espírito estão acoplados ao todo, acoplados à inovação e conservação biológica e social (Bateson, 1986, 1987; Deleuze *et al*, 2005; Maturana *et al*, 1994, 1997, 2005).

De fato, o novo espírito científico, a partir do desenvolvimento da psicanálise, da termodinâmica, da matemática moderna e muito bem exemplificada pela atitude de Jung, mostra sua utilidade principalmente às ciências da vida. Alguns anos deveriam passar, ainda no início do século XX, e outros territórios do pensamento começariam a promover semelhantes reformulações. Hoje a criação em química e sua enorme contribuição nas atividades humanas, boas e ruins, passam por uma

necessidade de diversificação, abertura de espaço e compreensão com relação desempenho social do espírito científico. O ponto mais importante e perigoso em caso de falta de compreensão da importância do primitivo e do imanente no espírito aparece na educação e nas atividades de trabalho resultantes dos planos técnicos atrelados à rigidez herdeira da ciência clássica, mecanicista, realista, objetiva estrita e extremamente conservadora, por exemplo, em termos de exacerbação da competição (premissa negativa) como mecanismo de evolução e progresso. A negligência dos aspectos coletivos espirituais e relacionados à vida, que são pontos importantes da obra de Jung, resulta em diferenças substanciais entre o modo de operação da sociedade moderna e o modo como o mundo vivo funciona (Morin, 2005; Bateson, 1986, 1987; Stengers, 2002, 2003; Ferry, 1994; Capra, 2010; Rifkin *et al*, 1980; Maturana *et al*, 1997, 2005; Naveh, 2001; Katz *et al*, 2000; Russel, 1963; Boff, 2003).

Obviamente Jung tratava diretamente da medicina clínica, porém a profundidade de sua abordagem e os aspectos linguísticos destinados aos sistemas complexos da psique, suas estruturas de conservação e emergência, imanência e transformação permitem uma amplificação de uso e adaptação em várias ciências, senão em todas, e em sistemas de experiência relacionados à vida e condição humana.

O simbolismo matemático e as abordagens científicas começam seu caminho diverso de criação. O esclarecimento de Jung permite a valorização digna à subjetividade em termos gerais, que seria imensamente explorada por pensadores como Walter Benjamin ou Hermann Hesse, que já sentiam, assim como alguns outros pioneiros, os efeitos perversos da era moderna objetivista e mal-divorciada das forças da psique, da alma, do espírito (Morin, 2005; Bateson, 1987; Capra, 2010; Maturana *et al*, 1994; Bachelard, 1996; Boff, 2003; Valero, 2001; Hesse, 2001; von Bertalanffy, 1975).

A contradição clara com Freud acerca dos aspectos coletivos e da religiosidade na psicologia de Jung aparece em Whitehead ao assumir o divino, o sagrado e o metafísico no pensamento pragmático e ao conciliar realidade objetiva, experiências sensíveis e o pensamento científico complexo (lembramos que Whitehead tenha sido talvez um dos mais importantes filósofos-matemáticos do século XX). Para o contexto contemporâneo, as consequências das recentes transformações do espírito científico oferecem segurança para esquemas de diversidade de práticas de pensamento e significação. Talvez seja importante já

ressaltar que as portas abertas por Jung oferecem grande utilidade à construção de esquemas de organização e estabilidades de sistemas complexos de caráter holístico, tal como o recente exemplo da agroecologia, ecologia de paisagens e psicoecologia. Ao cientista transdisciplinar, ao ator social, permite a formalização de organização de sistemas de autocoerência social, ecológica etc. Desdobra ou deriva também às contribuições de Ilya Prigogine e também Humberto Maturana, apresentadas na parte final do texto (Bateson, 1987; Stengers, 2003; Ferry, 1994; Rifkin *et al*, 1980; Maturana *et al*, 1994, 1997, 2005; Prigogine *et al*, 1984a, 1984b; Naveh, 2001; Katz *et al*, 2000; Altieri, 1989; Primavesi, 2002).

Os Sistemas Complexos

Antes de chegar aos pensadores selecionados mais atuais vale citar a aparição de um esquema econômico de idéias. Hoje os sistemas complexos são interpretados como sistemas sociais ou sistemas ecológicos profundos (social em termos de conjunto, *ensemble*, não restrito à conjuntos humanos). Neste contexto, as determinações clássicas ou quânticas carecem do caráter vivo da experiência, da novidade e da escolha observada em sistemas sociais/ecológicos. Tais determinações, clássicas ou quânticas, fazem pouca menção ao pressuposto do social, do ecológico e do histórico. Ainda, o erro é interpretado como negativo, pouco importante para a evolução do pensamento (Stengers, 2002; Rifkin *et al*, 1980; Prigogine *et al*, 1984a, 1984b).

A abordagem muda nas teorias dos sistemas. A teoria geral dos sistemas, formalizada por Ludwig von Bertalanffy tem origem na biologia, nas populações e sistemas ecológicos. Para explorar sistemas construídos por grandes números, o erro e a incerteza devem ser enfrentados como pressupostos para o desenvolvimento do conhecimento. No caso da teoria geral dos sistemas a observação e a formalização fazem parte de esquema abstrato cauteloso no contexto da inadequação entre o modelo descritivo e a realidade das experiências (da diferença de como pensamos o mundo e de como o mundo funciona). De forma oposta ao pensamento clássico ou determinista, a descrição sistemática complexa assume que o mapa não é o território, o modelo não é a realidade. Esta premissa é simples e talvez bastante clara, porém sua má compreensão é uma das causas da degradação ecológica massiva

do último século (no qual o pensamento determinista, baseado na verdade, desrespeitando a diferença entre descrição de realidade e a realidade da experiência, esquecendo que o mapa não é o território, é protagonista das “incompreensíveis” contradições dos desastres ecológicos e psicológicos da mineração, da indústria do petróleo ou agricultura e de uma esquizofrenia generalizada)(Bateson, 1986, 1987; Capra, 2010; Rifkin *et al*, 1980; Prigogine *et al*, 1984a, 1984b; von Bertalanffy, 1975).

Se pudermos incluir a psique, individual e coletiva, na ecologia, os problemas/soluções que motivam as atividades humanas remontam aos problemas/soluções em ecologia, de vários tipos. Diferentemente de máquinas e corpos em inércia, a teoria geral dos sistemas se apoia na significação e elaboração de padrões e esquemas de ritmos em condição incerta do devenir. Há um sentido de cautela na formalização, pois o desempenho de investigação de sistemas abertos enfrenta diferenças e novidade em emergência. Isto quer dizer que a investigação de sistemas abertos, sistemas ecológicos, populações, redes tróficas, cidades, esquemas cibernéticos e/ou células, enfrentam mudança, escolha, arbitrariedade, afinidade, ritmo e incerteza. Portanto o pensamento do cientista que se utiliza de sistemática complexa cria sempre esquemas aproximados, de atualização, de investigação de erro, discernimento entre percepção e ilusão, relevante ou não. Tal como para um termostato, a informação (a percepção, a verdade) que importa é a temperatura. Para o cientista de sistemas define-se o conjunto do que é importante, o número de grandes mamíferos, o teor de CO₂ no sangue ou na atmosfera, razão morte/nascimento, densidade de precipitação, etnias, simbioses etc. A linguagem necessária para que o trabalho se desenvolva é o estabelecimento de correlações entre as diferenciações que são importantes, que são relevantes, a formação de meta-padrões de Gregory Bateson (Bateson, 1986, 1987; Stengers, 2002, 2003; Naveh, 2001; Katz, 2000; Russel, 1963). Passemos ao ponto onde a complexidade ganha muita importância na atualização e autoconstrução de conhecimento.

Padrões e Meta-Padrões

De acordo com o sistema de descrição abstrata dos observáveis que importam, que são relevantes, à criação de conhecimento e a produção de versões da realidade objetivas passam pelo processo de

significação simbólica e representação do que é tido como dado na experiência. O sistema científico como sistema de referência tem necessidade de definição também do que não é dado na medida, na experiência ou observação. Este é o papel da conceituação e do estabelecimento de eixos ou padrões de reconhecimento, de estabelecimento da natureza das diferenças. No campo das ciências da complexidade, este trabalho começa pela classificação e sistematização coordenada de conceitos (Bateson, 1986, 1987; Stengers, 2002; Deleuze *et al*, 2005; Maturana *et al*, 1997; von Bertalanffy, 1975).

Visto que o mundo não é, de forma alguma, um sistema homogêneo, imparcial (tal como prevê a primeira impressão da segunda lei da termodinâmica e a tendência ao equilíbrio), e que o mundo permite a reciprocidade da experiência sensível e coerência para formação de símbolos, utilizados na atribuição, observa-se um desdobramento complexo de processos de estabelecimento de relevância. Para uma borboleta o gradiente ou a distribuição de certos aromas, hormônios, é um dos parâmetros que importam para o seu vôo discreto. O trabalho de identificar onde ou como acontece o processo de reconhecimento e classificação da borboleta nos leva aos problemas levantados pela epigênese. Ou seja, como provavelmente a borboleta não aprendeu a reconhecer o importante depois de certa idade e como provavelmente seus ancestrais viviam em sistemas que não eram o mesmo onde vive a nossa borboleta, a problemática epigenética se faz necessária visto que os sistemas genéticos ou fenotípicos fazem pouco sentido para grande parte da experiência sensível e a escolha (clausura operacional) da borboleta (Bateson, 1986; Stengers, 2002; Jung, 1985, 1990; Maturana *et al*, 2005; Prigogine *et al*, 1984b).

Fica claro que o estabelecimento da escolha tem a necessidade de um esquema de diferenciação criado pelo observador em sua ontogenia, em sua correlação com o todo físico e simbólico. No caso da borboleta, podemos dizer que sua experiência é inerente ao que ela é e que suas escolhas são inerentes aos sistemas fundamentais de conservação que importam para a borboleta em sua clausura operacional. O importante forma o corpo da diferença para a borboleta, e assim a borboleta escolhe, discerne. O discernimento, a primeira vista simples para uma borboleta, é o estabelecimento da diferença, informação do que importa, e que forma sempre um padrão, *pattern*.

A sistemática de discernimento da borboleta é homólogo a sistemática alicerce de discernimento científico complexo. Assim como

no sistema científico, a borboleta mantém um complexo interno de discernimento capaz de orientar sua escolha de percepção e distanciamento do engano, do erro ou da ilusão. Isto quer dizer que na experiência humana, que está longe de ser um sistema simples em todo caso, o estabelecimento do que importa, o reconhecimento da diferença toma a dimensão de um complexo. Assim como na borboleta, o complexo de discernimento é descrito por Bateson como um sistema de padrões de padrões. A borboleta conhece (faz a diferença, digamos assim) o aroma. A borboleta também faz a diferença dos ritmos circadianos adequados para sua busca, para seu propósito. O complexo de padrões de padrões inerentes às ações de discernimento são chamados meta-padrões, *meta-patterns*. Talvez aqui seja importante enfatizar que mesmo a atividade formalmente não-científica da borboleta, de um elefante que interage ao meio de uma floresta, de um agricultor artesanal ou de um aborígene, é neste contexto, classificada como científica complexa baseada em atualização de padrões e meta-padrões de informações, de diferenças. É estabelecido o que importa bem como as correlações objetivas e subjetivas do devenir (do viver, do organizar, do progredir ou do evoluir)(Bateson, 1986, 1987).

Através deste tipo de impossibilidades e contradições da ciência clássica, entre determinismo e incerteza, é que a ciência da complexidade toma posição para o esclarecimento do problema da observação e do propósito consciente. Situações quotidianas consideradas simples, tal como atravessar a rua, podem atingir elevado grau de incerteza, dependendo do sistema de discernimento na ação de atravessar a rua. Após uma longa sessão de experimentação em laboratório de ilusões ópticas, Gregory Bateson afirma: “não me sinto preparado para atravessar a rua com segurança” (talvez, poderíamos nos perguntar: “qual é a certeza acerca dos efeitos da mineração massiva tão quotidiana?”). A redundância faz do quotidiano algo pouco ilusório e as percepções ganham certeza, o que é contrário no contexto de sistemas de novidade. Assim podemos nos apoiar na diferença como meio de ponderação entre ilusão e percepção. Sistemas monótonos ou redundantes tinham talvez maior relevância para o desenvolvimento da física clássica, o que não se repete para as ciências que se desenvolveram após o início da crise científica do século XX (Bateson, 1986, 1987; Stengers, 2002; Prigogine *et al*, 1984b; von Bertalanffy, 1975).

Podemos nos perguntar quais as diferenças que podemos perceber numa sala ou mesmo numa floresta, e logo vamos chegar à condição de uma espiral de diferenciação que atinge regiões tão profundas que ilusão e percepção trocam de papel mais rapidamente que o próprio poder de discernir. Isto quer dizer que a diferença, por exemplo, a caracterização da diferença entre bananas e laranjas, é um conceito útil e arbitrário. Num pedaço de giz, as diferenças são tantas que a descrição arbitrária do giz a partir de um observador é tão exigente que o processo em geral é restrito a um pequeno grupo de diferenciações (cor e dureza, por exemplo) e, por consequência de diferenciação consciente, a complexidade do giz passa por um processo de simplificação (Morin, 2005; Maturana, 1997; Bachelard, 1996).

Tocaremos num exemplo prático da diferença num contexto ecológico ou de paisagem, mas antes um grupo de exemplos mais simples. Sabe-se que quando uma válvula entre dois compartimentos de gás com diferentes pressões é aberta, a pressão do sistema composto pelos dois compartimentos atinge um equilíbrio. Alguns momentos após a abertura da válvula não haverá mais diferença de pressão entre os dois compartimentos. As diferenças são nulas. Em termos de pressão de gás, não há diferença e não é possível obter informação do sistema como um todo. O mesmo ocorre quando amanhece ou anoitece. A pressão de fótons aumenta ou diminui. Caso não houvesse variações, diferenças na pressão de fótons de um compartimento para outro, de um lado do globo terrestre para o outro, no caso da incidência solar na Terra, um tipo de equilíbrio inconcebível seria observado. Na condição ideal de equilíbrio, que não passa de uma condição ideal (condição na qual observação, observado e observador seriam impossíveis) não existem forças, não existe nenhum mecanismo de movimento ou transformação, não existem diferenças de nenhuma natureza (Bateson, 1987; Prigogine *et al*, 1984b).

No contexto de paisagens e sistemas ecológicos, nosso esquema de atualização de realidade e experiências trabalha de acordo com as diferenças que somos capazes de sentir, e de certa forma discernir como informação. Isto implica numa condição nunca estática, sempre em movimento e caracterizado por diversidade, diferença. Estas diferenças dependem de forças de manutenção que, por exemplo, no caso de sistemas ecológicos biosféricos são majoritariamente compostas pela contribuição de duas diferenças, ambas em relação ao espaço frio: o decaimento nuclear das regiões internas da Terra e a fusão nuclear do

Capítulo 1

Sol. Em conjunto com os campos eletromagnéticos e gravitacionais, são as fontes majoritárias de diferença para manutenção de sistemas também formados por diferença, passíveis de percepção, distantes de qualquer equilíbrio ideal.

Chegamos ao exemplo importante que diz respeito às diferenças dos sistemas ecológicos. Na medida em que há força para o movimento organizado, anisotropia complexa (explorados na última parte do texto), sistemas característicos são formados e reformados. O principal exemplo foi dado por Darwin e sua teoria da evolução. Enquanto há força, novas diferenças podem surgir. Podemos comparar a condição das florestas climáticas, em estados de clímax de alta complexidade, e uma possível condição de origem de sistemas unicelulares relativamente pouco variáveis e pouco biodiversos nos oceanos antigos. Os padrões de diferenciação num sistema pouco diverso são próximos às condições dos compartimentos de gás após a abertura da válvula em pseudo-equilíbrio. Se, hipoteticamente, o oceano antigo for povoado por uma única espécie de seres unicelulares podemos atribuir, mais claramente, uma única diferença conceitual: a diferença entre água salgada e células similares. Podemos dizer que o padrão de complexidade deste sistema é pobre, ainda mais se comparado com um sistema oceânico extremamente biodiverso ou uma floresta em estados climáticos.

Caso tenhamos o objetivo de fazer a diferenciação do sistema florestal devemos começar uma construção de diferenças e padrões de diferença, obter informações. Plantas e animais, pequenos e grandes, com flor e sem flor, e assim por diante, tornando a construção de padrões em esquemas de meta-padrões de diferenciação. Na verdade, este sistema de diferenciação remete a origem de sistemas perceptivos sem data conhecida e, no caso humano, começa provavelmente com sistemas primitivos e a formação de símbolos que residem na imensidão arquetípica evidenciada por Jung, e que só muito depois passa aos estágios propositais de discernimento consciente (Bateson, 1986, 1987; Jung, 1985, 1990; Maturana *et al.*, 1994, 2005). Organização, negentropia e complexidade, assim como as teorias de complexificação da biologia devem convergir portanto afirmando a diversidade como parâmetro determinante do devenir.

Por isso nos permitimos uma pincelada de crítica a um dos resultados pseudo-acidentais da engenharia genética, em relação com outras atividades humanas de esfera política e econômica capazes de propiciar fenômenos massivos de homogeneização, de degradação da

organização (no verdadeiro sentido do termo e não o contrário), como observados na região central do Brasil através das monoculturas. Tais contradições são motivos mais que claros da necessidade de desmobilização e recriação de padrões de percepção esclarecidos de tais ilusões conceituais contraditórias acerca do estado e natureza de processos homogeneizantes. Esta crítica é importante, pois ela cobre vastas regiões conceituais da prática social, principalmente as correlações da atividade científica como um todo (Morin, 2005; Stengers, 2003; Boff, 2003).

As construções Junguianas de Gregory Bateson são também observadas na construção de importante conceituação de comportamento de sistemas baseados nas correlações de diferença denominados autopoieticos. Na parte final, a seguir, vamos mostrar como as contradições, entre o estopim de Darwin e a segunda lei da termodinâmica, iniciaram um processo de retrocesso que permite hoje a frutificação de uma importante valorização da diversidade biogeológica e também epistemológica e científica, tal como observado na imanência da agroecologia e outras práticas transdisciplinares (Morin, 2005; Silva, 1999; Stengers, 2003; Naveh, 2001; Katz *et al*, 2000; Altieri, 1989).

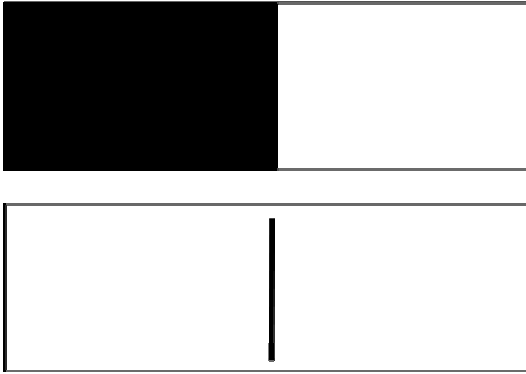
Estruturas Dissipativas e Autopoiesis

O exemplo dos compartimentos de gás oferece um bom ponto de partida para concepção de convergência entre evolução e produção de entropia.

Tal como centro da presente discussão, como por exemplo, nos dois compartimentos de gás, a diferença pode ser utilizada novamente para construção de uma descrição interessante no contexto da convergência que queremos evidenciar. Qualquer descrição complexa deve começar pelo estabelecimento da(s) diferença(s), tal como representado na Figura 1.1.

A diferença pode ser representada por uma linha (Figura 1.1 abaixo) que estabelece a fronteira entre dois sistemas com intensidades ou características diferentes. A segunda lei da termodinâmica e a irreversibilidade, que já anteriormente apresentavam contradição em relação a não temporalidade da física clássica (reversível), define que toda diferença, propriedade dos sistemas que podem realizar trabalho e que define energia útil, tende a se degradar e se transformar em energia inútil.

Figura 1.1. Protótipos de diferença ou ausência de equilíbrio (acima) e fronteira ou estabelecimento de diferença (abaixo).



É dizer que o sentido da evolução de sistemas diferenciáveis aponta para a homogeneização. No caso dos compartimentos de gás, ou das representações acima, o sentido de evolução permitido tende ao equilíbrio, e qualquer fronteira torna-se nula. A contradição primeira com a biologia e a teoria da evolução é clara e tornou obscura a coerência entre sistemas que se degradam (como a tendência ao equilíbrio dos compartimentos de gás) e sistemas que aumentam a organização e a complexidade de diferenças e fronteiras (biosfera). O exemplo mais importante para este sentido de complexificação e aumento da organização, aumento das diferenças, multiplicação de fronteiras é a formação de células biológicas (que não necessitam de uma viagem contrária ao tempo para sua formação)(Prigogine *et al*, 1984a, 1984b).

O mesmo tipo de sistema de diferenças pode ser exemplificado por uma camada de água em contato com uma placa de metal quente, de um lado, e uma placa de metal fria do outro. Em condições brandas, o fluxo de calor da fonte quente para a fonte fria ocorre através de condução em meio aquoso em primeira instância homogêneo, sem diferenças ou fronteiras, que não apresenta convecção ou turbulência, ou seja, o movimento da água é aleatório e o conjunto, *ensemble*, possui dinâmica isotrópica (o somatório dos vetores de movimento é nulo) e é neste sistema que o fluxo de calor acontece. O comportamento do

sistema parece atribuir preferência à descrição linear homogeneizante da entropia, a energia tende a se dissipar de forma linear e atingir o equilíbrio. A branda diferença de temperatura das placas, caso não seja fornecido mais calor pela fonte quente, vem a se equilibrar sem maiores perturbações às propriedades macroscópicas homogêneas da camada de água. Esta simplificação ignora um segundo nível de fenômenos que se apresentam além das condições de perturbações brandas (Prigogine *et al*, 1984a, 1984b).

Quando as condições de perturbação são exageradas nos sistemas, a dissipação de energia, produção de entropia global, assume formas extremamente naturais mas pouco usuais para as descrições da ciência clássica, que são os fenômenos de convecção e turbulência.

Quando a diferença de temperatura das placas em contato com a água excede a capacidade da água de conduzir calor, o *ensemble* da água, anteriormente em estado de dinâmica isotrópica, entra em um estado primeiramente meta-estável, e em seguida (esta transição é talvez o ponto mais importante para a diferença entre a ciência determinista e a ciência da complexidade em termos da ênfase da necessidade de consideração de sistemas de escolha, de novidade, de incerteza, de colapso, derivação, história, evolução e desdobramento temporal quantizado e/ou discreto) observa-se a formação de fronteiras, organização, movimentos anisotrópicos coerentes, ondas locais de movimento, turbulência e formações de padrões homólogos aos padrões de formação de fronteiras observados na germinação e crescimento de sementes e mudas de plantas, tornados e outros sistemas biológicos e ecológicos. Podemos já estabelecer que neste segundo nível de perturbações, a formação de fronteiras, que a primeira vista vão contra a marcha da produção de entropia, são na verdade formações de fronteiras locais que consomem energia disponível em excesso, não através de uma dissipação linear (de calor ou de pressão de gás) e sim através de formação de sistemas locais organizados como as correntes de convecção (que demandam a organização e coerência de movimento de bilhares de moléculas de água, por exemplo), formação de fronteiras, diferenças geométricas e materiais. Localmente estes sistemas organizados são caracteristicamente negentrópicos, sua organização aumenta, mas globalmente o papel da formação destes sistemas é exatamente o papel, nos conceitos filosófico-científicos, de produzir entropia, dissipar e consumir energia útil global, de acordo com a segunda lei. Não pretendemos explorar toda a riqueza de detalhes destas

Capítulo 1

descrições, mas devemos citar que este foi um dos motivos da consolidação da convergência entre as teorias de Darwin e a entropia na qual Ilya Prigogine foi, na físico-química, talvez o mais reconhecido contribuinte (Maturana *et al.*, 2005; Prigogine *et al.*, 1984a, 1984b).

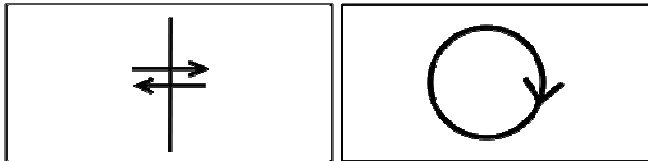
É interessante neste contexto explorar a contribuição da concepção da teoria da *autopoiesis* construída por Francisco Varela e Humberto Maturana que, além de enriquecer a recente convergência e superação de uma contradição delicada, propiciou a consolidação de um campo de atividade de práticas sociais (social como um *ensemble*) profundas e extremamente vivas, em termos de criação e complexificação, das quais Carl Jung e/ou Gregory Bateson muito se ocuparam (Bateson, 1987; Jung, 1990; Maturana *et al.*, 2005).

Naturalmente imersos no mundo de organizações e complexidades biológicas, von Bertalanffy, Bateson e Maturana, oferecem, e muito bem, modos de abordar a complexidade com elegância e humildade, visto a necessidade das simplificações e tranquilidade acerca da não necessidade de transformar a ciência moderna e a ciência da complexidade em um sistema de criação de argumentos coercitivos. São abordagens extremamente educativas, no sentido de colocar em evidência a escolha como ente conceitual pertinente (Bateson, 1986, 1987; Maturana, 1994, 1997; Katz *et al.*, 2000; von Bertalanffy, 1975). Como? Responderemos esta questão principal com o último exemplo, a seguir, da formalização específica de Humberto Maturana.

Quando um sistema pode ser descrito por sua diferença, significando que o sistema implica um relativo, ele também pode ser descrito como uma fronteira que trata os componentes diferentes como a relação. A característica dos sistemas diferentes, diferenciáveis e atuais, que apresentam uma história, devem apresentar também uma característica de estabilidade que é bem apoiada na persistência de seres vivos e sistemas ecológicos, que mantém sua organização em dinâmica estrutural ao longo da história. É exatamente aí que temos a definição de sistemas relevantes no que diz respeito à vida como sistemas capazes de se manter estáveis, organizados sob variação estrutural, através da produção de si mesmos. Portanto, a diferença que a organização de um sistema atual coloca em evidência adquire propriedade de devenir, vir à ser, no futuro, uma derivação de si mesmo e assim manter a organização e a diferença de um mundo correspondido por correlações, sob acoplamentos estruturais (Maturana *et al.*, 1997, 2005). Como já

observamos acima, é necessário excesso de energia que permite manter a diferença: se as placas térmicas atingem uma condição branda de fluxo de calor, normalmente a camada de água (geometricamente/macrosscopicamente homogênea) será capaz de dissipar toda a energia sem sobras para formação de sistemas coerentes anisotrópicos, fenômenos espontâneos de formação de fronteira, convecção ou turbulência. Isto quer dizer que, em condições significativamente distantes do equilíbrio (*far from equilibrium*), com energia disponível em excesso, sistemas coerentes anisotrópicos são responsáveis por dissipação de energia, gestão de fluxo. Ou de forma bem clara: são fronteiras que fazem gestão de fluxos para produção de si mesmos, são sistemas autopoieticos (Maturana *et al.*, 2005; Prigogine *et al.*, 1984b). A Figura 1.2 demonstra a introdução da teoria da *autopoiesis*. Convergem criação, manutenção e transformação de sistemas negentrópicos.

Figura 1.2. Fronteira e respectivo fluxo (esquerda) e fronteira autopoietica e fluxo de manutenção de autocriação (direita). A formação da fronteira autopoietica, em clausura operacional, deve ser resultado de organização em condição de excesso de energia.



Como a entropia é estabelecida fundamentalmente na estatística de Boltzmann, a diferença implica uma probabilidade. A probabilidade de uma diferença é a multiplicação da probabilidade das diferenças dos componentes ou subcomponentes (em dois compartimentos de gás podemos ter o compartimento A e o compartimento B ou como na Figura 1.1). Já a entropia do sistema, que apresenta sua(s) diferença(s), é a soma das entropias dos componentes (A, B, ...).

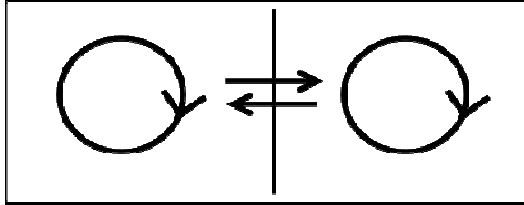
$$S = k \ln W \quad (1.1)$$

Na Equação 1.1, a entropia do sistema $S = S_A + S_B$ e a probabilidade do sistema $W = W_A \cdot W_B$, implicam uma relação

logarítmica. Temos assim a informação $I = -S$. A ciência do complexo pode construir portanto seu plano de referência, pode fazer comparações entre seus sistemas de descrição a partir das diferenças, improbabilidades observáveis que importam e suas respectivas dimensões (no caso físico-químico de diferenciação e parametrização de Boltzmann, $k = 1.38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$) (Prigogine *et al*, 1984a, 1984b).

Além da descrição estritamente físico-química, os modelos de complexidade podem e devem operar através de planos de referência e de determinações de diferença variados (os modos de abordagem podem e devem variar) quer dizer, em casos como a psicologia, onde as diferenças não são comparáveis como as massas e distâncias da física clássica, são necessários outros modos e símbolos de operações descritivas, mantendo homólogo o processo de construção de modelos e atualização de conhecimento e obtenção de informação e diferenças. O exemplo da psicologia ou da psicanálise, como jogo de determinação de modelos que mudam, não é muito mais complexo que a investigação de sistemas de biodiversidade e redes (agro)ecológicas. Em termos de sistemas de acoplamento com o universo atual, as experiências em praticamente todas as ciências, o que inclui atividades coordenadas por animais ou placas tectônicas, podem ser interpretadas como modelagem simbólica do que importa para o ator social, que joga no *ensemble*, em células ou sistemas em extratos superiores de complexidade, como as florestas ou galáxias. E assim, tudo que é percebido na experiência pode ser descrito como um nó entre sistemas autopoéticos em acoplamento estrutural. Seu acoplamento estrutural quer dizer que enquanto atuais, ou seja, vivos, presentes na experiência de um relativo ou presente no universo de outros diferentes, o acoplamento permite a manutenção da relação e da diferença. Caso o acoplamento termine o sistema morre, colapsa e termina seu período de atualização dentro dos ritmos de mudança do cosmo em que surge (Morin, 2005; Stengers, 2002; Jung, 1985, 1990, 1995, 2001; Maturana et al, 1994, 1997, 2005; Naveh, 2001; von Bertalanffy, 1975; Altieri, 1989; Primavesi, 2002). A Figura 1.3 destaca a complexidade como a possibilidade da ploriferação de diferenças, aumento de informação, evolução de sistemas que se tornam mais complexos, que compartilham um maior número de diferenças e atualizações coerentes, tal como o turbilhão de água quente permite a formação de sistemas anisotrópicos portadores de energia transformada em organização, diferenças determinadas e informação, personalidade e sensibilidade social em seu *ensemble*.

Figura 1.3. Relações de acoplamento estrutural na manutenção de estados de atualização de sistemas autopoieticos.



Sensíveis assim como a camada de água entre placas térmicas. Quando os subcomponentes do *ensemble* da camada de água apresentam diferenças de densidade exageradas, a força gravitacional exerce sua presença na transformação discreta, particular, própria e única de um movimento novo, uma convecção nova, com suas características e diferenças próprias (na camada de água em equilíbrio macroscópico a força da gravidade tem pouca influência em termos de evolução). Tais particularidades são sensibilidades e o determinismo clássico é então substituído pelo jogo da complexidade. Este jogo é o equivalente da clausura operacional em acoplamento estrutural dos sistemas autopoieticos de Maturana. Se relacionando, os atores, os sistemas autopoieticos, empregam seu linguajar (clausura operacional) no acoplamento estrutural do devenir, do processo de evolução dos sistemas complexos, biosféricos e sociais. O termo clausura operacional é interessante, pois exalta a autodeterminação dos sistemas autopoieticos, sua sensibilidade e seu poder de escolha, ainda que sob restrições, *constraints*, dos *ensembles* superiores (Maturana *et al*, 1997, 2005; Prigogine *et al*, 1984a, 1984b). Estes são alguns dos pontos densos da obra de Maturana. Após intenso trabalho em ontologia da realidade as contribuições de Maturana, e de outros acima citados, continuam a oferecer grande poder de frutificação de sistemas organizados adaptáveis, resilientes, principalmente em educação e (agro)ecologia, onde tais contribuições e concepções tem sido muito utilizadas (Stengers, 2002; Maturana *et al*, 1994; Katz *et al*, 2000; Altieri, 1989; Primavesi, 2002). Talvez seja esta a contribuição essencial do presente trabalho: disponibilizar, tanto na forma de ensaio bem como coletânea de sólidas construções conceituais e literatura, bases para novas atualizações e modos de pensar e existir.

Considerações Finais

A sistemática articulada descrita acima fazem da biologia e da ecologia da linguagem um ambiente rico para a possibilidade de desenvolvimento de modelos que trabalham sobre a atualização da concepção de acoplamento estrutural e devenir de atores sociais e seus cosmos.

Para a química, origem da atividade de pensamento do presente trabalho como contribuição técnica-conceitual, os fatores de escolha, a exaltação da (bio)diversidade e do devenir como máximas no pensamento permitem um processo contemporâneo caracterizado pelo encantamento, pela valorização do complexo tanto no contexto físico-químico como no caráter epistemológico das práticas e da linguagem. Sentido a uma ecologia de práticas transdisciplinares (Silva, 1999; Stengers, 2003; Rifkin, 1980; Maturana, 1997; Naveh, 2001; Altieri, 1989). Assim como é a agroecologia, exaltada por Isabelle Stengers como uma teoretização germinada na ecologia de práticas, justamente um hot-spot de desenvolvimento da contribuição da química como ciência transdisciplinar e principalmente para o desenvolvimento da educação. Por último, concluímos que cultura, como ação de cultivo e como ambiente de diversidade e de particularidades, é talvez o ponto em que os meta-padrões e a construção do atual oferecem as bases para novos modos de viver e de funcionar com o mundo (Bateson, 1987).



CAPÍTULO 2 – Investigação no equilíbrio e fora do equilíbrio da troca de prótons e complexação de Cu^{2+} e Zn^{2+} em micélio de fungo *Trametes hirsuta*

Introdução

A complexidade de sistemas naturais, tal como a biosfera, demanda a criação de novas vias de pesquisa e desenvolvimento de conhecimento (Naveh, 2001; Prigogine et al, 1984b). No século passado, o desenvolvimento da teoria geral dos sistemas proporcionou uma larga base para a “ecologia de práticas” nas ciências da terra e ciências humanas (von Bertalanffy, 1975; Stengers, 2002; Morin, 2005; Bateson, 1987). Nesse sentido, propomos a prática específica de *desenvolvimento de modelos* relevantes em biogeoquímica e também para investigação transdisciplinar. Para isso, exploraremos um modelo de descrição físico-química de um subsistema específico de solos - [micélio/ions metálicos/água] - e os fenômenos ubíquos associados envolvendo troca de prótons e interações com ions metálicos.

Um sistema complexo é um conjunto que não pode ser reduzido a uma descrição fundamental e que, visto o grande número de componentes e relações, não permite caracterização completa (von Bertalanffy, 1975). Considerando os solos como sistemas complexos compostos por minerais rochosos, água intersticial, gases, micro e macroorganismos e material orgânico etc, observa-se que os solos compartilham características que se sobrepõem conceitualmente com as características do que hoje chamamos de vida (Altieri, 1989; Whitfield, 2007; Primavesi, 2002). Um sistema pode ser considerado vivo quando capaz de transformar energia externa num processo de manutenção interna e (re)produção de seus constituintes. O conceito “solo vivo” é bem ilustrado pela presença ubíqua de vastas redes miceliais na maioria dos solos (Gadd, 2004; Gow *et al*, 1999; Bonneville *et al*, 2011; Simard *et al*, 2012). As comunidades ramificadas de micélio contribuem crucialmente para a obtenção de água e nutrientes em plantas, degradação de matéria orgânica e transformação de minerais, processos envolvidos na formação de solos em escala de tempo geológico. Redes fúngicas são, portanto, essenciais para manutenção de sistemas biosféricos terrestres em evolução/mudança fora do equilíbrio (Whitfield, 2007; Gadd, 2004; Gow *et al*, 1999; Bonneville *et al*, 2011;

Simard *et al*, 2012; de Almeida *et al*, 2013; Carlile, 1994; Harris *et al*, 2009).

A macro-estrutura somática dos fungos (hifa) é composta por células tubulares. A parede celular é composta de polímeros fibrilares - principalmente quitina, quitosana e glucanas - propiciando rigidez e outros sub-sistemas de matriz – manoproteínas, glucanas e ácido urônico – que cobrem e cruzam os componentes fibrilares da estrutura polimérica. Uma importante característica dos fungos é a excreção de ácidos orgânicos, prótons, oligopeptídeos, carboidratos e enzimas no ambiente próximo, entre outras substâncias, responsáveis por (i) degradar matéria orgânica, (ii) favorecer a liberação de nutrientes a partir de minerais, (iii) interagir com a microbiota do solo e (iv) co-reagir em mudanças ambientais (Primavesi, 2002; Gadd, 2004; Gow *et al*, 1999; Carlile *et al*, 1994; Harris, 2009). Algumas outras características químicas serão apresentadas abaixo na seção de discussão. O primeiro destaque importante a ser feito é a extensa heterogeneidade na estrutura e organização do micélio fúngico. Tal heterogeneidade torna-se ainda mais significativa quando se toma em conta a habilidade simbiótica de redes fúngicas com plantas, algas, cianobactéria e etc, em diversas condições naturais (Whitfield, 2007; Bonneville *et al*, 2011; Simard *et al*, 2012; Carlile *et al*, 1994; Harris, 2009; Ferrera-Cerato *et al*, 1997).

Deve-se também destacar a atividade dos fungos em relação a íons metálicos. Cresce a literatura que descreve a capacidade de fungos de ligar, transportar, precipitar e transformar íons metálicos (tóxicos ou bio-essenciais, dependendo da concentração e tipo de metal) em ambiente natural ou artificial (reatores químicos, sistemas de remediação e tratamento de efluentes e etc). As vias de interação mais frequentemente propostas para interação de íons metálicos e sistemas fúngicos estão baseadas na (i) exsudação ativa de substâncias solúveis (ácidos orgânicos, fosfatos, sideróforos, oligopeptídeos e etc) com propriedades complexantes e/ou de oxido-redução e (ii) complexação passiva de metais nas estruturas mais heterogêneas do micélio como a parede e a membrana celular, principalmente quitina e glicoproteínas (Gadd, 2004; Gow *et al*, 1999; Bonneville *et al*, 2011; Carlile *et al*, 1994; Niu *et al*, 1993).

Diversas técnicas são usadas para investigar as interações íon metálico/micélio, incluindo métodos espectroscópicos (técnicas síncroton, tal como Estrutura Fina de Absorção de Raios-X Extendida

ou EXAFS) e técnicas eletroquímicas (potenciometria e voltametria) entre outras (Gadd, 2004; Gow *et al.*, 1999; de Almeida *et al.*, 2013; Carlile *et al.*, 1994; Niu *et al.*, 1993; Naja *et al.*, 2005; Sanna *et al.*, 2002; Fomina *et al.*, 2007). Numa recente revisão acerca de fenômenos de biosorção e pesquisa relacionada, Michalak *et al.* destacam que “o pH é um dos parâmetros chave que influenciam não apenas a dissociação de sítios, a química de solução de íons metálicos, hidrólise, complexação por ligantes orgânicos e inorgânicos, reações redox ou precipitação, como também influencia fortemente a especiação e a afinidade de biosorção de íons metálicos” (Michalak *et al.*, 2013).

Embora a potenciometria seja largamente usada para o estudo de propriedades físico-químicas de grande variedade de organismos vivos, propomos aprimorar suas aplicação através da concepção sistêmica metodológica e de interpretação de dados. Desta maneira acoplamos titulações potenciométricas clássicas com perfis de resposta de pH fora do equilíbrio a fim de obter informações sobre o comportamento de sistemas fúngicos em função do pH e suas interações com Zn^{2+} e Cu^{2+} .

Experimental

Sistema complexo modelo

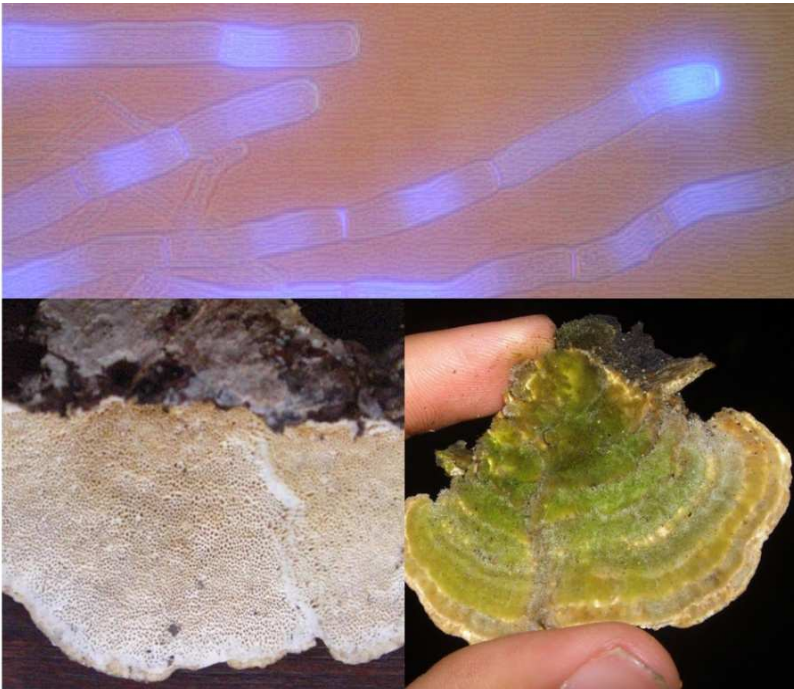
O procedimento da investigação foi iniciada com o cultivo da espécie de fungo basidiomiceto ubíquo *Trametes hirsuta*, um degradador de madeira (Figura 2.1). No laboratório, pequenos pedaços do corpo de frutificação do fungo foram colocados numa placa de Petri esterilizada contendo meio de cultivo de gel de agarose (3% em água potável). Após uma semana de crescimento, o micélio foi transferido para frascos de Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de meio de cultivo líquido: extrato de batata (solução filtrada de batata cozida, 200 g L⁻¹) e açúcar mascavo (4% massa/volume). Após duas semanas de crescimento em temperatura ambiente, alíquotas do meio de cultivo foram observadas usando microscopia óptica e de fluorescência para assegurar a pureza da cultura fúngica. Uma alíquota de micélio de fungo coletado foi colorida usando corante fluorescente à base de Aglutinina de Gérmen de Trigo (Wheat Germ Agglutinin, Aldrich) que apresenta grande especificidade por quitina (Bonfante-Fasolo *et al.*, 1990). Não foi

Capítulo 2

observada presença de bactérias enquanto uma forte fluorescência mostrou-se visível em cada segmento de hifa observado (Figura 2.1).

O micélio foi então coletado do meio de cultivo líquido, adequadamente lavado com água destilada e finalmente seco a 35 °C durante 72 horas. O material micelial desidratado foi gentilmente macerado e armazenado numa placa de Petri esterilizada dentro de um dessecador (a biomassa de micélio mostrou-se viável por no mínimo 3 meses). O material micelial resultante foi então submetido à perturbações através de titulações potenciométricas e espectroscopia Raman tal como se segue.

Figura 2.1. Microscopia de fluorescência confocal do micélio cultivado (método de coloração é descrito em Bonfante-Fasolo *et al.*, 1990) e fotografias de basidioma (corpo de frutificação) da amostra coletada de fungo *Trametes hirsuta*.



Titulações potenciométricas

Antes das titulações com as amostras de interesse, o sistema potenciométrico foi calibrado através da titulação de 40 mL de HCl 0,01016 mol L⁻¹ (força iônica KCl 0,1 mol L⁻¹) com NaOH 0,1151 mol L⁻¹ livre de CO₂ numa cela potenciométrica de 100 mL a 25 °C, sob agitação e com fluxo de N₂ previamente lavado em duas torres de lavagem de gás de 500 mL contendo 300 mL de NaOH 0,05 mol L⁻¹. Os resultados da calibração foram comparados com valores teóricos (calculados para as condições descritas acima) usando o programa Best7, apresentando pequeno erro ($\sigma_{\text{fit}} < 0.03$) e inclinação adequada (-59.1 mV/pH) (Martell *et al*, 1992; Motekaitis *et al*, 1982).

As titulações potenciométricas do micélio de *Trametes hirsuta* foram realizadas como se segue: 108 mg de micélio foram colocados na cela potenciométrica contendo 40,0 mL de água ultra-pura desgaseificada contendo KCl 0,1 mol L⁻¹. O sistema foi deixado para estabilização durante 1 hora sob fluxo constante de N₂ a 25 °C e agitação contínua. Após estabilização em pH 6,7 o sistema foi acidificado até pH 3 com 0,8 mL de HCl 0,1019 mol L⁻¹. A titulação de pH 3 até 10 foi iniciada pela adição sequencial de aliquotas de 0,05 mL de NaOH 0,1151 mol L⁻¹ livre de CO₂ usando uma bureta manual (Gilmont 2 mL) de precisão (0,01 mL). Após cada adição de titulante, monitorou-se cineticamente a estabilização do pH do instante inicial de adição de titulante até no máximo 24 minutos. As medidas cinéticas de estabilização de pH a cada ponto da titulação foram posteriormente usadas para caracterizar os processos lentos de troca de prótons, apresentados abaixo.

Procedimentos similares foram repetidos na presença de Cu²⁺ ou Zn²⁺ dissolvido tal como se segue: 108 mg de biomassa de micélio foi deixada para estabilizar durante 30 minutos em 24 mL de água (com 0,298 g de KCl, concentração de 0,1 mol L⁻¹ no volume inicial total de 40,8 mL). Após estabilização inicial, adicionou-se 4 mL de solução padrão de Cu²⁺ ou Zn²⁺ 1001 ppm (Merck, em HNO₃ 0,5 mol L⁻¹), seguido imediatamente da adição de 12,8 mL de NaOH 0,1151 mol L⁻¹ livre de CO₂ (concentração inicial de ions metálicos de aproximadamente 1,5 mmol L⁻¹ em 40,8 mL). O mesmo procedimento sequencial de titulação e monitoramento cinético fora do equilíbrio foi realizado. Em titulações branco de Cu²⁺ ou Zn²⁺, nas mesmas condições, não foram observados processos fora do equilíbrio significativos (a

Capítulo 2

estabilização do pH ocorre em menos de 1 minuto na maior parte da escala de pH estudada).

Ainda, Espectroscopia Óptica de Emissão por Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES) foi realizada usando instrumento Varian Liberty, a fim de medir a concentração de Cu^{2+} e Zn^{2+} em solução/suspensão. Para cada unidade de pH, entre pH 2 e 10, uma alíquota de 1,05 mL dos sistemas [íon metálico/água] e [micélio/íon metálico/água] foi coletada e filtrada usando membrana de acetato de celulose de 0,2 μm e diluído 20 vezes com HNO_3 0,5 mol L^{-1} para posterior análise.

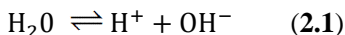
Espalhamento Raman

Microespectroscopia confocal Raman foi realizada usando instrumento LabRAM HR Evolution – Horiba Scientific operando com laser verde de 532 nm e objetiva de longa distância de 50X para obtenção de espectros Raman de micélio de fungo em suspensão na presença e ausência de íons metálicos coletados de experimentos potenciométricos em pH 7 e analisados em lâminas de vidro.

Modelagem de sistema complexo

Modelagem de equilíbrio

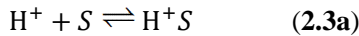
Neste estudo propomos uma abordagem potenciométrica para explorar o comportamento experimental do subsistema modelo complexo de solos, biomassa de fungos, sob condições perturbadas (em termos de pH e na presença de íons metálicos). A definição dos sistemas complexos estudados foram feitas através de proposição simplificada de componentes e suas respectivas interações/relações. A distinção fundamental definida diz respeito aos sistema modelo complexo e a água, tal como no sistema [micélio/água]. Sendo o eletrodo combinado de vidro o instrumento sensível utilizado, estabelecemos que os componentes presentes – micélio, íons metálicos e água – são observáveis durante as perturbações de potencial e respectivas medidas. A primeira distinção feita refere-se à ionização da água como



e a relação

$$[\text{OH}^-] = \beta_{\text{OH}^-} / [\text{H}^+] \quad \text{com } \beta_{\text{OH}^-} = 10^{-13.78} \quad (2.2),$$

que fazem possível a descrição das diferenças observadas em termos de $[\text{H}^+]$ (Martell *et al*, 1992; Motekaitis *et al*, 1982). Em seguida podemos estabelecer uma segunda distinção relativa ao sistemas complexo (S , em negrito)



$$K = [\text{H}^+S] / [S][\text{H}^+] \quad (2.3b)$$

onde K é a constante de equilíbrio de protonação de S . Devemos notar que componentes são expressos usando texto em negrito e que suas relativas espécies – ácidos e bases conjugadas – são expressos usando texto normal, tal como nas equações 2.3. Para o sistema complexo S temos as espécies ' H^+S ' e ' S '. As equações 2.3 são base para construção do modelo de caracterização físico-química fora do equilíbrio (ver equações 2.12-2.15) e são estendidas em distinções posteriores. No caso do sistema [micélio/água], os ácidos e bases conjugadas H^+S e S são definidos tal como se segue

$$[S] = \sum_i [S_i] \quad (2.4a),$$

$$[\text{H}^+S] = \sum_i [\text{H}^+S_i] \quad (2.4b)$$

e

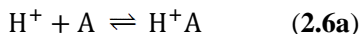
$$x_{S_i} = \frac{[S_i]}{[S]} \quad (2.5a),$$

$$x_{\text{H}^+S_i} = \frac{[\text{H}^+S_i]}{[\text{H}^+S]} \quad (2.5b)$$

onde H^+S_i e S_i são os ácidos e bases conjugadas dos componentes i que compõem o sistema complexo S e $x_{\text{H}^+S_i}$ e x_{S_i} são suas respectivas frações molares. No estudo do sistema complexo [micélio/água], quatro componentes (**A**, **B**, **C** e **D**) são suficientes para obter um modelo adequado para ajuste teórico da curva de titulação potenciométrica experimental (ver subseção de *Modelagem de equilíbrio químico* em

Capítulo 2

Resultados e Discussão). As quatro componentes apresentam a mesma propriedade apresentada para o componente **A** abaixo:

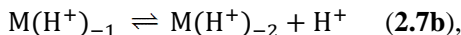
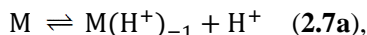


com

$$\beta_{H^+A} = \frac{[H^+A]}{[A][H^+]} \quad (2.6b)$$

de forma similar para os componentes **B**, **C** e **D**, onde $\beta_{H^+A} > \beta_{H^+B} > \beta_{H^+C} > \beta_{H^+D}$, definindo maior acidez para o ácido conjugado H^+A e menor acidez para H^+D .

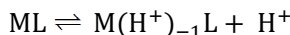
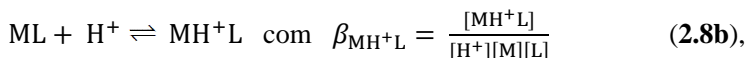
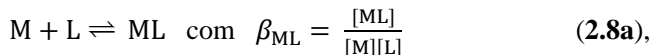
Podemos então definir as características dos modelos complexos na presença de ions metálicos, Cu^{2+} ou Zn^{2+} , ou simplesmente M . Sendo M um ácido, espera-se que o mesmo seja capaz de consumir base titulante tal como representam as equações:



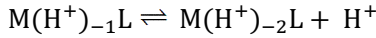
$$\beta_{M(H^+)_{-1}} = \frac{[H^+][M(H^+)_{-1}]}{[M]}$$

$$\text{e } \beta_{M(H^+)_{-2}} = \frac{[H^+]^2[M(H^+)_{-2}]}{[M]} \quad (2.7c),$$

onde os valores de β são as constantes condicionais de estabilidade globais para as trocas de próton de M . Da mesma maneira, o ácido M pode interagir com os componentes do micélio. Se as quatro bases conjugadas A , B , C e D forem representadas como um ligante genérico “ L ”, podemos propor as seguintes reações:



$$\text{com } \beta_{M(H^+)_{-1}L} = \frac{[H^+][M(H^+)_{-1}L]}{[M][L]} \quad (2.8c),$$



$$\text{com } \beta_{M(H^+)_{-2}L} = \frac{[H^+]^2[M(H^+)_{-2}L]}{[M][L]} \quad (2.8d).$$

O arranjo de equações **2.8** define que os componentes do micélio são capazes de formar o complexo ML, o complexo protonado MH⁺L e os complexos desprotonados M(H⁺)₋₁L e M(H⁺)₋₂L. Em síntese, a proposição do modelo de complexação dá lugar às seguintes 26 espécies possíveis para os sistemas complexo [micélio/Cu²⁺/água] ou [micélio/Zn²⁺/água]: A, B, C, D, H⁺A, H⁺B, H⁺C, H⁺D, M(H⁺)₋₁, M(H⁺)₋₂, MA, MB, MC, MD, MH⁺A, MH⁺B, MH⁺C, MH⁺D, M(H⁺)₋₁A, M(H⁺)₋₁B, M(H⁺)₋₁C, M(H⁺)₋₁D, M(H⁺)₋₂A, M(H⁺)₋₂B, M(H⁺)₋₂C e M(H⁺)₋₂D, além de H⁺.

Usando o programa Best7 (Motekaitis *et al*, 1982), estas 26 espécies e suas respectivas reações (adequadamente apresentadas pelos quocientes na Tabela 2.2 e equações **2.1**, **2.2**, **2.6**, **2.7** e **2.8**) foram usadas para o ajuste teórico das curvas de titulações potenciométricas experimentais dos experimentos de sistemas branco, [água], [Cu²⁺/água] e [Zn²⁺/água] e os sistemas complexos [micélio/água], [micélio/Cu²⁺/água] e [micélio/Zn²⁺/água]. Colchetes são usados para enfatizar os sistemas complexos em estudo interpretados como um todo ou totalidade. Ainda, o termo “água” foi, quando conveniente, omitido do texto.

O programa Best7 resolve sequencialmente a equação

$$T_i = \sum_j e_{ij} \beta_j \prod_r [R_r]^{e_{ij}} \quad (2.9)$$

(onde T_i é a concentração total do componente i em mol L⁻¹, [R_r] é a concentração de todos reagentes r que compõem as espécies j e e_{ij} é o coeficiente estequiométrico de cada reagente r nas equações de equilíbrio, de todos os componentes e espécies, em cada ponto da titulação) a fim de minimizar a diferença entre o pH medido e o pH calculado em cada ponto das titulação potenciométricas (Motekaitis *et al*, 1982). No caso do sistema [micélio/Cu²⁺/água], por exemplo, os componentes presentes são **A**, **B**, **C**, **D**, Cu²⁺ e H⁺, sendo seus respectivos equilíbrios descritos nas equações **2.1**, **2.2**, **2.6**, **2.7** e **2.8** e

também na Tabela 2.2. Na seção de discussão vamos explorar a coerência da modelagem de equilíbrio e mostrar o motivo pelo qual podemos considerar tal metodologia como uma poderosa ferramenta de investigação para o estudo de sistemas complexos assim como sugerido por Martell e colaboradores (Martell *et al*, 1992).

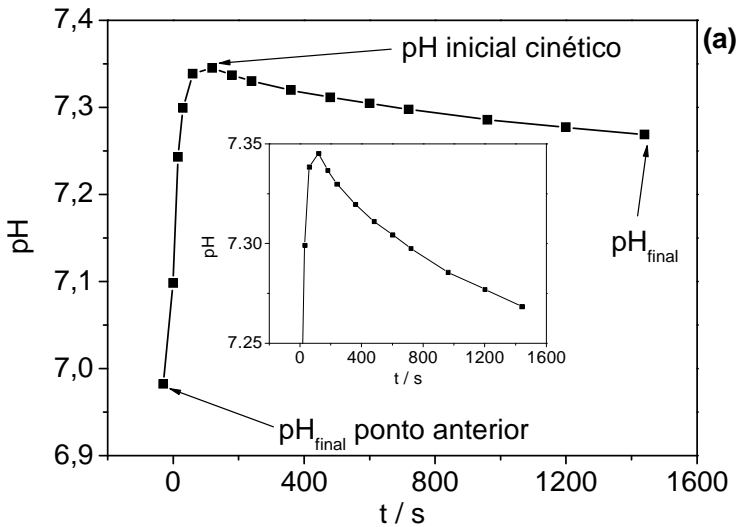
Caracterização fora do equilíbrio

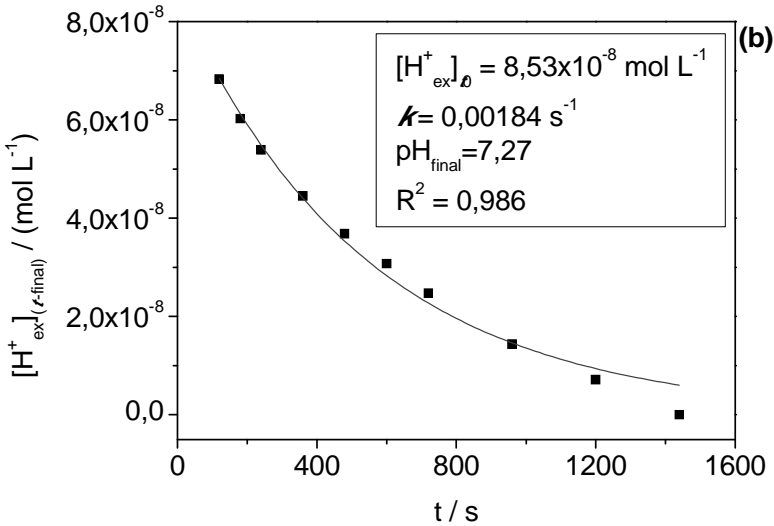
Além da modelagem no equilíbrio, exploramos também os processos fora do equilíbrio relacionados às perturbações de pH causadas pelas sucessivas adições de titulante. Em outras palavras, após cada adição de titulante, foram monitoradas as respostas à perturbação de pH ao longo do tempo. Quando o titulante é adicionado, a maior parte dos prótons trocáveis são rapidamente consumidos (no presente caso, aproximadamente 90% do total de prótons trocáveis são consumidos nos primeiros 30 segundos após a adição de titulante) porém, trocas de prótons residuais mensuráveis continuam a ocorrer até 1 hora após a adição de titulante (de Almeida *et al*, 2013; Kazakov *et al*, 2008). Comportamento similar foi observado para amostras de ácidos húmicos e também para o mineral biotita. Para biotita as reações lentas de troca de prótons podem atingir proporções quantitativas da troca total de prótons durante as titulações potenciométricas e no caso de ácidos húmicos, embora a literatura relacionada envolvendo cinética seja reduzida, observa-se que trocas lentas de prótons são significativas, especialmente em pH neutro (de Almeida *et al*, 2015a, 2015b). Estes processos de trocas lentas de prótons proporcionam informações especiais acerca dos sistemas estudados e, notavelmente no presente caso, acerca da maneira com que sistemas complexos heterogêneos biológicos respondem à perturbações durante titulações potenciométricas. A seguir, apresentamos a derivação dos parâmetros físico-químicos fora do equilíbrio do presente modelo.

Normalmente, quando processos de troca lenta de prótons são observados em titulações potenciométricas, as curvas de estabilização de pH apresentam-se como um decaimento exponencial tendendo à um pH de pseudo-equilíbrio ou pH final de cada ponto da titulação (de Almeida *et al*, 2013; Naja *et al*; 2005). Após a troca inicial rápida de prótons (que são em geral mais rápidas do que a possibilidade técnica de monitoramento cinético utilizando equipamentos potenciométricos tradicionais), começamos a medir as reações de troca lenta de prótons.

Deve-se notar que processos de troca lenta de prótons são normalmente observados, ou específicos, em investigação de sistemas de maior complexidade, tais como amostras biológicas, complexos biomiméticos, substâncias húmicas, minerais, amostras de solo e etc (de Almeida *et al*, 2013; Martell *et al*, 1992; Kazakov *et al*, 2008; Stumm, 1992; Ivanova *et al*, 1998; Süsser *et al*, 1991; Nätscher *et al*, 1991; Pertusatti *et al*, 2007), enquanto que em sistemas de menor complexidade, como ácidos orgânicos de baixa massa molecular (ex. ácido ftálico), processos lentos de troca de prótons não são significativos.

Figura 2.2. Exemplo de (a) medida de estabilização de pH fora do equilíbrio, do “ pH_{final} do ponto anterior da titulação” até “ pH_{final} do ponto atual da titulação” (passando por (i) troca rápida de prótons e (ii) troca lenta de prótons) e (b) gráfico de cinética de primeira ordem para o sistema complexo [micélio/ Cu^{2+} /água] em pH_{final} 7,27 (para derivação e construção do gráfico e dos parâmetros $[H^+]_{ex,0}$ e k , ver seções de *caracterização fora do equilíbrio*).





As diferenças de concentração de prótons entre o *pH inicial cinético* e o *pH final*, tal como apresentado na Figura 2.2a, foram usados para derivar os parâmetros cinéticos de primeira ordem das trocas lentas de prótons, tal como descrito a seguir.

Primeiramente, obtém-se a diferença de concentração de troca lenta de próton fora do equilíbrio $[H^+]_{ex}(t-final)$, a cada instante t da resposta de perturbação de pH tal como a equação

$$[H^+]_{ex}(t-final) = -([H^+]_t - [H^+]_{final}) + ([OH^-]_t - [OH^-]_{final}) \quad (2.10),$$

$$\text{onde } [OH^-] = \beta_{OH^-} [H^+]^{-1}.$$

A equação 2.10 é o passo matemático no qual são utilizadas as medidas cinéticas de pH (valores de pH a cada instante t) para obtenção da diferença de concentração de prótons a cada instante t , $[H^+]_t$, e derivar a diferença de concentração de prótons trocáveis de cinética lenta, $[H^+]_{ex}(t-final)$, que representa a diferença entre a concentração de prótons no instante t e a última medida de pH, ou $[H^+]_{final}$ (pH_{final} , Figura 2.2a). O subscrito “ex” representa o termo troca ou *exchange*. Através

do ajuste da curva $[H^+_{ex}]_{(t-final)}$ vs tempo, usando a seguinte equação cinética de primeira ordem,

$$[H^+_{ex}]_{(t-final)}(t) = [H^+_{ex}]_{t0}e^{-kt} \quad (2.11)$$

é obtida a diferença de concentração inicial de troca lenta de prótons $[H^+_{ex}]_{t0}$ (diferença de prótons trocáveis calculada no tempo ideal $t = 0$), e a constante de velocidade de primeira ordem k , específicos para cada resposta de estabilização lenta de pH após a adição de titulante em cada ponto da titulação (ver Figuras 2.2).

Usando $[H^+_{ex}]_{t0}$, a constante de velocidade de primeira ordem k e os parâmetros dos cálculos de equilíbrio (descritos na seção anterior), concentração de componentes e as constantes condicionais de estabilidade globais β , podemos calcular, para cada ponto da titulação, (i) a condição de equilíbrio K , (ii) a condição fora do equilíbrio Q (no instante $t0$) e (iii) a produção de entropia dS/dt relativa à troca lenta irreversível de prótons cineticamente observada. A condição de equilíbrio (índice “eq”) é determinada por K (equação 2.3) usando (i) a concentração de todos ácidos e bases conjugadas presentes no sistemas (calculados usando o programa Aqueous Solutions (Petit, 1993)), (ii) suas respectivas frações molares (equações 2.4 e 2.5) e (iii) a concentração de prótons, $[H^+]_{final}$, no pH_{final} . Por outro lado, a condição perturbada, fora do equilíbrio (índice “t0”) é descrita por Q que é definido por

$$Q = \frac{[H^+S]_{t0}}{[H^+]_{t0}[S]_{t0}} \quad (2.12)$$

onde

$$[H^+S]_{t0} = [H^+S]_{eq} + [H^+_{ex}]_{t0} \quad (2.13a),$$

$$[S]_{t0} = [S]_{eq} - [H^+_{ex}]_{t0} \quad (2.13b),$$

e

$$[H^+]_{t0} = \frac{c + \sqrt{c^2 + 4\beta_{OH^-}}}{2}$$

$$\text{com } c = \left(-[\text{H}^+_{\text{ex}}]_{t0} + [\text{H}^+]_{\text{final}} - \frac{\beta_{\text{OH}^-}}{[\text{H}^+]_{\text{final}}} \right) \quad (2.14).$$

A equação 2.14 é a solução do polinômio de segunda ordem ($-([\text{H}^+]_{t0})^2 + ([\text{H}^+]_{t0})c + \beta_{\text{OH}^-} = 0$) obtido pela substituição da diferença $[\text{H}^+_{\text{ex}}]_{(t-\text{final})}$ pela diferença $[\text{H}^+_{\text{ex}}]_{t0}$ na equação 2.10 em tempo $t = t0$. Assim definimos $[\text{H}^+]_{t0}$ como uma concentração modelada ($10^{-\text{pH}_{t0}}$) no estado perturbado em instante $t0$.

O ultimo passo é o cálculo da produção de entropia dS/dt como

$$dS/dt = \sum A(d\xi/dt)/T = R \left(\ln \frac{K}{Q} \right) (-k[\text{H}^+_{\text{ex}}]_{t0}) \quad (2.15).$$

A equação 2.15 define que a produção de entropia da troca lenta de prótons é o produto da afinidade A , $RT \ln (K/Q)$, e a velocidade da reação $d\xi/dt$, $-k[\text{H}^+_{\text{ex}}]_{t0}$, tal como descrito por Kondepudi e Prigogine (Kondepudi *et al*, 1998), onde R é a constante dos gases $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$. Para volume de 1 L, dS/dt é obtido em $\text{J K}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Estes valores foram calculados para os dados cinéticos de todos os pontos das titulações e são apresentados abaixo.

Resultados e Discussão

Microspectroscopia Raman e Espectrometria de Emissão

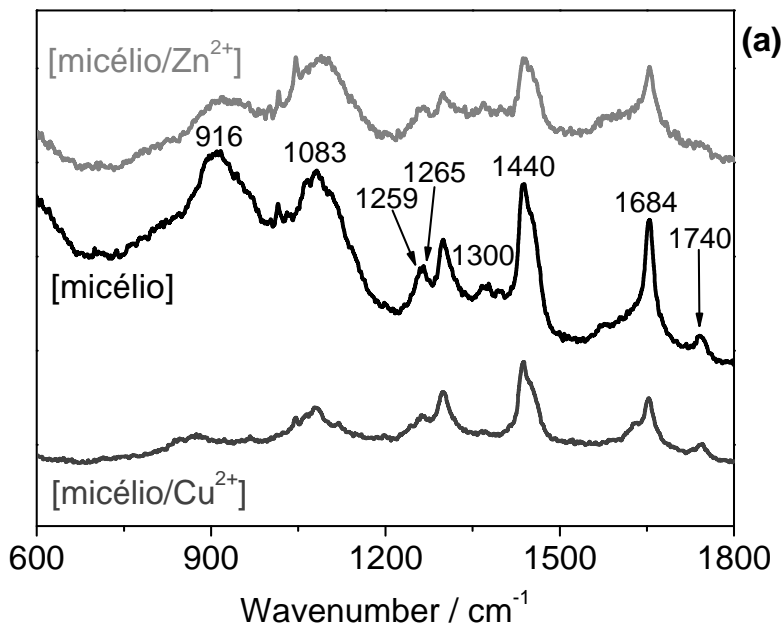
Medidas de espalhamento Raman demonstram a complexidade do sistema micelial em estudo. A atribuição tentativa dos sinais observados (de acordo com a literatura (Ghosal *et al*, 2012; Wagner *et al*, 2009; Suffren *et al*, 2012; Movasaghi *et al*, 2007)) estão listados na Tabela 2.1. A Figura 2.3a demonstra que a estrutura bioquímica do fungo não foi severamente afetada pela alta concentração de metais presentes (aproximadamente $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$), visto que o perfil espectral permanece, em geral, muito similar com o que é observado na ausência de metais. Entretanto, uma inspeção mais detalhada de sinais menores, apresentados na Figura 2.3b, indica variações sutis no perfil de espalhamento do micélio em presença de Cu^{2+} ou Zn^{2+} , provavelmente relacionadas a interações específicas dos metais com grupos carboxílicos, amino e fosfato entre outros, tal como proposto na investigação potenciométrica (ver seção seguinte). Podemos especular sobre algumas mudanças espectrais quando da presença de Cu^{2+} e/ou

Zn^{2+} em: (i) $900\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, onde pode ser observado um deslocamento hipsocrômico para o sistema [micélio/ Zn^{2+}], provavelmente relacionado a interações metal-fosfato e/ou metal-proteína; (ii) 1120 cm^{-1} , onde observa-se um perfil espectral diferenciado para o sistema [micélio/ Cu^{2+}], provavelmente relacionado a interações metal-proteína; (iii) 1370 cm^{-1} , onde observa-se um sinal mais intenso para o sistema [micélio/ Zn^{2+}], provavelmente relacionado a interações metal-ácido nucleico (cadeia fosfodiéster) e; (iv) 1625 cm^{-1} (ombro esquerdo do sinal maior em 1654 cm^{-1}), onde diferenças significativas são observadas entre os espectros dos sistemas [micélio] e [micélio/íon metálico], principalmente na presença de Cu^{2+} , provavelmente relacionadas a interações dos íons metálicos com organizações complexas [proteína-ácidos nucleicos-quitina] do micélio (ver setas na Figura 2.3b). Ainda, visto que os íons metálicos foram obtidos de uma solução diluída de ácido nítrico, é possível observar a presença de modos vibracionais de nitrato (estiramento N-O) em 1050 cm^{-1} para o espectros dos sistemas [micélio/íon metálico] (ver Figura 2.3b). Deve ser enfatizado que as atribuições tentativas apresentadas devem ser interpretadas com grande precaução. Mesmo assim, podemos considerar microespectroscopia Raman como uma ferramenta espectroscópica poderosa para investigação de sistemas biogeoquímicos complexos, tal como observado na Figura 2.3.

Espectroscopia Óptica de Emissão por Plasma Indutivamente Acoplado também (ICP-OES) foi utilizada como uma técnica complementar para o estudo potenciométrico principal das interações metal/fungo. Na Figura 2.4 pode-se observar que agentes complexantes do fungo (proteínas, oligopeptídeos, ácidos orgânicos, fosfatos e etc) estão provavelmente, em significativa extensão, livres em solução. No caso do sistema [micélio/ Cu^{2+} /água] podemos observar que mais de 50% do Cu^{2+} total apresenta-se em suspensão (como complexos de biomoléculas dissolvidas ou ligado à partículas fúngicas menores de $0,2\text{ }\mu\text{m}$) mesmo acima de pH 6 enquanto que, sem a presença de micélio, Cu^{2+} precipita quantitativamente. Um efeito similar é observado para o sistema [micélio/ Zn^{2+} /água] entretanto em menor extensão e com alguma diferença: em pH neutro observa-se uma menor concentração de Zn^{2+} está dissolvido ou ligado a partículas menores de $0,2\text{ }\mu\text{m}$ (entre 10 e 20% de Zn^{2+} total em pH 7,7, ver Figura 2.4). Na seção seguinte, propomos que a formação quantitativa de sistemas $\text{M}(\text{H}^+)_2$ (observados para os metais na ausência de micélio) é substituída por sistemas

complexos do tipo $M(H^+)_{-1}L$ (onde L é um ligante relacionado ao micélio), principalmente em pH neutro.

Figura 2.3. (a) Espectros Raman de sistemas [micélio] e [micélio/íon metálico]. (b) Compósito de espectros ampliados de sistemas [micélio] e [micélio/íon metálico]. Espectros dos sistemas [micélio], [micélio/ Cu^{2+}] e [micélio/ Zn^{2+}] são apresentados em preto, cinza e cinza claro, respectivamente.



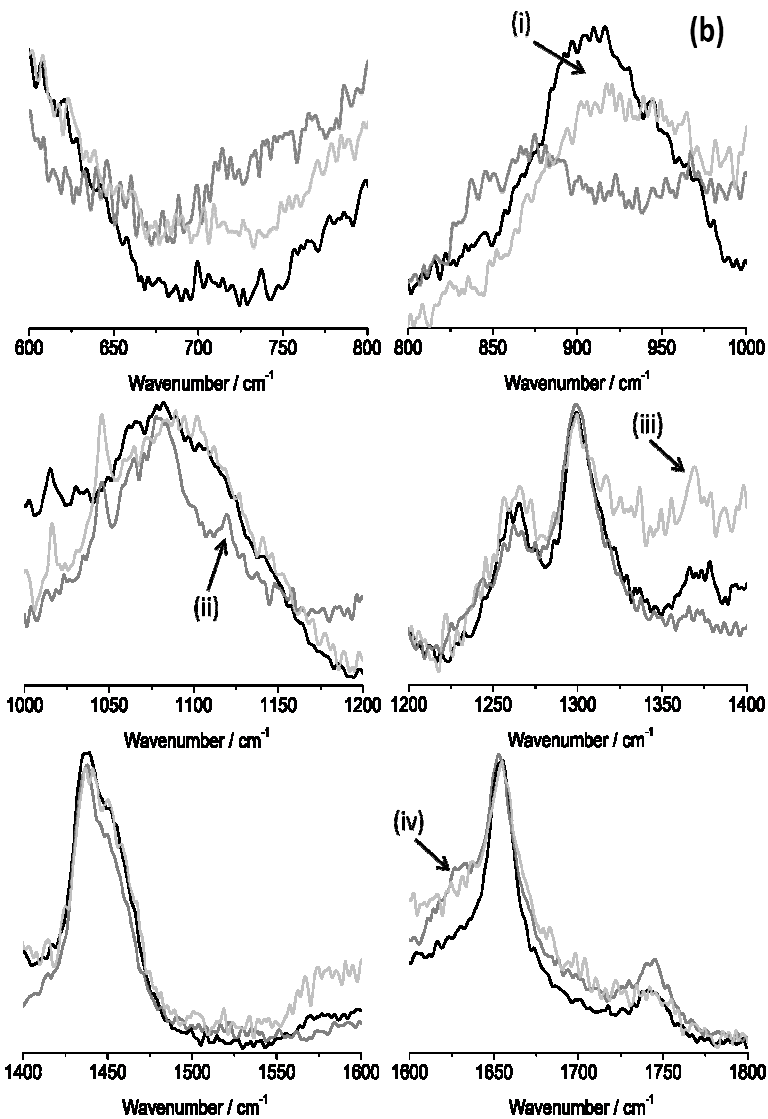


Tabela 2.1. Atribuições tentativas de sinais maiores e menores dos espectros de espalhamento Raman dos sistemas complexos [micélio] e [micélio/íon metálico] baseados na literatura relevante (Ghosal *et al*, 2012; Wagner *et al*, 2009; Suffren *et al*, 2012; Movasaghi *et al*, 2007).

Sinais maiores	Número de onda / cm ⁻¹
ácidos nucleicos e carboidratos (modos esqueléticos C-O-C)	916
proteínas (estiramentos C-N)	1083
guanina/citosina, quitina e proteínas (deformação N-H)	1259
quitina e proteínas (deformação N-H)	1265
lipídeos (C-H <i>wagging/twisting</i>)	1300
lipídeos, proteínas e carboidratos (deformação assimétrica CH ₂ e CH ₃)	1440
proteínas (amida, estiramento C=O)	1654
lipídeos (éster, estiramento C=O)	1740
Sinais Menores	Número de onda / cm ⁻¹
Glicerol (deformação C-O-C)	607
proteínas (C-C <i>twisting</i>)	621
tirosina (C-C <i>twisting</i>)	643
ácidos nucleicos (estiramento C-C de respiração do anel e estiramento C-S)	666-680
aminoácido metionina (estiramento C-S)	700
ácidos nucleicos	720
proteínas (estiramento C-S e CH ₂ <i>rocking</i>) e adenina (CH ₂ <i>rocking</i>)	726
fosfatidilserina e tiocianato (estiramento C-S)	733 e 737
ácidos nucleicos (timina, modos de respiração do anel)	747
proteínas (triptofano modos de respiração do anel e de deformação)	756-760
ácidos nucleicos (fosfodiéster estiramento O-P-O e modos de respiração do anel em DNA)	777-789
grupos fosfato (estiramento O-P-O e interações iônicas de fosfato)	798
Fosfodiésteres nucleicos e prolina, hidroxiprolina e	808 e 815

tirosina (estiramentos O-P-O e C-C)	
DNA, tirosina (estiramento C-C de respiração de anel fora do plano, estiramento de fosfato em DNA)	815-828
deformação de amina	837
açúcares (modos esqueléticos C-O-C)	845
prolina e tirosina (estiramento C-C em modos de respiração de anel)	853
proteínas e polissacarídeos (estiramento C-C em cadeias laterais de aminoácidos prolina, hidroxiprolina e estrutura de colágeno)	857
RNA (estiramento C-C de modos esqueléticos e modos de respiração de anel)	867
açúcares e proteínas (C-O-C em triptofano e modos de respiração de anel de carboidratos e deformação de CH ₂ em proteínas)	877-884
proteínas (estiramento C-C), açúcares (modos esqueléticos C-O-C) e ácidos nucleicos (vibração de C-O-C em ribose e estiramento P-O)	884-897
RNA (modos esqueléticos C-O-C em ribose)	916
carboidratos (modos esqueléticos C-C)	931
polissacarídeos (modos esqueléticos C-C)	941
α -hélice em proteínas (estiramento simétrico em CH ₃)	951
fosfato (estiramento P-O) e proteínas (não atribuído)	960-965
C-C <i>wagging</i>	971
folha- β em proteínas (estiramento C-C) e lipídeos (deformação =C-H)	980
ribose (estiramento C-O) e carboidratos (estiramento C-C)	994
quitina (estiramento C-C em respiração de anel) e fenilalanina (estiramento C-C aromático)	1003
carboidrato sólido (estiramento C-O)	1015
proteína, fenilalanina e carboidratos (estiramento C-C, deformação C-H e estiramento C-N)	1030
estiramento simétrico de fosfato	1044
glicogênio (estiramento C-C)	1049
quitina e proteínas (estiramentos C-C e C-N)	1052
prolina, colágeno (estiramento C-C de modos esqueléticos)	1066
fosfolipídeos, fosfodiésteres nucleicos, carboidratos e	1074-1115

Capítulo 2

proteínas (estiramentos C-C e C-O e estiramento simétrico O-P-O)	
carboidratos e proteínas (estiramentos C-C, C-N e C-O)	1123-1140
proteínas (estiramentos C-C e C-N)	1158
proteínas/aminoácidos (deformação C-H)	1174
bases nitrogenadas DNA (estiramento C-N) e fosfatos (modos anti-simétricos)	1184-1197
quitina e proteínas (estiramentos C-C e C-N, amida III e deformação C-H)	1198-1204
complexo de fosfato, lipídeos, amida, aminoácidos, ácidos nucleicos, amina, carboidrato e quitina (estiramentos C-C e C-N, CH ₂ <i>rocking</i> e <i>wagging</i> , deformação =C-H, modos antissimétrico O-P-O, deformação N-H e amida III em α -hélice e folha- β em proteínas)	1207-1280
ergosterol (CH ₂ <i>twisting</i>)	1286
lipídeos, bases nitrogenadas e carboidratos (deformação C-H, CH ₂ <i>twisting</i> e <i>wagging</i> , CH ₃ <i>twisting</i>)	1290-1306
lipídeos (CH ₃ CH ₂ <i>twisting</i>)	1313
proteínas (deformação C-H, amida III de α -hélice)	1321
fosfolipídeos (deformação C-H)	1328
proteínas, DNA, lipídeos, ergosterol e carboidratos (deformação C-H, <i>wagging</i> e <i>twisting</i>)	1333-1354
triptofano (deformação C-H)	1357 e 1365
sacarídeos, DNA e lipídeos (deformação C-H e modos de respiração de anel)	1370-1385
lipídeos, cadeias de aminoácidos e DNA/RNA (CH ₂ <i>rocking</i> , estiramento C-N, estiramento simétrico C=O, deformação N-H no plano)	1387-1400
Estiramento simétrico COO ⁻ e estiramento C=C	1411 e 1417
proteínas, lipídeos, DNA/RNA e carboidratos (deformações e estiramentos C-H, CH ₂ e CH ₃ e deformações N-H no plano)	1420-1463
respiração de anel de bases nitrogenadas e modos de -NH ₃ ⁺	1485
ácidos nucléicos, aminoácidos e carotenoides (estiramento C=C, deformação N-H)	1499-1516

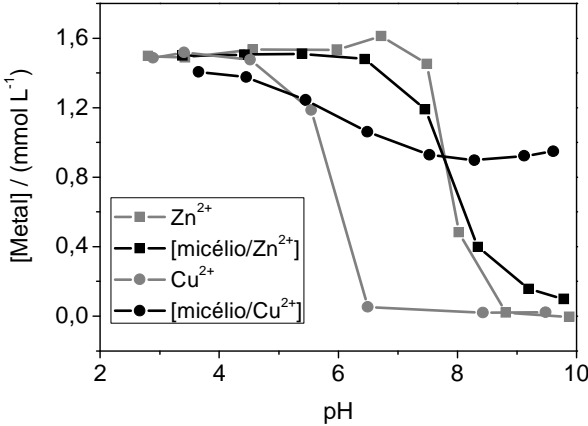
Capítulo 2

carotenóides (vibrações no plano de C=C e conjugados -C=C-)	1524-1528
amida, amino ácidos, triptofano e tirosina (estiramento C=C, amida III, deformação N-H e amida II)	1540-1563
modos de ácidos nucléicos (estiramento C-C em respiração de anel)	1570-1580
fenilalanina e olefinas (estiramento e deformação C=C)	1584
hidroxiprolina e fenilalanina (deformação N-H e estiramento C=C)	1589
estiramentos C=N e C=C	1593
organizações complexas de proteínas, α -hélice, folha- β , DNA, lipídeos, quitina e carboidratos (estiramento C=O, deformação e estiramento C=C, deformação N-H, modos de respiração de anel, interações de empilhamento e organizações de peptídeos sensíveis a ligação de hidrogênio)	1600-1800
ácidos glutâmico e aspartico, amino ácidos e grupos éster em lipídeos (estiramento COO ⁻)	1700-1740
fosfolipídeos, polissacarídeos e pectina (estiramento C=O)	1745

Modelagem de equilíbrio químico

O uso do sistema teórico apresentado acima (seção de modelagem) permite a investigação da capacidade tamponante de pH como uma propriedade ecológica relevante. Os padrões de perturbação podem apresentar relações parciais diretas com o comportamento do tipo de sistemas em estudo, sistemas complexos de micélio, no meio natural. A partir da curva de titulação do sistema [micélio/água] apresentado na Figura 2.5, podemos observar que a maior parte da capacidade tamponante do micélio (total de 1,34 mmol g⁻¹ de micélio, de acordo com a literatura envolvendo fungos (de Almeida *et al.*, 2013; Naja *et al.*, 2005; Sanna *et al.*, 2002)) está relacionada aos componentes **D** (39%, pK_a 9.34) e **A** (28%, pK_a 3.24).

Figura 2.4. Concentração de íons metálicos (Zn^{2+} and Cu^{2+}) em suspensão/solução (filtrado $< 0,2 \mu m$) em pH 2-10 para sistemas [íon metálico/água] e [micélio/íon metálico/água].



Os componentes **B** (17%, pK_a 4.61) e **C** (16%, pK_a 7.02) representam a menor parte da capacidade tamponante do sistema [micélio/água]. Em trabalho recente usando biomassa morta de fungo *Trametes villosa* observamos valores de pK_a similares para **A**, **B**, **C** e **D** com uma capacidade tamponante total um pouco menor de $0,75 \text{ mmol g}^{-1}$ (de Almeida *et al*, 2013). Outros trabalhos com diferentes espécies de fungos apresentam capacidade tamponantes que variam de $0,81$ a $3,87 \text{ mmol g}^{-1}$ (Naja *et al*, 2005; Sanna *et al*, 2002). No caso de bactérias, Claessens *et al* apresentam valores de capacidade tamponante total variando de $0,14$ a $1,77 \text{ mmol g}^{-1}$ (Claessens *et al*, 2007). Os maiores valores de capacidade tamponante total são encontrados para ácidos húmicos, variando de $4,0$ a $13,0 \text{ mmol g}^{-1}$ (de Almeida *et al*, 2015b; Baidoo *et al*, 2014). Para o mineral biotita, encontramos o valor de $0,94 \text{ mmol g}^{-1}$ (de Almeida *et al*, 2015a). Para solos, os valores variam em torno de $0,1$ a $0,5 \text{ mmol g}^{-1}$, dependendo do tipo e horizonte do solo (Ivanova *et al*, 1998; Süsser *et al*, 1991; Nätscher *et al*, 1991).

Estas informações quantitativas representam, em termos gerais, a contribuição dos subsistemas de solos para sua capacidade tamponante e destacam a importância de fungos e substâncias húmicas para estabilidade de solos. Ainda, o modelo aqui apresentado, componentes

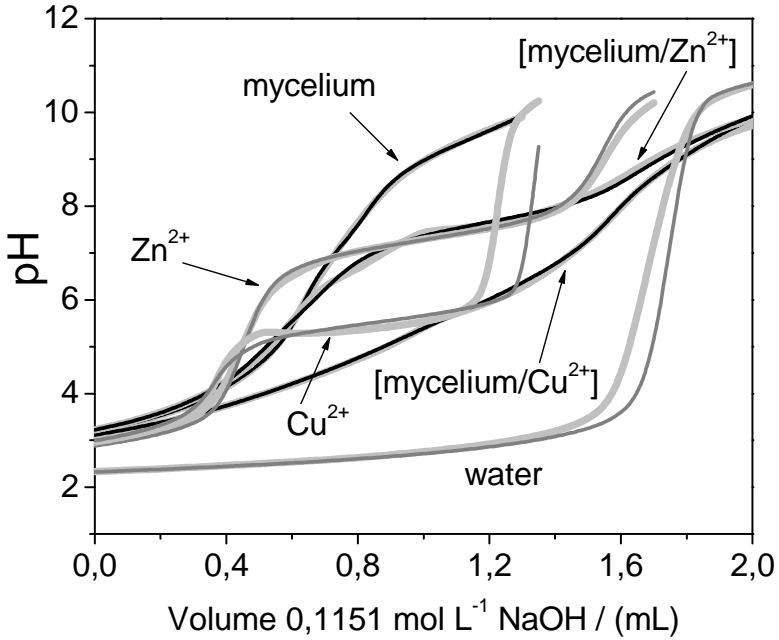
(**A**, **B**, **C** and **D**) e suas respectivas constantes de equilíbrio indicam a presença de matriz biológica complexa composta por biopolímeros de fungos e biomoléculas, como carboidratos, proteínas, ácidos nucleicos e sais (in)orgânicos, também observados nas medidas de espalhamento Raman (Figura 2.3 e Tabela 2.1). Todos valores das constantes de estabilidade estão listados na Tabela 2.2 e representados na Figura 2.6.

A partir das curvas de titulação dos sistemas $[\text{Cu}^{2+}/\text{água}]$ e $[\text{Zn}^{2+}/\text{água}]$ encontramos que a maior contribuição para a troca de prótons está relacionada a formação de espécies de íons metálicos bi-desprotonadas $\text{M}(\text{H}^+)_2$, normalmente insolúveis, de acordo com as medidas de ICP-OES (Figura 2.4). A partir das curvas de titulação dos sistemas $[\text{micélio}/\text{Cu}^{2+}/\text{água}]$ e $[\text{micélio}/\text{Zn}^{2+}/\text{água}]$ (Figura 2.5) observamos que as curvas não podem ser representados pela soma linear dos sistemas separados (micélio e íons metálicos). Isto indica interações substanciais entre íons metálicos e sistema do micélio. Na Tabela 2.2 estão listados os valores das constantes β_{ML} das interações micélio/metal associadas, calculadas usando o programa Best7 (Motekaitis *et al*, 1982).

De fato, observamos que, no caso do sistema de micélio na presença de íons metálicos, o ajuste da curva de titulação calculada não pode ser obtido com constantes de formação de ML (ver equação **2.8a** para β_{ML} e Tabela 2.2) menores que 10^4 , que podem ser consideradas como constantes de formação relativamente fortes ou significativas (Sanna *et al*, 2002; Martell *et al*, 1992). No caso das interações do sistema $[\text{micélio}/\text{Cu}^{2+}/\text{água}]$, observamos complexação intensa distribuída entre os componentes **A**, **B** e **D** com constantes de formação β_{ML} em torno de 10^6 . Para as interações do sistema $[\text{micélio}/\text{Zn}^{2+}/\text{água}]$ as constantes de formação β_{ML} são menores, em torno de 10^5 , porém, observamos uma importante contribuição do componente **C** para complexação de Zn^{2+} .

Baseando-se em nossos resultados (concentrações e valores de pKa calculados para os componentes **A**, **B**, **C** e **D** e suas respectivas espécies e complexos com Cu^{2+} e Zn^{2+} , ver Tabela 2.2), é difícil identificar precisamente os grupos envolvidos na complexação dos íons metálicos – tanto na parede celular como na fase líquida – porém, um ponto deve ser destacado: a presença de ácidos carboxílicos, fosfatos e grupos amino devem ser considerados como importantes agentes de complexação nos sistemas $[\text{micélio}/\text{íon metálico}/\text{água}]$.

Figura 2.5. Curvas de titulação potenciométrica para sistemas combinados [micélio/íon metálico/água]. Dados experimentais são apresentados usando linhas em cinza-claro (Cu^{2+} , Zn^{2+} , água, [micélio/ Cu^{2+}] e [micélio/ Zn^{2+}]) enquanto que curvas calculadas são apresentadas em linhas cinzas (Cu^{2+} , Zn^{2+} e água) e linhas pretas ([micélio/ Cu^{2+}] e [micélio/ Zn^{2+}]). Função erro para valores calculados: $\sigma_{\text{fit}} < 0.04$ (Motekaitis *et al*, 1982). Curva de titulação referente à água (titulação de solução padrão de HCl 0,01016 mol L⁻¹) é apresentada a fim de fornecer comparação qualitativa com os sistemas complexos em estudo.

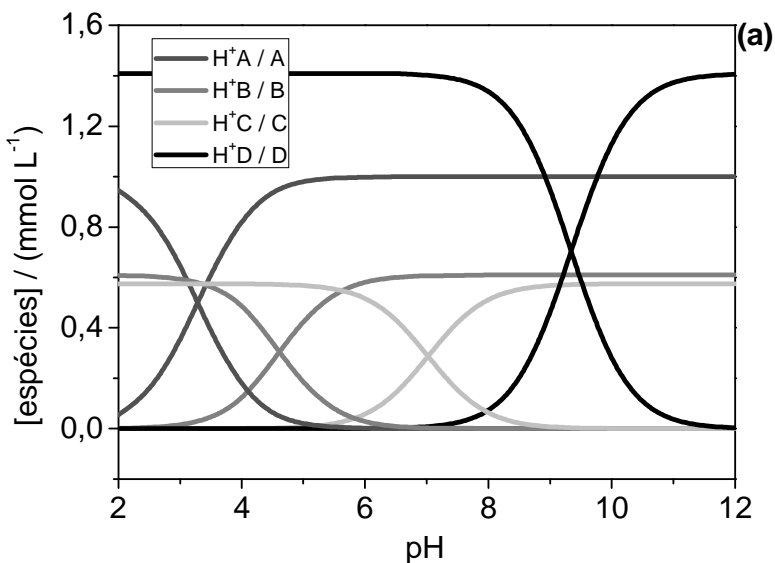


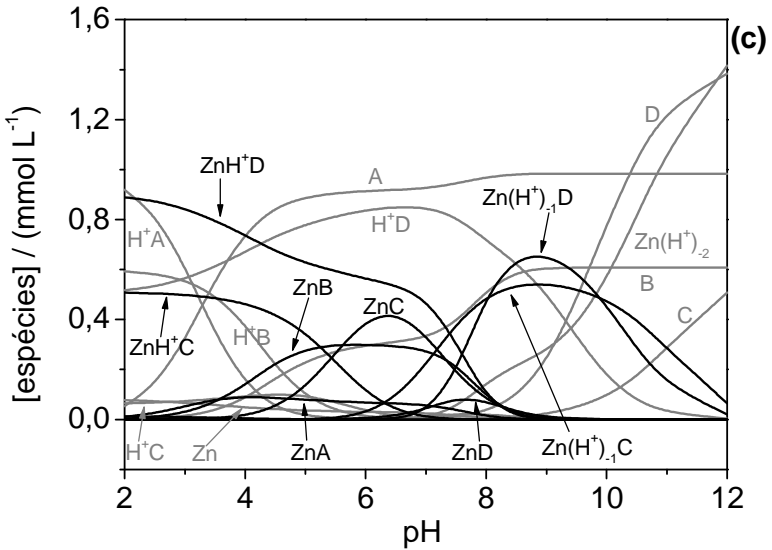
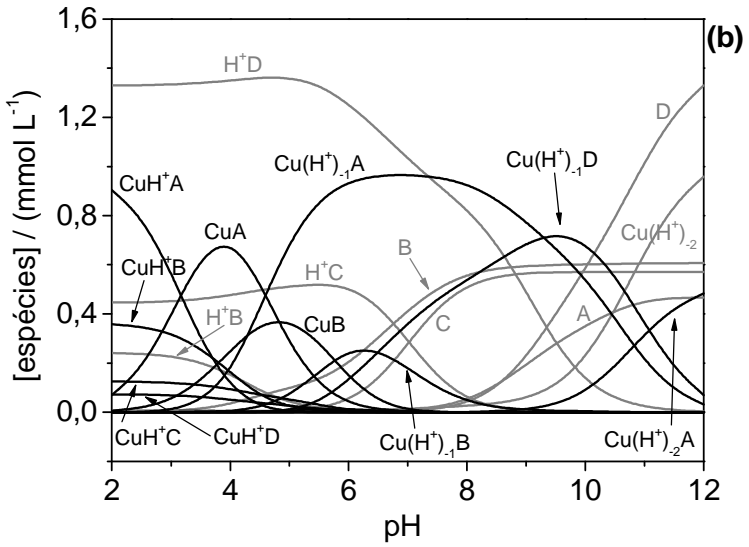
Capítulo 2

Tabela 2.2. Constantes de estabilidade condicional (equações 2.6, 2.7 e 2.8) calculadas usando o programa Best7 (Motekaitis *et al*, 1982). Diagramas de espécies são apresentados na Figura 2.6.

Quociente	log Quociente	Quociente	log Quociente
$[H^+A]/[H^+][A]$	3,24	$[Cu(H^+)_{-1}][H^+]/[Cu]$	-6,54
$[H^+B]/[H^+][B]$	4,61	$[Cu(H^+)_{-2}][H^+]/[Cu(H$	-4,51
$[H^+C]/[H^+][C]$	7,02	$[Zn(H^+)_{-1}][H^+]/[Zn]$	-7,39
$[H^+D]/[H^+][D]$	9,34	$[Zn(H^+)_{-2}][H^+]/[Zn(H$	-7,17
$[CuA]/[Cu][A]$	7,40	$[ZnA]/[Zn][A]$	3,39
$[CuH^+A]/[CuA][H^+]$	3,11	$[ZnH^+A]/[ZnA][H^+]$	0,95
$[Cu(H^+)_{-1}A][H^+]/[CuA]$	-4,60	x	x
$[Cu(H^+)_{-2}A][H^+]/[Cu(H^+$	-10,82	x	x
$[CuB]/[Cu][B]$	6,19	$[ZnB]/[Zn][B]$	4,53
$[CuH^+B]/[CuB][H^+]$	3,76	$[ZnH^+B]/[ZnB][H^+]$	2,49
$[Cu(H^+)_{-1}B][H^+]/[CuB]$	-5,75	x	x
$[CuC]/[Cu][C]$	5,13	$[ZnC]/[Zn][C]$	6,59
$[CuH^+C]/[CuC][H^+]$	6,51	$[ZnH^+C]/[ZnC][H^+]$	5,44
$[Cu(H^+)_{-1}C][H^+]/[CuC]$	-7,22	$[Zn(OH)C][H^+]/[ZnC]$	-7,19
$[CuD]/[Cu][D]$	7,67	$[ZnD]/[Zn][D]$	5,63
$[CuH^+D]/[CuD][H^+]$	5,58	$[ZnH^+D]/[ZnD][H^+]$	8,06
$[Cu(H^+)_{-1}D][H^+]/[CuD]$	-4,98	$[Zn(H^+)_{-1}D][H^+]/[ZnD]$	-7,17

Figura 2.6. Diagramas de distribuição de espécies para sistemas complexos (a) [micélio/água], (b) [micélio/Cu²⁺/água] e (c) [micélio/Zn²⁺/água], calculados usando programa Aqueous Solutions (Pettit, 1993). No gráfico (a) linhas pretas representam o componente dominante **D**, enquanto os outros componentes são representados usando diferentes tonalidades de cinza. Nos gráficos (b) e (c), as espécies de complexos metálicos são representados usando linhas pretas enquanto espécies de metal livre, hidróxidos metálicos e ligantes livres são representados usando linhas cinzas.





Combinações entre ácidos carboxílicos e ácidos orgânicos ativados que apresentam maior acidez são possíveis candidatos para o componente geral **A** (Martell *et al*, 1992). Moléculas iônicas, oligopeptídeos e sistemas liberadores de prótons (por exemplo, próton ATPase) podem também participar como componente **A** e contribuir para capacidade tamponante mais ácida do fungo estudado (Gadd, 2004; Carlile *et al*, 1994). O valor da constante de desprotonação relacionado ao componente **B** é consistente com os valores observados para ácidos carboxílicos em geral (em torno de $10^{4,6}$). O componente **D** representa bem os grupamentos amino no sistema complexo do micélio. Já o componente **C** pode ser interpretado como uma representação média de subsistemas mais complexos, tal como sítios enzimáticos, grupos químicos desprotonáveis mistos e também desprotonação de grupos fosfato em pH neutro (Martell *et al*, 1992; Kaim *et al*, 1994). Tal como já mencionado, os quatro componentes propostos apresentam uma boa concordância com os componentes químicos tentativamente atribuídos via investigação de espalhamento Raman (Figura 2.3 e Tabela 2.1). Embora seja observada uma boa correspondência entre as constantes de estabilidade calculadas para reações de desprotonação em investigação e as constantes para grupos funcionais conhecidos (-COOH, -NH₂ ou HPO₄²⁻ etc.), a representação do sistema [micélio/água] pelos quatro componentes **A**, **B**, **C** and **D**, deve ser interpretada como uma distribuição complexa heterogênea, mais provavelmente entre compostos orgânicos excretados ativamente ou não pelo fungo e sítios desprotonáveis heterogêneos, principalmente na superfície da parede celular.

Mesmo com a grande variedade de possibilidades de interações micélio/metálico, observamos claras diferenças entre o comportamento dos diferentes sistemas [micélio/Cu²⁺/água] e [micélio/Zn²⁺/água]. Na presença de íons metálicos, ligantes provenientes do fungo devem ocupar ao menos uma posição de coordenação do metal (espécies ML, MH⁺L and M(H⁺)₁L) enquanto que a formação de espécies complexas bi-desprotonadas (M(H⁺)₂L) não são significativas. Por outro lado, durante a titulação dos sistemas [íon metálico/água], espécies bi-desprotonadas (M(H⁺)₂) são formadas quantitativamente, tal como observado na Figura 2.4. A Figura 2.6 apresenta os diagramas de espécies do modelos calculados para os sistemas [micélio] e

[micélio/íon metálico] estudados. Como observado, Cu^{2+} tende a interagir predominantemente com ácidos carboxílicos (**A**, **B**) e grupos amino (**D**) enquanto Zn^{2+} interage principalmente com grupos amino (**D**) e com outras combinações de grupos desprotonáveis, sítios mistos e/ou grupos fosfato, representado nos modelos como componente **C** (ver Figura 2.6).

As constantes de estabilidade na Tabela 2.2 indicam interação mais forte entre o micélio de *Trametes hirsuta* e Cu^{2+} em comparação com Zn^{2+} , tal como observado para outros fungos e bactérias (Niu *et al*, 1993; Sanna *et al*, 2002; Fomina *et al*, 2007; Movasaghi *et al*, 2007). Usando métodos potenciométricos, Sanna *et al* apresentaram constantes de complexação (Cu^{2+} e Zn^{2+}) em torno de 10^5 para biomassa viva de *Trichoderma viride* e valores em torno de 10^7 para sistema Cu^{2+} /quitina (Sanna *et al*, 2002). Em estudos de biosorção de metais em biomassa de fungo *Penicillium chrysogenum*, Niu *et al* encontraram maior afinidade de complexação para Cu^{2+} em comparação com Zn^{2+} (Niu *et al*, 1993). No caso de bactéria *Shewanella putrefaciens*, Claessens *et al* encontraram constantes de complexação de Cu^{2+} e Zn^{2+} de $10^{7.3}$ e $10^{5.4}$, respectivamente, tal como observado no presente trabalho (Tabela 2.2) (Claessens *et al*, 2007). A partir de diversos experimentos em microcosmos envolvendo interações de fungos com Cu^{2+} e Zn^{2+} (monitorados qualitativamente utilizando técnicas de luz síncrotron), Fomina *et al* destacam que processos de complexação de metais por fungos são dominados por ácidos carboxílicos e fosfatos (orgânicos e inorgânicos) da sua estrutura/organização (Fomina *et al*, 2007). Ainda, os autores sugerem que a complexação dos metais, Cu^{2+} e Zn^{2+} , por grupos amino do sistema fúngico pode ser importante na biotransformação seguida de imobilização dos íons metálicos na parede celular ou precipitação na forma de fosfatos, oxalatos, carbonatos e óxidos (Fomina *et al*, 2007). Em estudo recente envolvendo musgos, González e Pokrovsky mostraram que a biosorção de Cu^{2+} (aproximadamente 90%) é mais efetiva que a biosorção de Zn^{2+} (75%) e que para ambos íons metálicos a absorção é completada em menos de 10 minutos porém processos mais complexos de absorção podem ocorrer após este período inicial (González *et al*, 2013). Portanto, é coerente esperar que todos estes processos devem tomar longos períodos de tempo, tal como discutido na seguinte seção de *investigação fora de equilíbrio* a seguir.

Os resultados nos estudos de equilíbrio apresentados são também coerentes com a baixa toxicidade do Zn^{2+} para fungos e sugerimos que grupos desprotonáveis em pH neutro, relacionados ao componente modelado **C**, devem ser importantes em processos biológicos chave, dependentes do pH (tal como a absorção de Zn^{2+} bioessencial), do fungo estudado (Gow *et al*, 1999; Martell *et al*, 1992; Kaim *et al*, 1994). É interessante destacar que quatro semanas após os experimentos potenciométricos, observou-se crescimento fúngico nas suspensões armazenadas do sistema [micélio/ Zn^{2+} /água] em pH básico, o que não foi observado para o íon relativamente mais tóxico Cu^{2+} para as suspensões armazenadas do sistema [micélio/ Cu^{2+} /água] em pH básico.

Por último, reforçamos que Cu^{2+} parece ser controlado por uma grande quantidade de agentes complexantes ácidos (componentes **A** e **B**) e básicos (componente **D**) como aminas, enquanto grupos de desprotonação em pH neutro (componente **C**) permanecem praticamente não afetados (ver Figura 2.6). Os presentes resultados são únicos na literatura e os detalhes sugerem que a modelagem apresentada pode ser usada, ao menos, como referência qualitativa na literatura em propriedades físico-químicas macroscópicas de fungos vivos.

Investigação fora do equilíbrio

Na seção de modelagem foi mostrado como podemos derivar a produção de entropia da troca lenta de prótons dos sistemas complexos [micélio/água] e [micélio/íons metálicos/água] em relação às perturbações da titulação potenciométrica. Estados fora do equilíbrio podem ser caracterizados pela sua estabilidade em função do tempo. Em termodinâmica linear fora do equilíbrio, sistemas considerados estáveis mantêm processos lentos de evolução fora do equilíbrio. Visto que as mudanças são induzidas por diferença (negentropia ou introdução de energia), utilizamos a produção de entropia como parâmetro fundamental para investigar a estabilidade dos sistemas complexos [micélio/íon metálico/água] em estudo. Tal como apontado por Prigogine e colaboradores (Prigogine *et al*, 1984b; Kondepudi *et al*, 1998), propriedades fora do equilíbrio, como a produção de entropia de sistemas complexos (relevantes num ponto de vista transdisciplinar em agroecologia (Naveh, 2001; Altieri, 1989; Whitfield, 2007)), são características especiais relacionadas à evolução e estabilidade dos

mesmos sistemas complexos em condições perturbadas. É importante ressaltar que, aqui, estamos lidando com termodinâmica linear fora do equilíbrio e que inúmeras condições complexas *in natura* são frequentemente observadas como fenômenos fora do equilíbrio não lineares (Naveh, 2001; Prigogine *et al*, 1984b, Gow *et al*, 1999; Harris, 2009; Kondepudi *et al*, 1998). Ainda assim, podemos esperar que informações provenientes de investigação termodinâmica linear fora do equilíbrio (que são também importantes em processos ecológicos/naturais e condições de homeostase) são importantes e úteis para obtenção de representações abstratas sobre as propriedades de evolução de sistemas complexos como [fungos/íons metálicos], tal como apresentado a seguir.

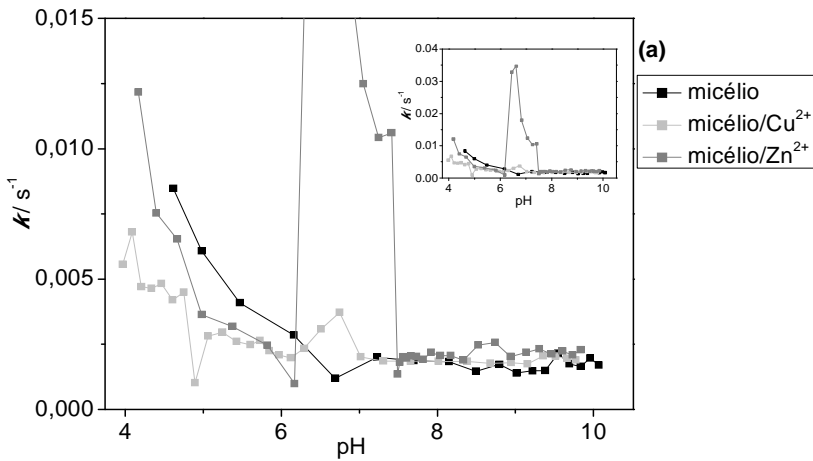
Durante as medidas fora do equilíbrio observa-se que de pH ácido à pH básico as constantes de velocidade k diminuem enquanto que a diferença de concentração da troca lenta de prótons $[H^+_{ex}]_{r0}$ aumenta (Figuras 2.7 e 2.8). Este padrão observado nos estados perturbados dos sistemas complexos [micélio/água] e [micélio/íon metálico/água] (Figuras 2.7 e 2.8) sugerem que subsistemas de maior heterogeneidade (em sua maioria complexos proteicos e quitinosos) exercem crescente pressão de troca lenta de prótons à medida que o pH aumenta. Em condições ácidas, as trocas lentas de próton são mais rápidas do que o observado em condições básicas (Figura 2.7a). Na presença de íons metálicos, as trocas lentas de prótons tornam-se observáveis em pH ainda mais baixo (começando a partir de pH 4) enquanto que na ausência de íons metálicos a observação de processos de troca lenta de prótons ocorre em pH um pouco mais alto (começando em pH 4,6, ver Figura 2.7b). Este efeito está de acordo com as propriedades gerais dos íons metálicos ácidos de Lewis. A Figura 2.8 sugere que grupos amino (componente **D**), ou grupos com desprotonação em pH básico, em diferentes estruturas organizadas (proteicas e quitinosas), são importantes como trocadores lentos de prótons. Em condições ácidas também podem ser observadas trocas lentas de prótons, porém numa extensão menor. Em pH neutro as trocas lentas de prótons não são tão extensas (em moles) como o observado em condição alcalina porém devemos destacar que, desde que o pH é um valor logarítmico, as trocas lentas de próton em pH neutro (que não são negligenciáveis, ver Figura 2.2) indicam importantes interações complexas que são provavelmente responsáveis pela regulação de processos biológicos, principalmente na fronteira micélio/água (isto significa dizer que as curvas de estabilização

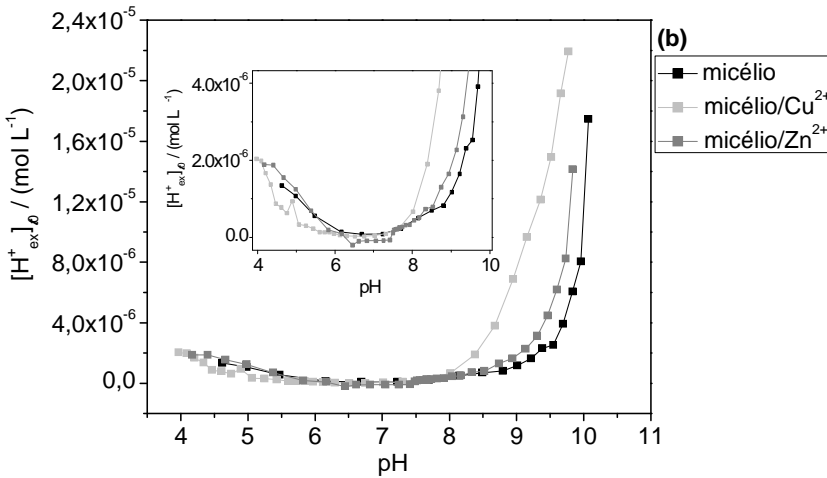
lenta de pH são também significativas em pH neutro como mostrado na Figura 2.2).

Na presença de íons metálicos, o formato da curva de produção de entropia de troca lenta de prótons (Figura 2.8) é, em termos gerais, similar (produção de entropia de troca lenta de prótons aumentando a medida que o pH aumenta) porém, podemos observar que Cu^{2+} , no sistema [micélio/ Cu^{2+} /água], promove um aumento de intensidade nos processos de troca lenta de próton em pH relativamente mais baixo (principalmente acima de pH 7, Figura 2.8), efeito mais significativo do que o observado para o sistema [micélio/ Zn^{2+} /água] e ainda mais significativo em comparação com o sistema [micélio/água]. Podemos sugerir que estes padrões indicam maior afinidade do Cu^{2+} (se comparado com Zn^{2+}) com importantes sítios complexos heterogêneos desprotonáveis em pH alcalino (dominados por grupos amino em proteínas e quitina, Figura 2.7b e 2.8), ao menos na escala de tempo aqui observada.

É importante notar que no caso do sistema [micélio/ Zn^{2+} /água] em condições de pH neutro, as curvas de estabilização de pH monitoráveis evoluem num sentido que vai de ácido para básico (veja os pequenos valores negativos de $[\text{H}^+]_{\text{ex},t_0}$ no *inset* da Figura 2.7b entre pH 6 e 8 para o sistema [micélio/ Zn^{2+} /água]), em oposição ao sentido de evolução lenta fora do equilíbrio, do básico para ácido, observado para maior parte das condições de pH observadas neste trabalho (tal como mostrado na Figura 2.2). Esta evolução do ácido para o básico do sistemas [micélio/ Zn^{2+} /água] em pH neutro é também acompanhada por maiores valores de k (Figura 2.7a). Este comportamento parece indicar que uma maior contribuição de trocas de prótons mais rápidas (normalmente não monitoráveis cineticamente) torna-se observável na forma de processos lentos de troca de prótons. Esta inversão não usual no padrão de resposta é também observado para as respostas fora do equilíbrio em discretas condições de pH alcalino para ácidos húmicos e também para o mineral biotita (de Almeida *et al.*, 2015a, 2015b).

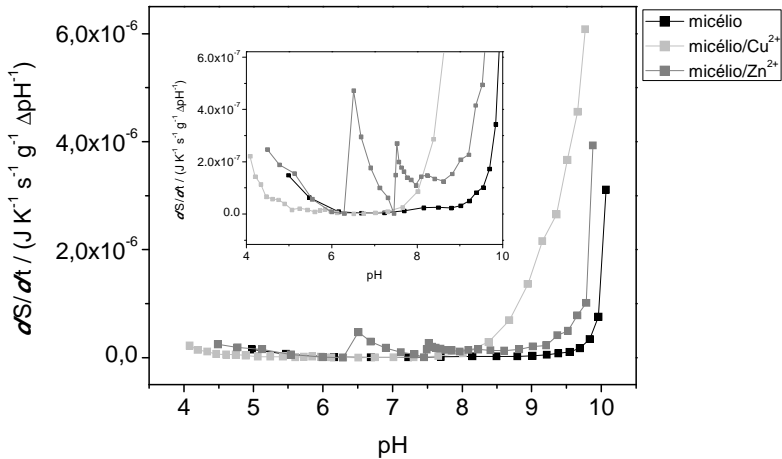
Figura 2.7. (a) constante k de velocidade de troca lenta de prótons e (b) diferença de concentração de troca lenta de prótons $[H^+_{ex}]_{t,0}$ para os sistemas complexos [micélio/íons metálicos/água] em função do pH. Sistemas complexos [micélio/água], [micélio/ Zn^{2+}] e [micélio/ Cu^{2+}] são representados usando linhas preta, cinza e cinza claro, respectivamente. Valores positivos de $[H^+_{ex}]_{t,0}$ correspondem a fluxos de prótons do subsistema [micélio/íon metálico] para a fase aquosa. Valores negativos de $[H^+_{ex}]_{t,0}$ indicam o oposto, fluxo de prótons no sentido da água para o subsistema [micélio/íons metálicos], e/ou o consumo dos prótons pela base titulante adicionada, tal como observado para o sistema [micélio/ Zn^{2+} /água] em pH 6,3-7,5 (veja *inset* em Figura 2.7b).





A partir dos presentes resultados podemos sugerir que o micélio perturbado com base contra-reage através da liberação ativa e/ou passiva de prótons (ácidos de diferentes forças e de estruturação em diferentes condições de organização, em proteínas de membrana, oligopeptídeos e etc). A parede celular da hifa e biomoléculas associadas (mais os ácidos (in)orgânicos solúveis liberados) formam uma estrutura/organização complexa tridimensional que deve apresentar diferentes níveis de acessibilidade ao entorno aquoso perturbado. Devido à provável diferença em coeficientes de difusão, tal como mostrado por Kazakov *et al*, os prótons oriundos de ácidos (in)orgânicos, fosfatos, oligopeptídeos, sideróforos e etc, são consumidos primeiro enquanto que os prótons relativos ou ligados em cavidades de proteínas ou organelas intracelulares devem ser consumidos por último, se consumidos (Kazakov *et al*, 2008).

Figura 2.8. Produção de entropia de troca lenta de prótons (dS/dt) para processos fora do equilíbrio durante as titulações de sistemas complexos [micélio/ion metálico/água]. Sistemas complexos [micélio/água], [micélio/ Zn^{2+} /água] e [micélio/ Cu^{2+} /água] são representados usando linhas preta, cinza e cinza claro, respectivamente. Valores de produção de entropia foram normalizados pela variação de pH entre os pontos sequenciais da titulação (ΔpH^{-1}) e massa do micélio (g^{-1}).



Destacamos que, assim como apontado por Fomina *et al*, todos estudos experimentais envolvendo sistemas complexos (mesmo sendo extremamente informativos) devem ser interpretados como modelos parciais que apresentam diferenças tanto entre os modelos experimentais em paralelo como em relação a condições naturais, ou seja, em termos, por exemplo, das fontes dos íons metálicos (mineral solúvel ou insolúvel, concentração e etc), espécies biológicas em estudo, períodos ou duração das investigações, condições de clima e/ou temperatura etc (Fomina *et al*, 2007).

Tratando de implicações naturais, podemos propor a hipótese de que trocas lentas de prótons de micélio podem ser dominantes em

relação as trocas rápidas de prótons principalmente em solos naturais devido à uma maior limitação em água livre se comparado ao experimento potenciométrico das suspensões aquosas aqui apresentadas. Processos lentos de troca de prótons devem ser também significativos em condições de mais baixa temperatura. Ainda assim, sugerimos que apreciável similaridade com o comportamento dos padrões de resposta aqui observados (Figura 2.6, 2.7 e 2.8) podem ser parcialmente esperados em solos naturais, caso uma biomassa significativa de fungos esteja presente.

Por último, nossos resultados indicam que sistemas fúngicos podem contra-balancear (em certa extensão) processos de basificação de solos. Por outro lado, estudos anteriores demonstram que o mineral biotita tende a evitar processos de acidificação enquanto que substâncias húmicas favorecem condições de pH neutro mais estáveis (de Almeida *et al*, 2013, 2015a, 2015b; Stumm, 1992; Pertusatti *et al*, 2007). Neste contexto, investigações posteriores possíveis podem fornecer informações acerca das diferentes características (em trocas de prótons e outros parâmetros importantes como propriedades redox) dos componentes e sub-componentes da micelânea de sistemas complexos ecológicos, e mais especificamente de solos, em condições fora do equilíbrio ou perturbadas. Propomos que o método aqui apresentado pode ser considerado como uma ferramenta interessante para caracterização da estabilidade de solos a partir de perturbações físico-químicas.

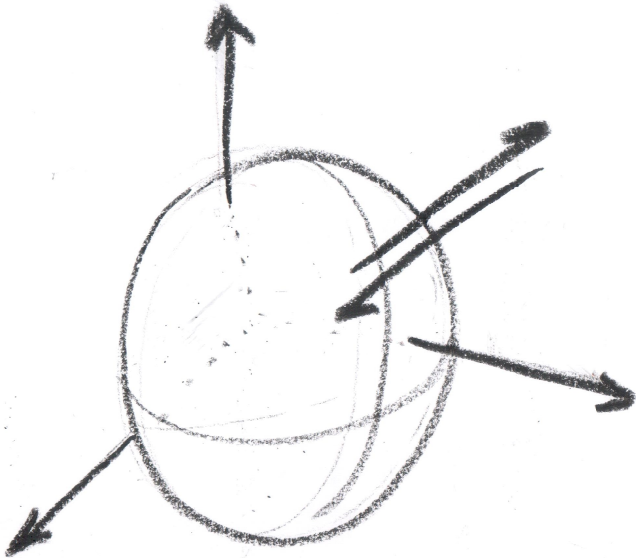
Conclusão

O presente método potenciométrico pode ser útil para investigação de diversos tipos de amostras, sistemas complexos naturais, solos e subsistemas de solos. Usando os sistemas complexos modelo [micélio/íon metálico/água], observamos que interações seletivas entre fungos e íons metálicos mostram-se coerentes com as propriedades gerais de interação para sistemas combinados do tipo [biológico/inorgânico]. Observamos que o micélio de *Trametes hirsuta* interage com Cu^{2+} principalmente através de ácidos, ácidos fracos e bases fracas, enquanto que sítios desprotonáveis em pH neutro permanecem praticamente inafetados. No caso de Zn^{2+} , espécies desprotonáveis em pH neutro e alcalino (pH 9), presentes no sistema

Capítulo 2

complexo do micélio, mostram-se como importantes agentes complexantes.

Ainda, a investigação das condições fora do equilíbrio da troca lenta de prótons é proposta como um método capaz de fornecer padrões de interação relacionados aos subsistemas heterogêneos dos sistemas complexos, neste caso, os complexos quitinosos e proteicos característicos de micélio de fungos. Dados complementares de Espectroscopia Raman e ICP-OES apresentam boa concordância com a modelagem e a interpretação do estudo potenciométrico. Por último, devemos enfatizar a relevância do presente trabalho para agroecologia, para a perspectiva ecológica/transdisciplinar e para o desenvolvimento de tecnologias intermediárias (Naveh, 2001; Morin, 2005; Bateson, 1987; Altieri, 1989; Primavesi, 2002; Rifkin *et al*, 1980).



REFERÊNCIAS

- ALTIERI, M. **Agroecologia**. Rio de Janeiro, ed. FASE, 1989.
- BACHELARD, G. **A formação do espírito científico**. Rio de Janeiro, ed. Contraponto, 1996.
- BAIDOO, E. *et al.* Potentiometric studies of the acid-base properties of tropical humic acids. **Geoderma**, v. 217-218, p. 18, 2014.
- BATESON, G. **Mente e natureza**. Rio de Janeiro, ed. F. Alves, 1986.
- BATESON, G. **Steps to an Ecology of Mind**. London, Jason Aranson, 1987.
- BOFF, L. **Ethos mundial**. Rio de Janeiro, ed. Sextante, 2003.
- BONFANTE-FASOLO, P. *et al.* Correlation between chitin distribution and cell wall morphology in the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. **Mycol. Res**, v. 94(2), p. 157, 1990.
- BONNEVILLE S. *et al.* Tree-mycorrhiza symbiosis accelerate mineral weathering: Evidences from nanometer-scale elemental fluxes at the hypha-mineral interface. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 75(22), p. 6988, 2011.
- CAPRA, F. **O Ponto de Mutação**. São Paulo, ed. Cultrix, 2010.
- CARLILE, M. J. and WATKINSON, S. C. **The Fungi**. London, Academic Press, 1994.
- CLAESSENS, J.; VAN CAPPELLEN, P. Competitive Binding of Cu^{2+} and Zn^{2+} to Live Cells of *Shewanella putrefaciens*. **Environ. Sci. Technol.**, v. 41(3), p. 909, 2007.
- DE ALMEIDA, V. R.; SZPOGANICZ, B. Proton exchange in water/mycelium system: transdisciplinary out-of-equilibrium thermodynamic approach using potentiometric titration. **Open J. Phys. Chem.**, v. 3(4), p. 189, 2013.

DE ALMEIDA, V. R. *et al.* Potentiometric titration and out-of-equilibrium pH response of the biotite-water system. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 26, p. 1848, 2015a.

DE ALMEIDA, V. R.; SZPOGANICZ, B. Humic acids potentiometric response patterns: out-of-equilibrium properties and species distribution modeling. **Chem. Biol. Tech. Agric.** v. 2, p. 17, 2015b.

DELEUZE, G. et GUATTARI, F. **Qu'est-ce que la philosophie?** Paris, Éditions de Minuit, 2005.

FERRERA-CERATO, R.; PÉREZ-MORENO, J. Mycorrhizal Interactions With Plants and Soil Organism in Sustainable Agroecosystems, in Soil ecology in sustainable agricultural systems. In **Soil ecology in sustainable agricultural systems**, eds. BRUSSAARD, L.; FERRERA-CERATO, Mexico, R. CRC/Lewis Publishers, 1997, ch. 5.

FERRY, L. **A nova ordem ecológica.** São Paulo, ed. Ensaio, 1994.

FOMINA, M. *et al.* X-ray absorption spectroscopy (XAS) of toxic metal mineral transformations by fungi. **Environ. Microbiol.**, v. 9(2), p. 308, 2007.

GADD, G. M. Mycotransformation of organic and inorganic substrates. **Mycologist**, v. 18(2), p. 60, 2004.

GHOSAL, S. *et al.* Raman Microspectroscopy-Based Identification of Individual Fungal Spores as Potential Indicators of Indoor Contamination and Moisture-Related Building Damage. **Environ. Sci. Technol.**, v. 46(11), p. 6088, 2012.

GONZÁLEZ, A. G.; POKROVSKY, O. S. Metal adsorption on mosses: toward a universal adsorption model. **J. Colloid Interf. Sci.**, v. 415, p. 169, 2013.

GOW, N. A. R., ROBSON G. D. and GADD, G. M. **The fungal colony.** New York, C.U. Press, 1999.

HARRIS, J. Soil Microbial Communities and Restoration Ecology: Facilitators or Followers? **Science**, v. 325(5940), p. 573, 2009.

HESSE, H. **Sidarta**. Rio de Janeiro, ed. Civilização Brasileira, 1974.

IVANOVA, S. E.; SOLOKOVA, T. A. Accuracy, reproductibility and informativeness of the results of continuous potentiometric titrations of soils suspension and soils extracts. **Moscou University Soil Science Bulletin**, v. 53(4), p. 12, 1998.

JUNG, C. G. **O espírito na arte e na ciência**. Petrópolis, ed. Vozes, 1985.

JUNG, C. G. e WILHELM, R. **O segredo da flor de ouro**. Petrópolis, ed. Vozes, 2001.

JUNG, C. G. **Psicologia e Alquimia**. Petrópolis, ed. Vozes, 1990.

JUNG, C. G. **Psicologia e religião**. Petrópolis, ed. Vozes, 1995.

KAIM, W. and SCHWEDERSKI, B. **Bioinorganic Chemistry**. Chichester, J. Wiley, 1994.

KATZ, E., LIGHT, A and ROTHENBERG, D. **Beneath the surface**. London, MIT Press, 2000.

KAZAKOV, S. *et al.* Physicochemical Characterization of Natural Ionic Microreservoirs: Bacillus subtilis Dormant Spores. **J. Phys. Chem. B**, v. 112(7), p. 2233, 2008.

KONDEPUDI, D. and PRIGOGINE, I. **Modern Thermodynamics**. Chichester, J. Wiley, 1998.

MARTELL, A. E. and MOTEKAITIS, R. J. **Determination and use of stability constants**. Dallas, VHC Publishers, 1992.

MATURANA, H. **A Ontologia da Realidade**. Belo Horizonte, ed. Humanitas, 1997.

MATURANA, H. e VARELA, F. **Árvore do conhecimento**. São Paulo, Palas Athena, 2005.

MATURANA, H. y VERDEN-ZOLLER, G. **Amor y Juego: fundamentos olvidados de lo humano**. Santiago, Instituto de Terapia Cognitiva, 1994.

MICHALAK, I. *et al.* State of the art for the biosorption processes - a review. **Appl. Biochem. Biotechnol**, v. 170, p. 1389, 2013.

MORIN, E. **Ciência com consciência**. Rio de Janeiro, Bertrand Brasil, 2005.

MOTEKAITIS, R. J.; MARTELL, A. E. BEST7 - A new program for rigorous calculation of equilibrium parameters of complex multicomponent systems. **Can. J. Chem.**, v. 60(19), p. 2403, 1982.

MOVASAGHI, Z. *et al.* Raman Spectroscopy of Biological Tissues. **Appl. Spectroscopy Rev.**, v. 42(5), p. 493, 2007.

NAJA, G. *et al.* A high-resolution titrator: a new approach to studying binding sites of microbial biosorbents. **Water Research**, v. 39(4), p. 579, 2005.

NÄTSCHER, L. *et al.* Proton buffering in organic horizons of acid forest soils. **Geoderma**, v. 48, p. 93, 1991.

NAVEH, Z. Ten major premises for a holistic conception of multifunctional landscapes. **Landscape Urban Plan.**, v. 57(3-4), p. 269, 2001.

NIU, H. *et al.* Removal of lead from aqueous solutions by *Penicillium* biomass. **Biotech. Bioeng.**, v. 42(6), p. 785, 1993.

PERTUSATTI, J.; PRADO, A. G. S. Buffer capacity of humic acid: Thermodynamic approach. **J. Colloid Interf. Sci.**, v. 314(2), p. 484, 2007.

PETTIT, L. D. **Aqueous Solutions**. Academic Software, York, 1993.

PRIGOGINE, I. e STENGERS. I. **A nova aliança**. Brasília, ed. Universidade de Brasília, 1984a.

PRIGOGINE, I. and STENGERS, I. **Order out of chaos**. London, Bantam Books, 1984b.

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais**. São Paulo, ed. Nobel, 2002.

RIFKIN, J. and HOWARD, T. **Entropy: a new world view**. New York, Viking Press, 1980.

RUSSEL, B. **Introdução a filosofia matemática**. Rio de Janeiro, Zahar, 1963.

SANNA, G. *et al.* Determination of stability constants of metal-*Trichoderma viride* complexes by the potentiometric titration method. **Fresenius Environ. Bull.**, v. 11(9b), p. 636, 2002.

SILVA, D. J. O Paradigma Transdisciplinar, **Workshop sobre Interdisciplinaridade**, Ministério da Ciencia e Tecnologia, Instituto de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, 1999.

SIMARD, S. W. *et al.* Mycorrhizal networks: Mechanisms, ecology and modelling. **Fungal Biol. Rev.**, v. 26(1), p. 39, 2012.

STENGERS, I. Introductory notes to an ecology of practices, **ANU Humanities Research Centre Symposium**, Canberra, 2003.

STENGERS, I. **Penser avec Whitehead**. Paris, Seuil, 2002.

STUMM, W. **Chemistry of the solid-water interface**. New York, J. Wiley, 1992.

SUFFREN, Y. *et al.* Raman spectroscopy of transition metal complexes: molecular vibrational frequencies, phase transitions, isomers, and electronic structure. **Comments Inorg. Chem.**, v. 32(5-6), p. 246, 2012.

SÜSSER, P.; SCHWERTMANN, U. Proton buffering in mineral horizons of some acid forest soils. **Geoderma**, v. 49, p. 63, 1991.

VALERO, V. **Experiencia y pobreza**. Barcelona, ed. Península, 2001.

VON BERTALANFFY, L. **Teoria geral dos sistemas**. Brasília, ed. Vozes, 1975.

WAGNER, C. C.; BARAN, E. J. Vibrational spectra of Zn(II) complexes of the amino acids with hydrophobic residues, **Spectrochim. Acta A**, v. 72(5), p. 936, 2009.

WHITFIELD, J. Fungal roles in soil ecology: Underground networking. **Nature**, v. 449(7159), p. 136, 2007.

DE ALMEIDA, V. R.; SZPOGANICZ, B. Proton exchange in water/mycelium system: transdisciplinary out-of-equilibrium thermodynamic approach using potentiometric titration. **Open J. Phys. Chem.**, v. 3(4), p. 189, 2013.

Open Journal of Physical Chemistry, 2013, 3, 189-200
Published Online November 2013 (<http://www.scip.org/journal/ojpc>)
<http://dx.doi.org/10.4236/ojpc.2013.34023>



Proton Exchange in Water/Mycelium System: Transdisciplinary Out-of-Equilibrium Thermodynamic Approach Using Potentiometric Titration

Vicente R. de Almeida, Bruno Szpoganicz
Equilibrium Laboratory, Chemistry Department, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brazil
Email: vicentebra@hotmail.com

Received October 26, 2013; revised November 19, 2013; accepted November 26, 2013

Copyright © 2013 Vicente R. de Almeida, Bruno Szpoganicz. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT

In this study, we used potentiometric titration to investigate the interaction of the saprophytic fungus *Tremetes villosa* in an aqueous environment. The study of this biological complex system allowed us to observe the evolution of out-of-equilibrium hydrogen ion potential states after systematic perturbations. The responses of the complex system to perturbations were interpreted from relations that provided qualitative response patterns for mycelium in agreement with their basic structural and organizational characteristics. We consider this to be a transdisciplinary example of the behavior of general systems with thermodynamic properties of great ecological relevance, being specifically related to the nongenotropic properties of heterogeneous systems.

Keywords: Transdisciplinarity; Fungi; Proton Exchange; Out-of-Equilibrium Thermodynamics; pH; Ecological Relations

1. Introduction

While the importance of water in biosphere development is recognized, the complex aspects of the relations between (in)organic systems and water require broad and intense scientific transdisciplinary study [1,2]. Many modern problems such as those associated with the environment and public health are intimately related to ecosystem responses to perturbations. In this regard, culture appears to be of primary importance in human-environment interrelations [3-5], but in this context, in our view, ecosystem studies (e.g. soil and water dynamics) and the development of viable monitoring techniques play the role of clarifying the effects of many human cultural practices on natural emergence or the evolution of natural systems. A great number of different cultures have contributed to these clarifications since the beginnings of human knowledge development. Among them is the recent development of the modern thermodynamics and out-of-equilibrium theories [5].

Considering that any natural system can be understood as a dynamic system with free energy in an out-of-equilibrium space-time state (such as the solar system or a

living cell and its neighborhood), it seems reasonable to interpret the problems and study the subject placed in question in this work—with the clarity of theoretical/empirical/technical/methodological limitations and without neglecting other disciplinary, cultural, political and socio-economical points of view—from the thermodynamic perspective of forces and fuses that compose energy.

The simple example of great systemic relevance which we will approach in this work is the study of proton exchange between mycelium (the somatic structure of fungus) and water. As previously mentioned, the idealization and realization of this work form part of a body of wide and deep epistemological reflections, in an attempt to bring scientific questions closer to or fuse them with local/global issues related to different cultures and human societies (dependent and determinant players in the evolution of natural systems). Specifically, in this study, we will approach the physical-chemical aspects of mycelium/water interactions which involve a vast web of other implications, some of which will be discussed herein.

2. Theoretical Background

An appropriate starting point is to explain the picture we



<http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20150162>

J. Braz. Chem. Soc., Vol. 26, No. 9, 1848-1859, 2015.
Printed in Ilhéus - ©2015 Sociedade Brasileira de Química
0103 - 5053 \$6.00+0.00

Potentiometric Titration and Out-Of-Equilibrium pH Response of the Biotite-Water System

Vicente R. Almeida,^{a,a,b} Bruno Szpoganicz^a and Steeve Bonneville^b

^aDepartamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina,
88040-900 Florianópolis-SC, Brazil

^bBiogéochimie et Modélisation du Système Terre, Département des Sciences de la Terre et de l'Environnement, Université Libre de Bruxelles, 1050 Brussels, Belgium

Minerals in soils contribute significantly to the capacity of soils to buffer pH disturbance. In this paper, we present the pH buffering capacity of a common soil phyllosilicate mineral, biotite. We performed equilibrium potentiometric titrations and we also monitored the pH response kinetics of the mineral-water system in order to develop an out-of-equilibrium model able to capture the interactions between minerals and the surrounding aqueous fluid. During titrations, after each addition of titrant solution from pH 11 to ca. 3, the pH response patterns were monitored over time until reaching a pseudo-equilibrium pH value. Based on the potentiometric dataset Bset7, equilibrium calculations were performed to obtain the concentrations and the equilibrium protonation constants of each deprotonable component that fit best our titration curve. In parallel, the out-of-equilibrium pH responses over time at each point of the titration were used in a simple first-order kinetic approach that allow for the determination of "slow" proton exchange $[H^+]_e$ (mol L⁻¹) and the associated rate constants for the exchange reactions, k (s⁻¹). Our results show a maximum in "slow" proton exchange $[H^+]_e$ associated to a minimal value of k at pH < 5 while at neutral and basic pH exhibits the opposite, i.e., fast rate constant for a minimum value of the "slow" proton exchange. Expressing the observed "slow" proton exchange processes in terms of entropy production, our result demonstrate that the maximum resilience stability of biotite-water system to pH perturbation is in acidic pH, probably due to the consumption of proton associated with biotite dissolution reactions.

Keywords: potentiometric titrations, biotite, linear out-of-equilibrium thermodynamics, soils

Introduction

In recent decades, capturing landscape and environmental complexity has been a challenge for sciences.^{1,2} Furthermore, human activities deeply affect the earth system and the biosphere. In particular the interactions between natural water and soils deserve careful attention when facing disturbances. As first approach, it appears reasonable to propose an epistemological standing point based on differences, which can be understood as the main feature of complex heterogeneity.³ The concept of difference observation has enormous utility in science,^{3,4} and in the case of chemistry, one can point out that difference is at the basis of thermodynamics and change of state.⁵ Physical chemistry can provide powerful tools to explore and understand landscape evolution and complexity.^{5,7} Here,

we propose not only to study the relations between water and minerals in soils but also to explore the stability of this heterogeneous system to pH perturbations, a master variable in soil chemistry. Indeed, soil pH affect a wide range of soil chemical and biological properties (i.e., vegetation assemblages, root nutrient uptake, diversity and activity of soil microorganisms, as well as, the mobility and toxicity of pollutants for instance).^{8,13}

Since our goal is to study soil/minerals and water systems and their response to pH perturbations, we used the ionization potential of water measured by a combined glass-electrode as the source of information or difference. As a soil constituent, we used a common mineral for our observations of differences and changes in pH disturbance conditions. We selected biotite, a trioctahedral phyllosilicate, within the mica group that forms a series from a Fe-rich end-member annite to the Mg-rich phlogopite. It is widespread at the earth's surface

*e-mail: vicentebr@hotmail.com

DE ALMEIDA, V. R.; SZPOGANICZ, B. Humic acids potentiometric response patterns: out-of-equilibrium properties and species distribution modeling. **Chem. Biol. Tech. Agric.** v. 2, p. 17, 2015b.

de Almeida and Szpoganicz *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*
in *Agriculture* (2015) 2:17
DOI 10.1186/s40538-015-0042-4

 **Chemical and Biological
Technologies in Agriculture**
a SpringerOpen Journal

RESEARCH

Open Access

Humic acid potentiometric response patterns: out-of-equilibrium properties and species distribution modeling



Vicente Rodrigues de Almeida^{1,2*} and Bruno Szpoganicz¹

Abstract

Background: Negentropy and entropy fluctuations, which are concepts of out-of-equilibrium thermodynamics, were considered in the development of a simple potentiometric titration method for the study of natural complex systems, in this case humic acids.

Results: The method allows, besides the obtainment of traditional titration curves; the observation of response patterns for the out-of-equilibrium evolution throughout the titration pH range, at each point of the titration. Also, two humic acid species distribution models are proposed and interpreted.

Conclusions: The obtained potentiometric out-of-equilibrium response patterns (graphical method) are correlated with the negentropic, organizational/structural properties of the sample and provide information on its relation with the natural environment.

Keywords: Humic acid; Potentiometric titration; Out-of-equilibrium thermodynamics; Species distribution models; Ecological relations

Background

In recent decades, interest in natural systems, such as oceans, soils, and the biosphere, has been increasing considerably, and in the associated scientific research areas (e.g., biogeochemistry and soil science) significant challenges are encountered due to the complexity of the factors related to these systems [1, 2]. In this context lie the complexity of humic substances, their structural/organizational properties, and their functional relations with the negentropic properties of ecological networks and the health of entire ecosystems. To address these issues, several methodologies have been developed and, as expected, new phenomena and new questions have arisen [3].

At present, it is partially accepted that natural humic substances are composed of a mixture of small molecules and macromolecules (biomolecules, proteins,

carbohydrates, etc.), and diverse proposals for the organization of humic materials have been proposed [4].

Among the existing methodologies for the study of humic substances, spectroscopic and potentiometric methods are important contributors to the advances in this field [5, 6]. Specifically, potentiometric titration has been used intensively as a cheap, accessible, easy to handle, and highly informative intermediate technique, permitting the researcher to characterize natural complex systems, such as humic substances, from the thermodynamic perspective of equilibrium constants and to quantify/qualify the proton exchange properties of the samples [7–11].

Also, in the investigation of natural complex systems (integer or raw complex systems) using potentiometric methods, out-of-equilibrium thermodynamic states can be observed in terms of seconds, minutes, or hours [12]. It is interesting to note that this is not a property of all chemical systems (for example, small molecules or homogeneous solutions of pure substances), but out-of-equilibrium stable thermodynamic states are characteristic of complex, highly organized heterogeneous (negentropic) systems, such as humic substances, soils,

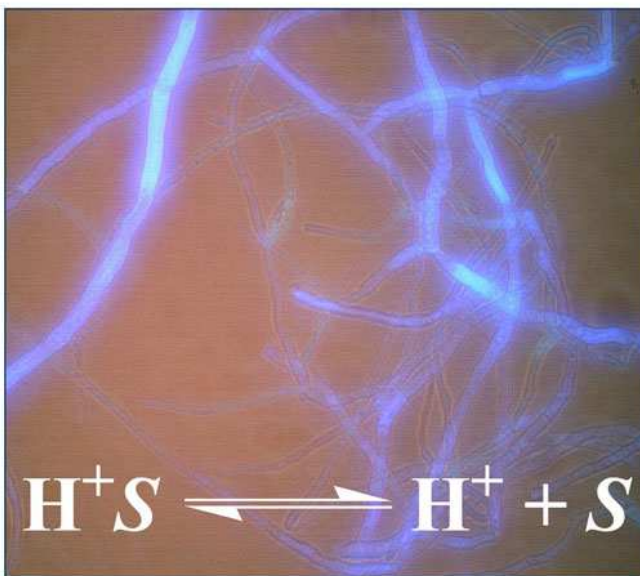
*Correspondence: vicentebra@hoi.com.br

¹Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Universitário, João Davi Frenkel Lima, Florianópolis 89409-000, SC, Brazil

²Département des Sciences de la Terre et de l'Environnement, Université Libre de Bruxelles, 50 Avenue F. D. Roosevelt, 1050 Brussels, Belgium



© 2015 de Almeida and Szpoganicz. **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.



Cover Picture

Equilibrium and Out-Of-Equilibrium Investigation of Proton Exchange and Cu^{II} and Zn^{II} Complexation on Fungal Mycelium (*Trametes hirsuta*)

Vicente R. Almeida, Bruno Szpoganicz, Lei Chou, Kitty Baert, Annick Hubin and Steeve Bonneville



DE ALMEIDA V. R. *et al*, Equilibrium and out-of-equilibrium investigation of proton exchange an Cu^{2+} and Zn^{2+} complexation of fungal mycelium (*Trametes hirsuta*). **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 27(1), p. 15-29, 2016.

Article

doi number
J. Braz. Chem. Soc., Vol. 00, No. 00, 1-15, 2015.
Printed in Brazil - ©2015 Sociedade Brasileira de Química
0103 - 5025 36.00x0.00

Equilibrium and Out-Of-Equilibrium Investigation of Proton Exchange and Cu^{II} and Zn^{II} Complexation on Fungal Mycelium (*Trametes hirsuta*)

Vicente R. Almeida,^{a,*} Bruno Szpoganicz,^a Lei Chou,^b Káty Baert,^c Annick Hubin^c and Steeve Bonneville^b

^aDepartamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-900 Florianópolis-SC, Brazil

^bBiogéochimie et Modélisation du Système Terre, Département des Sciences de la Terre et de l'Environnement, Université Libre de Bruxelles, Brussels, Belgium

^cDepartment of Electrochemical and Surface Engineering, Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium

This work presents potentiometric investigations of [mycelium/metal ion/water] complex systems and the development of a new model investigating the ion-mycelium-fluid interactions. Since pH is a major parameter in soil ecology exhibiting large fluctuations, we proposed an improved equilibrium and also out-of-equilibrium potentiometric titration method in order to characterize the proton exchange behavior of the [mycelium/metal ion/water] system. Our model describes the dynamic relations and interactions within the soil complex subsystems consisting of fungal mycelium of *Trametes hirsuta*, water with or without metal ions (Cu^{II} and Zn^{II}). Equilibrium modeling based on potentiometric titrations can be well described using four mycelium related components which are active in the pH range studied. In addition, our equilibrium calculations show clear differences with respect to metal-mycelium interactions: Cu^{II} interacts with acidic and basic deprotonable sites, while Zn^{II} binds with neutral and basic deprotonable sites. Potentiometric out-of-equilibrium (i.e., perturbed pH) characterization suggests that important fungal heterogeneous complexity may act as definite proton pressure entities under continuously perturbed soil conditions. Raman micro-spectroscopy was also used to characterize the [mycelium/metal ion/water] complex systems. Our results demonstrate that potentiometry is a useful tool (intermediate technology) in studying biological complex matrices, facing pH perturbations, as well as their interactions with metal ions.

Keywords: potentiometry, out-of-equilibrium thermodynamics, mycelium/metal ion complexes, intermediate technology

Introduction

The complexity of natural systems, such as the biosphere, calls for the creation of new paths for research and knowledge development.^{1,2} In the past century, the development of systems theory provided a broad basis for the "ecology of practices" in Earth and human sciences.^{3,4} Here, we propose specific practice of model development relevant to biogeochemistry but also in a broader sense to transdisciplinary investigations. In order to do it, we will explore a physical-chemical model description of a specific complex soil subsystem -[mycelium/metal ion/water]- and

associated ubiquitous phenomena involving the proton exchange and metal interactions.

A complex system is an ensemble that cannot be reduced to a fundamental description and, due to the large number of components and relations, is impossible to be exhaustively characterized.⁵ Being considered as a complex system composed of rock-forming minerals, interstitial water, gases, micro- and macro-organisms and decaying organic matter etc., soils have been proposed to share characteristics that conceptually overlap with those of life.^{6,7} A system can be considered alive when it is able to transform external energy in an internal process of maintenance and production of its own constituents. The concept of "living soil" is well illustrated by the ubiquitous

*e-mail: vicentebra@hotmail.com

